

**Universidade de Lisboa**  
**Faculdade de Farmácia**



**Melanossomas e tráfego de vesículas na  
pigmentação da pele e cabelo**

**Estratégias no controlo da pigmentação**

**Catarina Alexandra Alcobaça Sousa**

**Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas**

**2020**



**Universidade de Lisboa**  
**Faculdade de Farmácia**



# **Melanossomas e tráfego de vesículas na pigmentação da pele e cabelo**

**Estratégias no controlo da pigmentação**

**Catarina Alexandra Alcobaça Sousa**

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas  
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

**Orientador: Professora Associada com Agregação em  
Microbiologia, Elsa Maria Ribeiro dos Santos Anes**

**2020**



# Resumo

A nossa imagem assume um papel fundamental na forma como somos percebidos, constituindo a primeira impressão que causamos nos outros. Neste contexto, o aspeto da pele e do cabelo faz parte da identidade de cada um e influencia a autoestima, tendo por isso um grande impacto social.

A unidade melano-epidérmica está presente na pele e consiste num complexo funcional de melanócitos e queratinócitos que, em associação, são responsáveis pela sua pigmentação. No interior dos melanócitos existem organelos específicos destas células denominados melanossomas, onde se dá a síntese e o armazenamento do pigmento biológico do ser humano – a melanina. Após a sua maturação, os melanossomas são transportados dos melanócitos para os queratinócitos, onde os grânulos de melanina vão formar um “escudo” protetor junto do núcleo celular, impedindo que agressões externas (como a radiação ultravioleta) atinjam o núcleo e provoquem danos no DNA. Consequentemente, a presença de melanina nos queratinócitos provoca também a pigmentação dos tecidos.

Todas estas etapas necessárias à pigmentação dos tecidos necessitam da intervenção de diversos agentes autócrinos e parácrinos com a capacidade de regular os acontecimentos em resposta a estímulos externos ou internos. Estes moduladores são muitas vezes selecionados como alvos terapêuticos para combater algumas anomalias do processo.

Apesar da síntese de melanina se processar de forma semelhante na pele e no cabelo, os sistemas melanogénicos epidérmicos e foliculares apresentam algumas diferenças. Esta monografia aborda várias etapas do processo de pigmentação da pele e do cabelo, bem como a forma como estas são reguladas por alguns fatores.

As alterações da pigmentação da pele e do cabelo no Homem, quer fisiológicas, quer patológicas serão ainda revistas nesta monografia, incluindo as que poderão estar relacionadas com a toma de certos medicamentos.

**Palavras-chave:** Melanogénese; Melanossomas; Pigmentação; Regulação; Envelhecimento

# Abstract

Our image assumes a fundamental part in the way we are perceived, being the basis of the first impression we cause on other people. Each individual's identity is influenced by skin and hair appearance and this has a huge social impact on account of its role on everyone's self-esteem.

The pigmentation process relies on the Epidermal-Melanin Unit, which is a functional complex composed by melanocytes and keratinocytes that work together in order to lead to skin pigmentation. There are specific organelles inside melanocytes, the melanosomes, responsible for the synthesis and storage of the biological human pigment – melanin. After the maturation process, melanosomes are transported from melanocytes to keratinocytes, where melanin granules will form a protector “shield” around the nucleus with the aim to prevent any damage caused by external threats (such as UV radiation). Consequently, the presence of melanin in keratinocytes is also responsible for tissue pigmentation.

All these stages of skin and hair pigmentation need the intervention of many autocrin and paracrin agents which possess the ability to regulate the responses to external or internal stimuli.

Although melanogenesis takes a similar path in hair and skin, the epidermal and follicular melanogenic systems differ from each other. This review focuses on the steps involved in the skin and hair pigmentation process, as well as the agents able to regulate several stages of this phenomenon.

This work also reports some physiological and pathological pigmentation changes, including the ones associated to particular medications.

**Keywords:** Melanogenesis; Melanosomes; Pigmentation; Regulation; Aging

# Abreviaturas

$\alpha$ -MSH – hormona alfa estimulante de melanócitos

ACTH – hormona adrenocorticotrófica

AINEs – anti-inflamatórios não-esteróides

ApoE – apolipoproteína E

ASP – proteína sinalizadora Agouti

cAMP – adenosina 3',5'-monofosfato cíclico

c-Kit – recetor tirosina cinase

DNA – ácido desoxirribonucleico

DOPA – 3,4-dihidroxifenilalanina

FPS – fator de proteção solar

gp100 – glicoproteína 100

GTP – guanosina trifosfato

GTPase – guanosina trifosfatase

ILV – vesícula intraluminal

KGF – fator de crescimento dos queratinócitos

KGFR – recetor do fator de crescimento dos queratinócitos

LRO – organelo relacionado com lisossomas secretórios

MC1R – recetor da melanocortina 1

miRNA – microRNA

MITF – fator de transcrição indutor de melanócitos

Mlph – melanofilina

MVBs – corpos multivesiculares

MYO5A – miosina Va

PAR-2 – recetor 2 ativado por protease

PGE<sub>2</sub> – prostaglandina E<sub>2</sub>

PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  – prostaglandina F<sub>2 $\alpha$</sub>

Pmel17 – proteína pré-melanossomal 17

POMC – pró-opiomelanocortina

RNA – ácido ribonucleico

ROS – espécies reativas de oxigénio

SCF – fator de células estaminais

SNARE – recetor solúvel de ligação ao fator sensível à N-etilmaleimida

TCC – creme de combinação tripla

TKI – inibidor da tirosina cinase

TRP-1 – proteína 1 relacionada com a tirosinase

TRP-2 – proteína 2 relacionada com a tirosinase

TXA – ácido tranexâmico

UV – ultravioleta

UVA – ultravioleta A

UVB – ultravioleta B

UVC – ultravioleta C

## Índice:

Resumo.....	1
Abstract .....	2
Abreviaturas .....	3
1 Introdução .....	7
2 Melanogénese .....	9
2.1 Melanócitos .....	9
2.2 Melanina .....	9
2.2.1 Síntese .....	10
2.2.2 Funções .....	11
3 Biogénese do melanossoma .....	12
3.1 Migração intracelular de melanossomas.....	13
3.2 Transferência intercelular de melanossomas .....	14
3.2.1 Modelo de citofagocitose .....	14
3.2.2 Modelo de fusão .....	15
3.2.3 Modelo de transferência de vesículas .....	15
3.2.4 Modelo de exocitose/endocitose.....	15
3.3 Moduladores da pigmentação .....	16
3.3.1 Exossomas.....	17
3.3.2 PAR-2 .....	18
3.3.3 KGFR.....	18
3.3.4 MC1R.....	19
3.3.5 MITF.....	19
4 Alterações da pigmentação da pele .....	21
4.1 Envelhecimento .....	21
4.2 Melasma.....	22
4.2.1 Tratamento .....	23
4.3 Hiperpigmentação iatrogénica.....	25
4.3.1 Hiperpigmentação pós-antibioterapia .....	25
4.3.2 Hiperpigmentação pós-antineoplásicos .....	26
4.3.3 Hiperpigmentação por Anticonvulsivantes.....	26
4.3.4 Hiperpigmentação por Agentes Psicoativos .....	27
4.3.5 Hiperpigmentação por AINEs.....	27
4.3.6 Hiperpigmentação por Metais Pesados .....	27
5 Pigmentação do cabelo .....	28

5.1 Ciclo do cabelo .....	28
5.2 Pigmentação do cabelo .....	29
5.3 Canície .....	30
5.3.1 Canície precoce .....	31
5.3.2 ROS.....	31
5.3.3 Soluções para a canície .....	32
5.3.3.1 Tintas .....	32
5.4 Alterações da pigmentação capilar induzidas por fármacos.....	32
5.4.1 Cloroquina.....	33
5.4.2 Inibidores da Tirosina Cinase (TKI) .....	33
Conclusão .....	34
Referências Bibliográficas .....	36

### **Índice de Figuras:**

Figura 1 – Classificação dos fotótipos de acordo com a escala de Fitzpatrick. ....	7
Figura 2 – Síntese da feomelanina e eumelanina. ....	10
Figura 3 – Diferentes estádios de desenvolvimento dos melanossomas.....	13
Figura 4 –Modelos de transferência de melanossomas entre melanócitos e queratinócitos ....	16

### **Índice de Tabelas:**







Tabela 1 – Fases do ciclo do crescimento folicular .....	28
--	----

# 1 Introdução

A pele divide-se em três grandes camadas: epiderme, derme e camada subcutânea. A epiderme é composta por uma grande variedade de células, mas destacam-se as células de Langerhans, os melanócitos e os queratinócitos, estando as últimas duas envolvidas no processo de pigmentação da pele através da sua intercomunicação. Estas duas linhagens de células formam a “Unidade Melano-Epidérmica”, uma unidade funcional que consiste na associação um melanócito e de 30-40 queratinócitos, que trabalham em conjunto para conferir cor à pele (1).

A cor da pele geralmente é classificada de acordo com a escala de Fitzpatrick criada em 1975 (2). Desde então, esta escala já sofreu várias alterações e surgiram novas formas de implementar este método, que podem ser usadas dependendo do objetivo pretendido, o que nos leva ao escala que hoje é utilizada (3).

Originalmente, este sistema de classificação foi criado para categorizar em fotótipos de I a VI os vários tipos de pele de indivíduos caucasianos, tendo em consideração a sua sensibilidade à radiação UV, baseando-se na susceptibilidade da pele à queimadura solar e ao bronzeamento para os tipos I a IV. Mais tarde, foram introduzidos os fotótipos V e VI que têm por base de classificação a cor da pele e etnia em vez da reatividade à radiação (3,4) (Figura 1).

Fotótipo	Características	Tons de pele
I	Queima sempre, nunca bronzeia	
II	Geralmente queima, bronzeia pouco	
III	Às vezes queima, bronzeia	
IV	Raramente queima, bronzeia com facilidade	
V	Pele castanha	
VI	Pele preta	

**Figura 1 - Classificação dos fotótipos de acordo com a escala de Fitzpatrick.** A classificação de Fitzpatrick é feita de acordo com uma escala de fotótipos que varia entre I e VI. Os parâmetros utilizados na caracterização de cada fotótipo são a facilidade de bronzeamento, a susceptibilidade à queimadura e a cor da pele. Adaptado de (3,5).

A pigmentação da pele resulta da síntese de um pigmento biológico – a melanina – que assume um papel protetor contra agentes agressores que podem ser endógenos ou exógenos, sendo a radiação ultravioleta (UV) e a luz azul as principais culpadas pelos danos da camada epidérmica.

A exposição à luz solar desencadeia dois tipos de reações ao nível da pele: por um lado, a pigmentação imediata, que aparece após alguns minutos de exposição à radiação e desaparece após 6-8h e resulta da oxidação da melanina pré-existente; por outro lado, a pigmentação tardia, que aparece 48-72h depois da exposição solar e é persistente, sendo um produto da síntese de uma nova quantidade de melanina (6).

## **2 Melanogénese**

A melanina é um pigmento biológico sintetizado e armazenado em organelos intracelulares altamente especializados e específicos dos melanócitos, denominados melanossomas. Este pigmento é o principal responsável pela pigmentação da pele, cabelo e olhos (7). O processo de síntese e distribuição da melanina chama-se melanogénese (6).

### **2.1 Melanócitos**

Os melanócitos são células dendríticas que contêm melanina e provêm de células indiferenciadas originárias da crista neural embrionária, os melanoblastos.

Durante o desenvolvimento embrionário, os melanoblastos migram para diferentes regiões do organismo, como a pele, o sistema nervoso periférico, a cartilagem, os ossos, a coróide, a cóclea e o tecido adiposo (8). Apesar de podermos encontrar melanoblastos nas várias zonas já enumeradas, apenas se diferenciam em melanócitos capazes de exercer as suas funções os que atingem a junção dermo-epidérmica, os folículos pilosos e a coróide do olho (9).

### **2.2 Melanina**

A melanina apresenta três classificações diferentes quanto à sua estrutura química - alomelanina, eumelanina e feomelanina – sendo as últimas duas as formas que podemos encontrar no Homem (10).

A cor do cabelo, pele e olhos depende essencialmente da quantidade, qualidade e distribuição da melanina, que ocorre em dois tipos: eumelanina castanha/preta e feomelanina amarela/vermelha. A razão eumelanina/feomelanina também é um fator determinante na pigmentação dos tecidos (11).

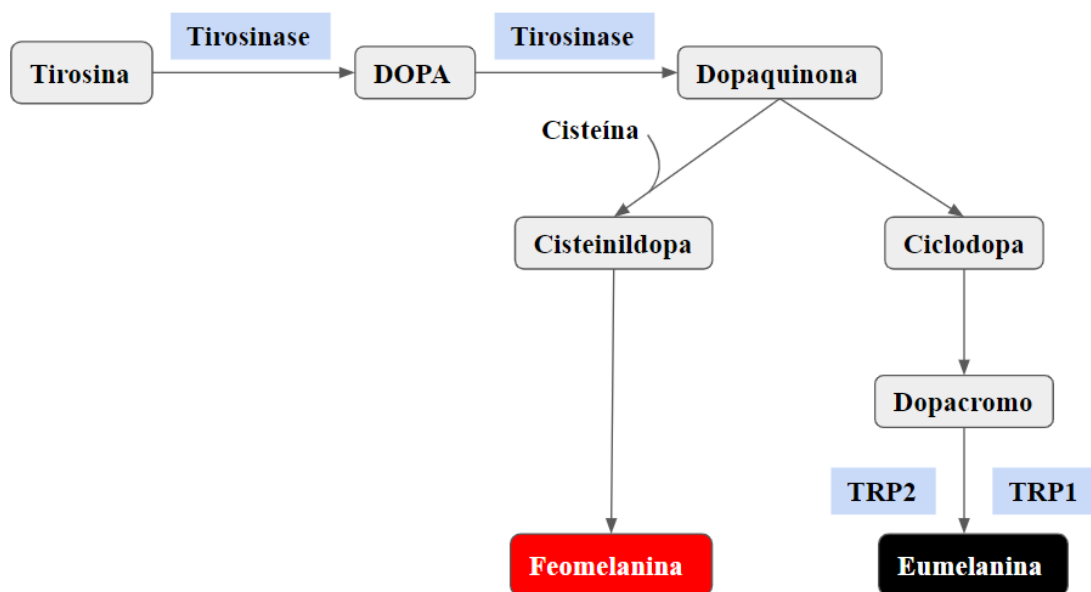
As quantidades e proporções de melanina dependem do fotótipo de cada pessoa. A eumelanina é mais abundante em pessoas de pele negra, enquanto a isoforma da melanina predominante em indivíduos com a pele e o cabelo claros é a feomelanina. Nos leucodermos existem pontos localizados de alta concentração de eumelanina como manchas ou sinais, enquanto a feomelanina em maiores concentrações se localiza, por exemplo, nas sardas, nos lábios ou nos mamilos (7).

### 2.2.1 Síntese

A síntese da melanina realiza-se a partir do aminoácido tirosina, presente nos melanossomas, que são endolisossomas secretórios. A tirosina sofre uma reação de hidroxilação por ação da enzima tirosinase e transforma-se em 3,4-diidroxifenilalanina (DOPA). A DOPA é oxidada pela mesma enzima em dopaquinona e após sucessivas transformações converte-se em melanina (12) (Figura 1).

A eumelanina e a feomelanina, apesar partilharem a molécula precursora e os passos iniciais da sua formação, diferem uma da outra devido aos mecanismos biossintéticos distintos.

A feomelanina necessita da tirosinase e do aminoácido cisteína para a sua produção, o que implica que a sua síntese está dependente, não só da atividade da tirosinase, mas também da disponibilidade deste aminoácido (10). Já na síntese da eumelanina, para além da tirosinase, intervêm as enzimas TRP1 e TRP2, que apenas existem nos eumelanossomas (4,13) (Figura 1).



**Figura 2 – Síntese da feomelanina e eumelanina.** A fase inicial da síntese destes pigmentos é comum: O aminoácido tirosina é hidroxilado pela tirosinase, transformando-se em DOPA. De seguida, dá-se a oxidação da DOPA em dopaquinona pela tirosinase. A partir daqui, existem dois mecanismos biossintéticos da eumelanina e da feomelanina. A feomelanina forma-se através da reação do aminoácido cisteína com a dopaquinona. Por outro lado, a formação da eumelanina torna-se possível devido à intervenção das enzimas TRP1 e TRP2.

### 2.2.2 Funções

A principal função da melanina é proteger contra agressores externos, como é o caso da radiação. A exposição da epiderme à luz solar desencadeia a produção de melanina, aumentando a fotoproteção da pele e provocando o seu bronzeamento.

A radiação solar que atinge a superfície do planeta possui três gamas com diferentes comprimentos de onda: ultravioleta, visível e infravermelho. Destas, a gama UV é a mais energética, mas também a mais perigosa. Este tipo de radiação geralmente é subdividido em UVA, UVB e UVC. Os raios UVC são filtrados pela camada do ozono, não chegando a atingir a estratosfera. No entanto, a radiação UVA, UVB e visível, apesar de ser parcialmente filtrada pela atmosfera, ainda atinge a superfície terrestre em quantidades significativas, sendo um motivo de preocupação devido à forte penetração da radiação UVA e da luz azul (gama visível) nas células cutâneas (14).

O papel fotoprotetor da melanina traduz-se na absorção de um largo espectro de radiações UVA, UVB e visível e da dissipação de até 90% desta energia absorvida sob a forma de calor, agindo assim como escudo contra os danos que a radiação pode provocar no DNA das células da epiderme (7,14).

Apesar da proteção que confere, a melanina tem vindo a ser considerada uma molécula que também pode apresentar algum risco, uma vez que a absorção de energia induz a molécula no seu estado excitado, tornando-a mais reativa. A fotossensibilidade da melanina pode provocar diversos efeitos nas moléculas que a rodeiam e conduzir à formação de radicais livres de oxigénio (ROS), o que também pode dar origem a mutações do material genético das células (15).

A estrutura química deste pigmento biológico revela ainda afinidade com alguns metais, o que leva à sua extração do ambiente e à quelação em locais específicos da molécula. Iões metálicos como  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Cu}^{2+}$  podem ser prejudiciais para os sistemas biológicos ao afetarem as reações de Fenton (reações de degradação de radicais livres de oxigénio) e assim, a melanina ajuda na prevenção do stress oxidativo ao sequestrar estes iões (16).

### 3 Biogénese do melanossoma

Os melanossomas, conforme referido anteriormente, são classificados como organelos relacionados com lisossomas secretórios (LRO), uma vez que partilham algumas características com os lisossomas, tais como a sua origem, o pH luminal e algumas proteínas no seu interior. Estes são organelos especializados dos melanócitos que se formam a partir de endossomas precoces e cujas principais funções são sintetizar e armazenar melanina. (17)

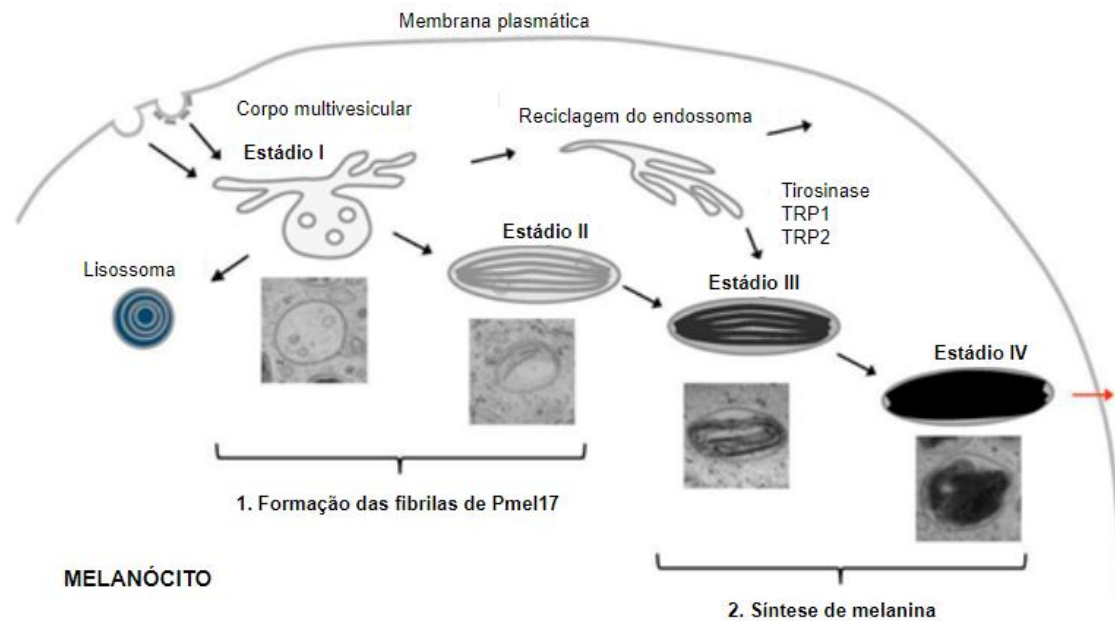
A formação destes organelos processa-se ao longo de quatro estádios de maturação, sendo classificados como pré-melanossomas nos estádios I e II, pois ainda não possuem melanina. Inicialmente apresentam-se como vesículas amorfas que possuem a proteína Pmel17 (também conhecida por gp100) no seu interior (estádio I). Nos eumelanossomas, a polimerização desta proteína, que é exclusiva dos melanócitos, resulta na formação ordenada de fibrilas proteicas características destes organelos no lúmen das vesículas agora mais alongadas (estádio II) (18–20). Uma vez formadas as fibrilas, dá-se a passagem de pré-melanossomas a melanossomas, que ocorre quando se inicia a síntese da melanina. Os grânulos de melanina formados vão sendo depositados nestas estrias, levando ao seu escurecimento e espessamento (estádio III), até obtermos organelos escuros no fim do seu estado de maturação (estádio IV) (Figura 3) (21). Pelo contrário, os feomelanossomas são sempre esféricos durante todo o seu desenvolvimento e contêm apenas material proteináceo amorfo e grânulos de melanina (10).

As fibrilas que se formam por polimerização da Pmel17 nos pré-melanossomas são semelhantes às fibrilas amilóides observadas em algumas doenças, nomeadamente no Alzheimer. O processo de formação das fibrilas ocorre entre os estádios I e II de formação dos melanossomas e inicia-se em vesículas intraluminais (ILVs) de corpos multivesiculares (MVBs). A membrana das ILVs possui a apolipoproteína E (ApoE), que regula a formação das fibrilas de Pmel17 (22,23). Então, as ILVs funcionam como plataformas de nucleação que sequestram a Pmel17 e procedem à sua polimerização em fibrilas. Nos pré-melanossomas no estágio II encontramos estas estruturas já completamente formadas e organizadas numa matriz em folhas paralelas que são responsáveis pela alongação dos organelos e servem de esqueleto, conferindo-lhes a forma elipsoidal (24).

Esta mudança de configuração exige uma deformação da membrana limitante dos pré-melanossomas e é possível devido à sua associação com as membranas das ILVs. Este

fenómeno foi descoberto por observação da diminuição do tamanho e do número de ILVs à medida que se verificava a acumulação das fibrilas (10,23,24).

Após completamente desenvolvidos, os melanossomas são transportados ao longo dos melanócitos e transferidos para os queratinócitos, onde revelam o seu papel fotoprotetor e se traduzem numa pigmentação eficiente da pele e do cabelo (10).



**Figura 3 – Diferentes estádios de desenvolvimento dos melanossomas.** A síntese dos melanossomas inicia-se a partir de MVBs, também chamados de pré-melanossomas no estágio I, onde se começam a formar fibrilas de Pmel17. No estágio II, os pré-melanossomas passam a apresentar uma forma elipsoidal, que se deve às fibrilas formadas nos estágio anterior. Posteriormente, dá-se a melanogénese já no estágio III e os grânulos de melanina vão depositar-se nas fibrilas de Pmel17, resultando em melanossomas carregados deste pigmento no estágio IV. Uma vez completa a maturação dos melanossomas, estes são transportados para os queratinócitos. Adaptado de (23).

### 3.1 Migração intracelular de melanossomas

O transporte de melanossomas no interior dos melanócitos realiza-se graças à ação coordenada de proteínas motoras do citoesqueleto.

A migração destes organelos em longas distâncias como nas dendrites do melanócito faz-se, bidirecionalmente, através dos microtúbulos, com a intervenção de cinesinas e dineínas (25).

Posteriormente, nas extremidades das dendrites ricas em filamentos de actina, os melanossomas são transportados apenas de forma unidirecional e por distâncias mais curtas ao longo destes microfilamentos. A GTPase Rab27a, presente nos melanossomas, recruta um efetor específico, a melanofilina (Mlph), que por sua vez se liga à miosina Va (MYO5A). O complexo Rab27a-Mlph-MYO5A permite a associação de melanossomas com a rede de filamentos de actina nas extremidades das dendrites dos melanócitos, promovendo a quebra da sua ligação com os microtúbulos e transportando-os para uma zona mais próxima da membrana plasmática (20,26).

O equilíbrio entre estas duas formas de transporte intracelular é decisivo para a distribuição dos melanossomas (27).

### **3.2 Transferência intercelular de melanossomas**

A transferência de melanossomas dos melanócitos para os queratinócitos é o único exemplo conhecido de migração de organelos entre células.

Nos estudos realizados até ao momento, foram propostos quatro mecanismos distintos de transporte de melanossomas entre melanócitos e queratinócitos e a evidência a favor de cada um destes modelos defende a ideia de que cada modo de transferência pode variar e não ser exclusivo consoante o sistema (10).

#### **3.2.1 Modelo de citofagocitose**

Este modelo propõe que os queratinócitos têm a capacidade de fagocitar constituintes dos melanócitos, nomeadamente as extremidade das dendrites, com o objetivo de captar grânulos de melanina (28).

O melanócito projeta a sua dendrite de forma a estabelecer contacto com um queratinócito, que responde ao estímulo com a emissão de pseudópodes capazes de internalizar a extremidade da dendrite. As projeções do queratinócito apertam a dendrite melanocítica até a separarem da célula, resultando na fagocitose de um fragmento citoplasmático com melanossomas no seu interior. Nesta fase, ocorre a formação de um fagolisossoma através da fusão com lisossomas e degradação da membrana e dos vestígios citoplasmáticos do

melanócito. Por fim, o fagolisossoma é transportado até à região perinuclear, onde se desintegra em vesículas mais pequenas com grânulos de melanina, que serão redispersos pelo citoplasma do queratinócito (29). (Figura 4 – A)

### **3.2.2 Modelo de fusão**

Outra possível via de transferência de melanossomas consiste na fusão dos filopódios projetados pelas dendrites dos melanócitos com a membrana dos queratinócitos, formando um canal por onde são transferidos os melanossomas de uma célula para a outra (30).

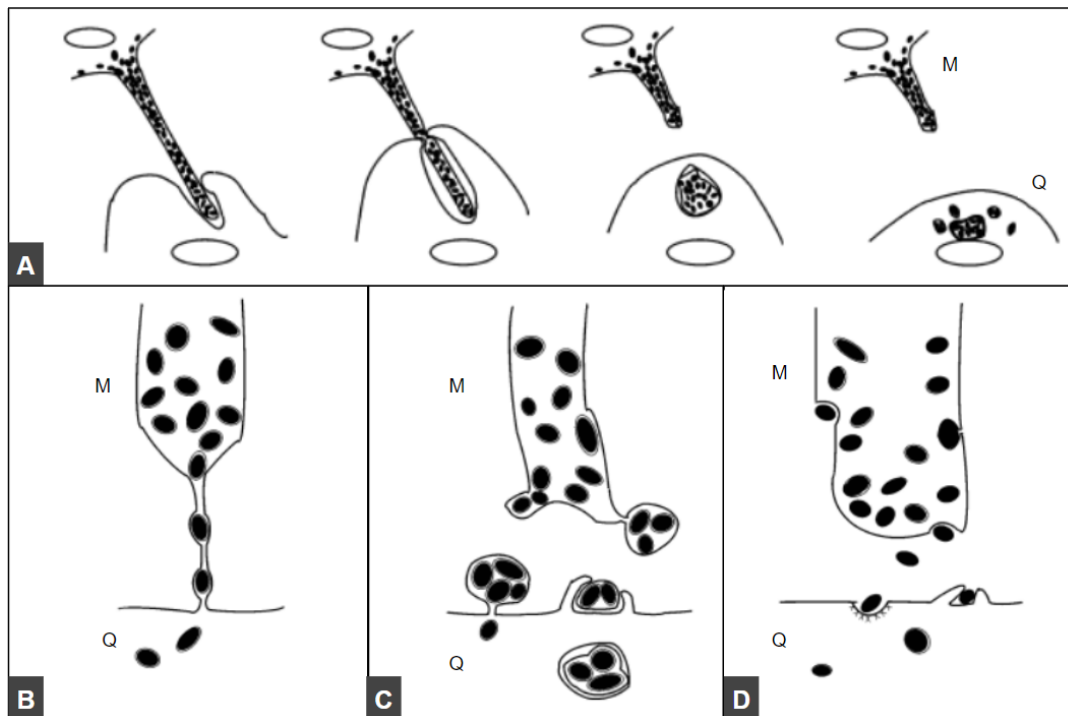
Tanto este modelo, como o anterior foram demonstrados através da deteção e rastreamento da proteína específica dos melanossomas Pmel17 (28). (Figura 4 – B)

### **3.2.3 Modelo de transferência de vesículas**

Uma outra hipótese formulada para explicar a transferência destes organelos consiste no ajuntamento dos melanossomas na zona próxima da membrana melanocítica, seguida do empacotamento destes organelos dentro de vesículas, formadas devido à evaginação da membrana plasmática. Estas vesículas são expulsas pelos melanócitos para a sua periferia e são depois captadas por microvilosidades e internalizadas por fagocitose ou fusão das membranas vesiculares com a membrana dos queratinócitos (31,32). (Figura 4 – C)

### **3.2.4 Modelo de exocitose/endocitose**

De acordo com este modelo, a transferência de melanina resulta da fusão da membrana melanossomal com a membrana plasmática do melanócito, provocando a exocitose dos grânulos de melanina que serão fagocitados por um queratinócito adjacente. Esta hipótese surgiu da análise microscópica de pele e folículos humanos, onde foi possível observar grânulos de melanina sem qualquer membrana a delimitá-los, no espaço intercelular a serem internalizados pelos queratinócitos através da emissão de pseudópodes ou depressões revestidas por clatrina. Para além disso, o facto de os melanócitos expressarem SNAREs e Rab GTPases, moléculas conhecidas pela sua capacidade de regular a exocitose, vem reforçar esta teoria (29). (Figura 4 – D)



**Figura 4 - Modelos de transferência de melanossomas entre melanócitos e queratinócitos.** A: Modelo de citofagocitose; B: Modelo de fusão; C: Modelo de transferência de vesículas; D: Modelo de exocitose/endocitose. M – Melanócito; Q – Queratinócito. Adaptado de (29).

### 3.3 Moduladores da pigmentação

O processo de síntese e distribuição da melanina, que tem como resultado a pigmentação, assenta em várias etapas: transcrição de proteínas melanogénicas, biogénese de melanossomas, gestão de proteínas melanogénicas dentro dos melanossomas, transporte dos melanossomas até às extremidades das dendrites dos melanócitos e por fim, a transferência dos melanossomas para os queratinócitos.

Estes eventos são regulados por uma grande variedade de agentes autócrinos e parácrinos como resposta a estímulos endógenos e exógenos (33). O principal fator externo com influência sobre o sistema de pigmentação é a radiação UV, ao provocar o aumento de fatores estimulantes da pigmentação e diminuir os fatores responsáveis pela sua inibição (34).

Existem mais de uma centena de fatores identificados na modulação da pigmentação direta ou indiretamente, pelo que aqui serão abordados apenas alguns, considerados dos mais importantes no controlo deste fenómeno.

### 3.3.1 Exossomas

A radiação UV, proveniente da luz solar, ativa cascatas de sinalização que induzem a secreção de hormonas e fatores de crescimento causadores de um aumento na síntese de melanina (35). As vesículas extracelulares, exossomas e microvesículas secretadas pelas células são responsáveis pelo transporte de proteínas, lípidos e RNAs que regulam várias funções celulares.

A pigmentação da pele assenta na comunicação que existe entre melanócitos e queratinócitos na epiderme. Os queratinócitos libertam exossomas, que têm um papel essencial na regulação da síntese de melanina e, conseqüentemente, da pigmentação da pele, ao terem como alvo os melanócitos e alterarem a expressão genética e a atividade proteica destas células.

Os exossomas correspondem ILVs de MVBs que se fundem com a membrana plasmática e são libertadas para o espaço extracelular. Podem definir-se como vesículas extracelulares com diâmetro entre 40 e 100nm derivadas de endossomas, que armazenam componentes citosólicos como proteínas, lípidos e RNAs, com a capacidade de modelar a síntese de melanina (36).

Os queratinócitos comunicam com os melanócitos através de exossomas contendo miRNAs no seu interior, que têm a capacidade de regular a pigmentação. Quando estas vesículas extracelulares libertadas pelos queratinócitos entram em contacto com os melanócitos, potenciam a atividade da tirosinase e induzem o aumento da expressão de outros genes envolvidos na pigmentação, o que conseqüentemente conduz a uma maior produção de melanina nos melanócitos recetores (35).

No entanto, é de notar que os exossomas secretados por diferentes fotótipos e após estimulação com radiação UVB desencadeiam diferentes respostas, que possivelmente se devem a mecanismos de atuação distintos: os exossomas provenientes dos queratinócitos de indivíduos de raça negra obtêm uma resposta mais acentuada no que diz respeito à estimulação da pigmentação comparativamente aos exossomas libertados por queratinócitos de indivíduos caucasianos, que apenas mostraram aumentar a produção de melanina quando os queratinócitos foram submetidos a radiação UVB em doses aproximadas às da exposição solar (35).

### 3.3.2 PAR-2

Os queratinócitos possuem na sua superfície um recetor transmembranar acoplado à proteína G denominado recetor 2 ativado por protease (PAR-2). Os PAR-2 representam uma das formas de controlar a transferência de melanossomas, uma vez que a capacidade dos queratinócitos de fagocitar melanossomas é mediada por estes recetores (quanto maior o número de recetores na superfície dos queratinócitos, maior a sua capacidade de captar melanossomas e conseqüentemente ocorre um aumento da pigmentação). Estes podem sofrer regulação positiva ou negativa, aumentando ou diminuindo o número de melanossomas incorporados nos queratinócitos. Isto significa que os queratinócitos têm uma importante influência na pigmentação cutânea. (29,37)

A expressão de PAR-2 é superior em fotótipos mais escuros e a radiação UV também é um fator indutor da sua sobre-expressão (37). As diferenças na regulação da pigmentação pelo PAR-2 nos diferentes fotótipos sugerem que o mecanismo de bronzeamento pode variar entre indivíduos com diferentes tipos de pele (38).

A ativação dos PAR-2 resulta na secreção de proteases de serina pelos queratinócitos. As proteases vão ligar-se a estes recetores e ativam a via de sinalização do cAMP associada aos mesmos, criando um *feedback* positivo que têm como consequência a internalização de mais melanossomas. A radiação UVB atua por um processo semelhante, resultando no mesmo efeito (29).

Para além do seu papel fulcral na fagocitose dos melanossomas, os PAR-2 também estão implicados na pigmentação da pele ao estimularem a libertação de prostaglandinas como a PGE<sub>2</sub> e a PGF<sub>2α</sub>, que atuam como agentes parácrinos na formação de dendrites nos melanócitos (39).

### 3.3.3 KGFR

O fator de crescimento dos queratinócitos (KGF) é um agente parácrino que funciona como mediador do crescimento e diferenciação desta linhagem celular. Um aumento da expressão do recetor KGF (KGFR) desencadeou uma maior taxa de fagocitose após o tratamento com KGF *in vitro*. Este resultado sugere que o efeito do fator de crescimento é diretamente mediado pela expressão e ativação do seu recetor.

O KGFR foi também detetado no interior dos fagossomas aquando da fagocitose, o que indica a possibilidade deste recetor estar não só implicado na internalização do fagossoma, mas também no seu transporte intracelular (40).

### **3.3.4 MC1R**

O recetor melanocortina 1 (MC1R) pertence à família dos recetores acoplados à proteína G, localiza-se na membrana dos melanócitos e é considerado um dos principais reguladores da melanogénese. O fotótipo I correspondente a pessoas com a pele muito clara e o cabelo ruivo está associado a variações no gene codificante do MC1R. Estes indivíduos apresentam uma predominância de feomelanina na sua pele e cabelo e/ou o seu organismo tem uma capacidade de produção de eumelanina inferior (41).

A hormona alfa estimulante de melanócitos ( $\alpha$ -MSH) e a hormona adrenocorticotrófica (ACTH) são potentes estimulantes da melanogénese. A molécula precursora destas hormonas, a pró-opiomelanocortina (POMC), é sintetizada pelos queratinócitos e pela hipófise, onde foi inicialmente isolada. A expressão destas hormonas é induzida pela radiação UV, mas também se verifica no processo inflamatório através das citocinas e interleucinas libertadas (33).

Tanto a  $\alpha$ -MSH como a ACTH intervêm na modulação do processo de pigmentação através da ligação ao MC1R, que ativa uma cascata de sinalização dependente de cAMP que induz a transcrição do gene MITF, um gene com um papel fulcral neste processo que será abordado de seguida (20,42).

Existe ainda um outro ligando do MC1R capaz de alterar a atividade pigmentar, mas diverge dos anteriores pelo seu efeito inibitório neste fenómeno – a proteína sinalizadora agouti (ASP). A ASP inibe competitivamente a ligação da  $\alpha$ -MSH ao MC1R, tendo como consequência um aumento da feomelanogénese relativamente à eumelanogénese (33).

### **3.3.5 MITF**

O fator de transcrição de microftalmia (MITF) pertence a uma superfamília de fatores da transcrição, sendo o MITF-M a isoforma específica dos melanócitos. Grande parte das vias sinalizadoras da melanogénese convergem para o MITF, que controla a expressão de vários

genes chave no mecanismo da síntese de melanina, tendo portanto um papel central na regulação da pigmentação (43).

Este fator de transcrição codifica genes de proteínas envolvidas no crescimento e sobrevivência dos melanócitos, no desenvolvimento estrutural e tráfego de melanossomas, mas mais relevante ainda, regula enzimas sem as quais a melanogénese não seria possível, nomeadamente a tirosinase, a TRP-1 e a TRP-2 (44).

A regulação da transcrição do gene MITF é controlada por vários agentes capazes de se ligar a sequências localizadas na região promotora do gene. Alguns exemplos destes moduladores são SOX 9, SOX10, CREB, PAX3, LEF1 e ZEB2 (43).

## 4 Alterações da pigmentação da pele

Existem vários fatores que podem estar na origem das alterações pigmentares da pele e, apesar de serem geralmente situações benignas, podem revelar-se um problema por causarem um grande impacto na qualidade de vida de quem sofre com elas. A etiologia destas modificações cutâneas pode estar relacionada com a alteração da densidade melanocítica, a deficiente produção de melanina, ou podem até verificar-se ambos os cenários (45).

### 4.1 Envelhecimento

Tal como outros órgãos do corpo humano, a pele também é afetada pelo envelhecimento. Algumas das alterações alusivas à idade que se verificam são a redução da produção e enfraquecimento das fibras de colagénio, degeneração da elastina, diminuição da densidade melanocítica e um declínio no número de vasos sanguíneos na camada dérmica (46).

O envelhecimento da pele pode ser dividido em dois processos elementares: o envelhecimento intrínseco e o fotoenvelhecimento.

O envelhecimento intrínseco caracteriza-se por uma pele mais pálida e com rugas finas na pele de idosos que foi protegida da radiação UV ao longo da vida.

Por outro lado, o fotoenvelhecimento pode aparecer prematuramente em peles que não tiveram a devida proteção solar e, por isso, foram danificadas pela radiação. Nestes casos, o envelhecimento da pele manifesta-se de outra forma: as rugas são mais grossas, a pele perde elasticidade, a pigmentação cutânea é heterogénea e surge a telangiectasia (aparência de vasos sanguíneos “partidos”) (47,48).

A comparação de cortes histológicos de pele envelhecida naturalmente pelo processo cronológico e pele envelhecida devido à exposição solar desprotegida permite observar alterações do tecido conjuntivo em ambos os casos, mas muito mais acentuadas na pele fotoenvelhecida. O fotoenvelhecimento conduz a um maior dano do tecido conjuntivo dérmico, que se traduz em fibras de tecido conjuntivo mais finas, menos compactadas e desorganizadas (47).

O envelhecimento está associado ao declínio da atividade e capacidade de reserva de todos os órgãos do corpo humano, inclusivé a pele. Ao longo do tempo, verifica-se uma redução de

10% a 20% por década no número de melanócitos funcionais (49). Como resultado, com o avanço cronológico, a capacidade da pele (em áreas protegidas do sol) de se bronzear como resposta à exposição solar vai diminuindo (50). Em zonas que sofreram exposição solar crónica, a idade traz consigo uma irregularidade na pigmentação cutânea, tornando as manchas cutâneas num marcador do envelhecimento (46).

As lesões pigmentares na pele fotoenvelhecida mais comuns são lentigo (manchas da idade), efélides (sardas) e queratose seborreica (48).

## **4.2 Melasma**

O melasma, apesar de geralmente assintomático, é causa de transtorno emocional uma vez que se manifesta essencialmente na face e a sua constante visibilidade no dia-a-dia pode ter um impacto negativo na qualidade de vida dos pacientes (51).

Esta condição dermatológica resulta de uma hipermelanose que ocorre em zonas em que a pele está exposta à luz solar, geralmente na face (centro-facial ou periférico) e, em casos mais raros, também no pescoço e na parte dorsal dos antebraços (45). Este fenómeno manifesta-se através do aparecimento de máculas bem delineadas, com contornos irregulares e de cor acastanhada/acinzentada, frequentemente distribuídas de forma simétrica nas áreas referidas anteriormente. O melasma, também tipicamente conhecido como a “máscara da gravidez” tem uma prevalência superior no sexo feminino e em fotótipos mais escuros, estando comumente associada à gravidez ou ao uso de terapêutica anticoncepcional oral (52).

A patogénese do melasma ainda não foi bem clarificada, no entanto acredita-se que existem alguns fatores que podem assumir um papel importante na sua origem, como a exposição crónica a radiação ultravioleta (agravando a sua aparência no verão), a exposição a luz azul do espectro visível, alterações hormonais (no sexo feminino) e a predisposição genética (52–54).

Estudos mais recentes revelaram que o melasma é uma patologia que também pode estar relacionada com o fotoenvelhecimento da pele em indivíduos geneticamente predispostos, sendo também comum o seu aparecimento após a menopausa (53).

As características histopatológicas das lesões do melasma coincidem com alguns acontecimentos naturais do envelhecimento da pele, tais como: elastose solar (acumulação de tecidos elásticos na derme devido à exposição solar), disrupção da membrana basal,

vascularização aumentada e uma contagem do número de mastócitos superior (47). Os mastócitos, que se encontram em maior número nas lesões relativamente às zonas periféricas, libertam histamina como resposta à exposição a radiação UV e resultam num aumento da melanogénese. A membrana basal enfraquecida serve como porta de entrada para a acumulação de melanina na derme (53).

O diagnóstico costuma ser realizado através da observação recorrendo a uma lâmpada de Wood e quanto mais intensa for a sua aparência sob esta luz, melhor costuma ser a resposta aos tratamentos tópicos (51). No entanto, a inconsistência dos tratamentos disponíveis e a frequente ocorrência de recidivas do melasma, tornam a sua gestão um desafio (53).

#### **4.2.1 Tratamento**

O passo crítico para combater a exacerbação ou recidiva do melasma é evitar o fator agravante das lesões, prevenido o seu aparecimento. Isto consegue-se evitando a exposição à radiação solar ou à luz azul e através da utilização de protetor solar. A utilização de um fator de proteção solar (FPS) mostrou-se eficaz na redução da incidência ou recidiva das lesões de melasma, no entanto uma grande parte da população ainda não tem este cuidado diário, principalmente as pessoas com fotótipos mais escuros (4). Este cuidado deve estar sempre associado a outros tratamentos.

Os agentes tópicos despigmentantes são considerados o tratamento de eleição para esta hipermelanose.

A hidroquinona é o agente antimelanogénico mais popular e atua por inibição competitiva da tirosinase, a enzima que catalisa a reação limitante da formação da melanina (55). No entanto, a utilização deste fármaco em monoterapia já não é comum devido ao risco de ocorrência de ocronose exógena (descoloração azul-acinzentada da pele) e ao seu potencial efeito carcinogénico (56).

O tratamento aprovado com esta substância consiste num creme de combinação tripla (TCC) que contém 4% de hidroquinona, 0,05% de tretinoína e 0,01% de acetonido de fluocinolona. A tretinoína alia o efeito despigmentante a propriedades antienvhecimento da pele. O acetonido de fluocinolona pertence à classe do corticosteróides que combatem a inflamação, processo este que está associado aos danos celulares da pele provocados pela radiação e à melanogénese (53). O efeito sinérgico destes compostos revelou resultados mais satisfatórios

comparativamente ao uso isolado da hidroquinona. Contudo, o uso do TCC não deve ultrapassar os 6 meses, não sendo o tratamento de manutenção mais aconselhado contra o melasma (57).

Outros agentes tópicos com propriedades despigmentantes como a niacinamida, o ácido ascórbico, o resveratrol, o ácido azelaico, entre outros, são alternativas sem efeitos adversos severos. Porém, estes compostos são incapazes de restaurar os danos do envelhecimento da pele presente nas lesões do melasma, devendo ser usados em associação a outras abordagens antienvhecimento (53).

O ácido tranexâmico (TXA), um agente antifibrinolítico, também já se mostrou eficaz no combate desta patologia ao ter como alvo de atuação a componente vascular das lesões. A radiação UV conduz à síntese do ativador do plasminogénio pelos queratinócitos, resultando num aumento da conversão de plasminogénio em plasmina. A presença de plasmina leva a uma maior produção de mediadores inflamatórios, o ácido araquidónico e o fator de crescimento de fibroblastos, que estimulam a melanogénese e a angiogénese, respetivamente. O ativador do plasminogénio induz a atividade da tirosinase, o que se manifesta numa produção aumentada de melanina. Ao inibir a ativação do plasminogénio através do bloqueio do centro ativo do plasminogénio, o TXA diminui a produção de melanina e a neovascularização induzida pela radiação UV. Apesar da eficácia do uso sistémico do TXA, o risco aumentado de tromboembolismo associado a esta terapêutica limitam o seu uso essencialmente a formulações tópicas (58,59).

Os "peelings" (ou dermo descamantes) químicos constituem uma terapêutica de segunda linha na gestão da doença. O uso de substâncias como o ácido glicólico ou o ácido salicílico melhoram a componente epidérmica, ao provocarem uma desintegração controlada e conseqüente regeneração da epiderme, removendo a melanina epidérmica e suspendendo a transferência de melanossomas. Todavia, este tratamento não é aconselhado para todos os fotótipos, podendo em alguns casos ocorrer hiperpigmentação pós-inflamatória. Uma seleção adequada dos pacientes, um bom aconselhamento, preparação da pele e o uso de opções terapêuticas em formulações tópicas são fatores essenciais para obter os resultados desejados (55,60).

Então, pode-se considerar o melasma uma condição complexa que apresenta características do fotoenvelhecimento da pele. Os estudos que têm vindo a ser realizados permitiram a descoberta de novos alvos terapêuticos e à medida que vão aparecendo tratamentos

inovadores, serão redigidos novos protocolos de combinação de várias terapêuticas, com o objetivo de alcançar resultados mais eficazes, seguros e adequados à situação individual de cada doente (53,61).

### **4.3 Hiperpigmentação iatrogénica**

A incidência da hiperpigmentação causada pelo uso de certos fármacos é altamente especulativa devido à falta de reporte de muitos casos clínicos, mas também à idiopatia da maioria das situações. Apesar disso, estima-se que a hiperpigmentação iatrogénica represente aproximadamente 20% dos casos de hiperpigmentação adquirida (62).

O diagnóstico de hiperpigmentação iatrogénica é difícil pois é essencial eliminar outras condições que possam estar implicadas na origem desta disfunção. Para além disso, o diagnóstico diferencial torna-se ainda mais difícil em pacientes polimedicados. Nestes casos deve ser construído um historial médico completo do paciente e examinar detalhadamente a sua pele (63).

Relativamente a manifestações clínicas, a hiperpigmentação iatrogénica difere da causada por outros fatores principalmente devido ao facto da pigmentação começar a desvanecer quando o tratamento com o fármaco em questão é interrompido (62).

Se existirem alternativas terapêuticas dos fármacos etiológicos desta condição, a sua substituição deve ser considerada. Por outro lado, se a suspensão do fármaco não for uma opção viável, a dose da terapêutica deve ser reduzida e a exposição solar deve ser limitada (62).

#### **4.3.1 Hiperpigmentação pós-antibioterapia**

A minociclina é o antibiótico da classe das tetraciclinas em que a reação adversa de hiperpigmentação é mais comum, podendo ocorrer em cerca 15% dos pacientes que utilizam esta terapêutica, principalmente os que apresentam o seu uso mais prolongado. Também se pode observar este tipo de lesões, embora com menos frequência, com o uso de doxiciclina e outras tetraciclinas de primeira geração. Foram identificados três tipos de hiperpigmentação induzida por minociclina:

- Tipo 1 (lesões azul-preto num anterior local de inflamação ou cicatrização), produzido por grânulos pigmentares, que possivelmente resultam de quelatos férricos de minociclina;
- Tipo 2 (lesões azul-acinzentadas que afetam a pele normal, especialmente as pernas), que provavelmente se deve à presença de metabolitos de minociclina;
- Tipo 3 (lesões com aparência de pele suja em zonas expostas à luz solar) no qual se verificam concentrações mais altas de melanina nos macrófagos (64).

#### **4.3.2 Hiperpigmentação pós-antineoplásicos**

A patogênese da hiperpigmentação por antineoplásicos é variável dependendo do fármaco e pode envolver os seguintes mecanismos: efeito tóxico direto nos melanócitos com subsequente estimulação melanogénica; hipersecreção de  $\alpha$ -MSH e ACTH como consequência de toxicidade adrenal; deficiência dos inibidores da tirosinase; formação de complexos fármaco-melanina estáveis; efeito tóxico sobre os queratinócitos seguido de hiperpigmentação pós-inflamatória (62).

Dentro dos agentes alquilantes, a cisplatina, a ciclofosfamida, a ifofosfamida e a tiotepa foram identificados como causas de hiperpigmentação em alguns casos. Dos antimetabolitos, a capecitabina, o tegafur e o 5-fluorouracilo também já foram identificados como estando na origem de hiperpigmentação. A bleomicina pertence à classe dos antibióticos antitumorais e promove uma dermatite flagelada característica em 20 a 30% dos seus utilizadores (64).

Estas lesões tendem a aparecer em zonas de trauma agudo ou crónico, o que possivelmente se deve ao maior fluxo sanguíneo e consequente deposição do fármaco nestas zonas (62).

#### **4.3.3 Hiperpigmentação por Anticonvulsivantes**

Os anticonvulsivantes são uma classe de fármacos com uma incidência de reações adversas muito alta. Foram reportados casos de hiperpigmentação na toma de carbamazepina, lamotrigina e fenitoína, estando esta última relacionada com lesões hiperpigmentares no pescoço e no rosto semelhantes às lesões do melasma em 10% dos pacientes (65).

#### **4.3.4 Hiperpigmentação por Agentes Psicoativos**

O uso prolongado de alguns fármacos pertencentes às classes dos antidepressivos tricíclicos e fenotiazinas podem induzir a pigmentação em zonas expostas à luz solar.

Das fenotiazinas, a clorpromazina é a molécula mais frequentemente envolvida neste fenómeno, com a ocorrência de lesões com uma coloração roxo-acinzentada metálica em zonas expostas, essencialmente na face e extremidades (62).

Os antidepressivos tricíclicos apresentam semelhanças estruturais com as fenotiazinas e também poderão estar na origem de lesões hiperpigmentares com uma coloração azul-acinzentada em zonas expostas à radiação. Os casos identificados deste efeito iatrogénico estão relacionados com a imipramina e a desipramina, contudo, a frequência da sua incidência ser muito inferior à da clorpromazina (66).

Estas alterações da pigmentação aparecem progressivamente após um longo período de utilização de doses altas destes fármacos.

#### **4.3.5 Hiperpigmentação por AINEs**

Os anti-inflamatórios não-esteróides (AINEs) também podem despoletar reações citotóxicas específicas que se manifestam sob a forma de um eritema fixo com hiperpigmentação pós-inflamatória associada. O eritema fixo induzido por fármaco caracteriza-se pelo reaparecimento da lesão exatamente no mesmo local anatómico aquando da reintrodução do medicamento (67). O seu mecanismo fisiopatológico ainda não é bem entendido, no entanto, os fármacos mais associados a esta reação adversa são o paracetamol, salicilatos, ibuprofeno e derivados de oxicam (63).

#### **4.3.6 Hiperpigmentação por Metais Pesados**

A hiperpigmentação induzida por metais era mais comum no passado, mas atualmente estes já não são muito utilizados como fármacos devido à sua toxicidade.

A injeção de sais de ferro por vezes usada em situações de anemia ferropénica causa frequentemente hiperpigmentações com coloração que pode variar entre o azul-acinzentado e o castanho (62).

## 5 Pigmentação do cabelo

O cabelo é composto por queratinócitos que são compactados numa fibra com elevada resistência à tensão. A porção “viva” do cabelo denomina-se folículo e localiza-se no interior do couro cabeludo. A secção “morta” do cabelo é a haste e corresponde à parte do cabelo visível a olho nu, que cresce a partir do folículo (68).

O folículo é um complexo mini-órgão presente na pele. Os pêlos desempenham um leque de funções orgânicas, entre as quais se incluem a função sensitiva, alguma proteção física da pele, participam na termorregulação, entre outras (69).

Cada um de nós possui cerca de 5 milhões de folículos pilosos espalhados por toda a superfície corporal, dos quais 80 000 a 150 000 se localizam no couro cabeludo (70). O cabelo é muito importante esteticamente e assume um papel de destaque na imagem social e na autoconfiança, tanto em homens como em mulheres. Um cabelo forte, saudável e com boa aparência é sinal de saúde, juventude e vitalidade.

### 5.1 Ciclo do cabelo

O desenvolvimento do cabelo obedece a um processo cíclico. A duração de cada ciclo de crescimento é coordenada por hormonas e citocinas, mas existem ainda outras variáveis que influenciam o período de crescimento, como a idade e fase de desenvolvimento do indivíduo, hábitos nutricionais e fatores ambientais (71).

Os ciclos repetidos do crescimento capilar vão alternando entre fases de rápido crescimento dos folículos com fases regressivas devido à maior taxa apoptótica e fases de repouso (72). Mais especificamente, os ciclos do crescimento folicular dividem-se em:

**Tabela 1 - Fases do ciclo do crescimento folicular**

<b>Anagénese ou fase de crescimento</b>	Com uma duração que pode ir dos 2 aos 8 anos, aproximadamente 85-90% dos folículos no couro cabeludo encontram-se nesta fase de crescimento ativo, em que a elongação do folículo pode chegar a ser de 0,5mm por dia (73,74). É nesta altura que a haste atinge o seu comprimento e diâmetro máximo (75).
---	---

<p><b>Catagénese ou fase de transição</b></p>	<p>Sensivelmente 1-2% dos folículos encontram-se na catagénese, onde entram num período de involução, no qual se verifica uma cessação da produção de melanina, uma redução significativa da proliferação e diferenciação dos queratinócitos na matriz do cabelo e o desenvolvimento da haste está completo. Durante este período de transição que dura apenas algumas semanas, o folículo sofre uma regressão provocada pelo aumento da apoptose celular, que leva à diminuição do seu diâmetro e à degeneração dos dois terços inferiores do folículo (69,71,74).</p>
<p><b>Telogénese ou fase de repouso</b></p>	<p>Os folículos entram em modo de repouso durante sensivelmente 8 meses (nos folículos capilares). Em qualquer momento, cerca de 10-15% dos folículos encontram-se na fase de telogénese, que se caracteriza principalmente pela ausência de produção pigmentar. A telogénese, apesar de ser tradicionalmente descrita como uma fase de relativa quiescência, hoje é reconhecida como uma fase muito ativa em termos de atividade genética, que se revelou muito importante no controlo do ciclo folicular (74,76).</p>
<p><b>Exogénese ou fase de queda</b></p>	<p>No final, a exogénese converge com a fase inicial da anagénese, ocorrendo a queda da haste capilar enquanto já há um novo folículo a ser formado (75).</p>

## 5.2 Pigmentação do cabelo

O processo de pigmentação nos folículos capilares é semelhante à pigmentação da pele. Porém, contrastando com a melanogénese contínua que se verifica nos melanócitos da epiderme, o processo de pigmentação dos folículos capilares restringe-se à fase anágena do ciclo folicular (69). Na transição da anagénese para a catagénese, a produção do pigmento é desativada através da retroalimentação negativa de algumas enzimas reguladoras deste processo, seguida da apoptose dos melanócitos foliculares (77).

As diferentes cores de cabelo dependem do equilíbrio das quantidades de eumelanina e feomelanina produzidas pelos melanócitos dos folículos capilares (75).

### 5.3 Canície

Os folículos capilares sofrem várias alterações com o passar dos anos, sendo que a mais óbvia é a canície ou despigmentação do cabelo, que acontece na maioria dos indivíduos, apesar de poder ocorrer em diferentes graus e surgir em diferentes fases da vida.

A reconstrução de unidades pigmentares do folículo capilar perfeitamente funcionais mantém-se durante os primeiros 10 ciclos, o que corresponde aproximadamente aos 40 anos de idade. Após este período, observa-se uma exaustão, regulada geneticamente, do sistema pigmentar de cada folículo, o que conduz à despigmentação capilar (78). Isto acontece independentemente do género, apesar de se observarem algumas diferenças clínicas: geralmente a perda da coloração nos cabelos inicia-se na área temporal nos homens, enquanto nas mulheres as primeiras zonas afetadas pelo aparecimento de cabelos brancos normalmente são a frontal e parietal (71,79).

Com o envelhecimento natural, a canície aparece tipicamente aos  $34 \pm 9,6$  anos,  $43,9 \pm 10,3$  anos e  $39 \pm 9$  anos em europeus, afro-americanos e asiáticos, respetivamente (79).

A despigmentação está relacionada com o declínio gradual da melanogénese devido à diminuição da atividade da tirosinase, à deficiente transferência de melanossomas dos melanócitos para os queratinócitos e à apoptose dos melanócitos foliculares (80,81).

Apesar desta perda de melanócitos no interior dos folículos, algumas células estaminais permanecem localizados no bolbo. Aqui são utilizadas para a regeneração cíclica da unidade pigmentar folicular, ao assegurarem a reposição de melanócitos diferenciados capazes de realizar a melanogénese, uma vez que estas células entram em apoptose aquando da catagénese (77,82). A presença destas células indiferenciadas revelou-se numa possibilidade de repigmentação dos folículos quando são submetidos a certas condições ou estímulos (40,48).

A principal causa da despigmentação capilar atribui-se à depleção do reservatório de células estaminais no folículo capilar. No entanto, é provável que os danos provocados à unidade pigmentar folicular causados pelos radicais livres de oxigénio também tenham um papel de destaque na perda da cor do cabelo (69).

### **5.3.1 Canície precoce**

A canície precoce define-se como o aparecimento de cabelos brancos antes dos 20 anos em europeus, 25 em asiáticos e 30 em africanos.

A regra dos 50 é uma regra antiga que dita que cerca de 50% da população tem 50% do cabelo branco ao atingir os 50 anos de idade (83). Porém, estudos mais recentes concluíram que esta percentagem é mais baixa: 6-23% da população global (variável com a etnia e cor natural do cabelo) apresentam 50% do cabelo branco aos 50 anos (84).

Estes casos devem ser avaliados pois podem constituir um sinal de outras patologias. Alguns exemplos de doenças associadas com a canície precoce são a osteopenia, disfunção renal, perda de audição, psoríase e vitiligo. A hereditariedade também é um fator a ter em conta no aparecimento de canície precoce (85).

### **5.3.2 ROS**

O papel das espécies reativas de oxigénio (ROS) é possivelmente o fator causal da despigmentação mais estudado. O processo de melanogénese envolve reações de hidroxilação e oxidação, resultando numa acumulação de stress oxidativo no interior dos folículos. As ROS são moléculas extremamente instáveis pois possuem eletrões livres e, por essa razão, facilmente se ligam a outras estruturas como proteínas, lípidos ou DNA (86).

A alteração da expressão genética de genes como Bcl-2, TRP1, TRP2, MITF e PAX3 pode ter como fator etiológico as ROS. Particularmente, o decréscimo que se verifica na expressão do gene Bcl-2, um dos principais genes envolvidos no controlo da apoptose celular, quando há um aumento de radicais livres, resulta numa taxa apoptótica dos melanócitos superior.(87)

O stress oxidativo pode ainda derivar de fatores extrínsecos como a radiação ultravioleta, poluição, tabagismo, fatores emocionais ou fenómenos inflamatórios (79,88).

Em condições normais, quando ocorre um aumento dos níveis de ROS, são ativados diversos mecanismos endógenos de defesa, enzimáticos ou não enzimáticos, que têm propriedades antioxidantes, sendo capazes de neutralizar os radicais livres. Contudo, com o envelhecimento observa-se um aumento da produção de ROS e, simultaneamente, uma redução da resposta defensiva do nosso organismo contra as ROS. Este desequilíbrio conduz ao dano progressivo de várias estruturas celulares, uma vez que a eliminação destes compostos tóxicos é menos eficaz (89). Assim, quando o dano celular é ao nível dos

melanócitos, o impacto destes radicais livres expressa-se através de uma diminuição na produção de melanina (90).

### **5.3.3 Soluções para a canície**

Apesar ter sido objetivo de estudo nos últimos anos e se verem avanços no conhecimento sobre a canície, o seu tratamento permanece limitado e inadequado.

As técnicas de camuflagem da despigmentação capilar ainda são as mais utilizadas como tratamento primário. Alguns suplementos alimentares que contêm vitaminas e minerais, nomeadamente biotina, pantotenato de cálcio, zinco, cobre e selénio têm sido prescritos, mas existe pouca evidência científica relativa à sua eficácia (91).

Ainda não existe nenhum tratamento permanente aprovado e a procura por um tratamento capaz de atrasar ou mesmo reverter a senescência do cabelo continua incessantemente (92).

#### **5.3.3.1 Tintas**

A coloração do cabelo remonta ao ano 1500 a.C. e já há muitos anos que se começaram a desenvolver tintas para o cabelo (75). No entanto, não existe nenhuma tinta no mercado que se mantenha durante um longo período em cabelos brancos (78).

Para além disso, as tintas estão associadas a dois tipos de fatores de risco: reações alérgicas e incidência de tumores. O facto de serem aplicadas diretamente na pele do couro cabeludo cria a possibilidade de ocorrerem reações de hipersensibilidade. Os compostos aromáticos presentes na sua composição, compostos estes que possuem capacidade mutagénica, levam à associação das tintas para o cabelo a um risco superior de desenvolver tumores (79).

## **5.4 Alterações da pigmentação capilar induzidas por fármacos**

Apesar de ser uma reação adversa pouco comum, alguns fármacos podem estar na origem de alterações da pigmentação capilar, podendo ir desde a despigmentação dos folículos até ao escurecimento ou mesmo mudança da cor dos cabelos. Estes fenómenos podem ocorrer apenas nos folículos do couro cabeludo e/ou nos folículos pilosos da superfície corporal.

Apesar da alteração pigmentar não ser um efeito secundário com consequências graves para a saúde, este evento pode ser determinante na qualidade de vida do paciente e na adesão à terapêutica (93).

#### **5.4.1 Cloroquina**

A cloroquina pertence à classe dos antimaláricos e o seu uso também está aprovado para o tratamento do lúpus e da artrite reumatóide.

Apesar de raros, existem alguns registos de despigmentação de cabelo, pestanas, sobrancelhas, barba e pêlos corporais causada pelo uso de cloroquina. Nestes casos, a despigmentação mostrou-se reversível quando o tratamento com cloroquina foi interrompido ou a dose foi diminuída. A substituição da cloroquina por hidroxicloroquina também revelou o retorno da pigmentação dos folículos à cor normal (94).

#### **5.4.2 Inibidores da Tirosina Cinase (TKI)**

A interação do recetor c-Kit com o fator de células estaminais (SCF) é um evento chave para a produção normal de melanina, uma vez que resulta na fosforilação do MITF (77).

Os TKI são fármacos que inibem a atividade do recetor c-Kit e são utilizados maioritariamente no combate de tumores e outras doenças crónicas proliferativas (93).

Um dos efeitos secundários que se observa com o uso de TKI é a alteração pigmentar de forma dependente da concentração. Algumas das moléculas com as quais que se verificou este fenómeno são o Imatinib, Sunitinib, Sorafenib, Pazopanib e Desatinib. No entanto, ainda não é clara a razão pela qual há relatos tanto de hipo- como hiperpigmentação. Na maioria dos casos, a despigmentação capilar causada por TKI é reversível após a descontinuação do tratamento, sugerindo que estes compostos provocam a disfunção temporária dos melanócitos mas descartando o efeito citotóxico (93).

## Conclusão

A pigmentação, tanto da pele como do cabelo, pode sofrer alterações ao longo da vida que podem estar relacionadas com inúmeros fatores, uns mais preocupantes que outros. Apesar destes distúrbios serem maioritariamente benignos, o impacto que eles causam na vida das pessoas é relevante e a busca pelas melhores soluções para combater estas situações é constante.

Os melanossomas são organelos específicos que se localizam no interior dos melanócitos cuja principal função é de produzir, armazenar e transportar melanina. Este pigmento biológico responsável pela pigmentação dos tecidos é sintetizado a partir do aminoácido tirosina que, através de reações de hidroxilação e oxidação catalizadas por enzimas chave neste processo, se pode converter em dois tipos de melanina: eumelanina e feomelanina. O equilíbrio da razão eumelanina/feomelanina é um fator determinante na cor da pele e do cabelo, estando a primeira associada a tons acastanhados mais escuros, enquanto a presença de feomelanina se relaciona com os tons mais próximos do amarelo ou vermelho.

O desenvolvimento dos melanossomas divide-se em 4 estádios de maturação, sendo que a melanogénese só se inicia no fim do estádio II, que marca a passagem de pré-melanossomas a melanossomas. Após a sua maturação, estes organelos intracelulares vão ser transportados até às extremidades das dendrites dos melanócitos, onde são depois transferidos para os queratinócitos. Existem 4 modelos possíveis de transferência intercelular dos melanossomas: citofagocitose, fusão, transferência de vesículas e exocitose/endocitose. Já nos queratinócitos, os melanossomas conferem cor à pele e migram até à zona perinuclear, onde assumem um papel protetor do núcleo, impedindo que a radiação o atinja e evitando a danificação do material genético. Este fenómeno é estimulado quando a radiação atinge os queratinócitos, que produzem agentes capazes de modular o processo de pigmentação.

A pigmentação da pele também pode apresentar algumas irregularidades. As alterações pigmentares têm diversas etiologias, variando desde o normal envelhecimento da pele até alterações de base patológica ou iatrogénica.

A pigmentação do cabelo ocorre de forma semelhante, no entanto está circunscrita à fase de crescimento do ciclo folicular: a anagénese.

Tal como acontece com a pele, o envelhecimento também está na origem de alterações pigmentares no cabelo, nomeadamente a sua despigmentação. As soluções para esta condição

estão constantemente em desenvolvimento e é uma área que tem vindo a ser estudada com vista a encontrar um tratamento capaz de reverter a despigmentação capilar. Porém, ainda não existe nenhuma alternativa no mercado que tenha a autorização para ser comercializada uma vez que a busca por uma opção segura e eficaz continua.

Existem ainda algumas lacunas no que se conhece do processo de pigmentação e é um assunto que está em constante evolução. São necessários mais estudos sobre a regulação da pigmentação de modo a encontrar novas alternativas terapêuticas para os distúrbios com que esta se relaciona.

A descoberta de tratamentos para estas condições virá melhorar bastante a qualidade de vida de muitos doentes que sofrem diariamente com estas alterações tão visíveis e que certamente influenciam a autoconfiança de quem lida com elas.

## Referências Bibliográficas

1. Joly-Tonetti N, Wibawa JID, Bell M, Tobin DJ. An explanation for the mysterious distribution of melanin in human skin: a rare example of asymmetric (melanin) organelle distribution during mitosis of basal layer progenitor keratinocytes. *Br J Dermatol.* 2018;179(5):1115–26.
2. Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol.* 1988;124(6):869–71.
3. Gupta V, Sharma VK. Skin typing: Fitzpatrick grading and others. *Clin Dermatol.* 2019;37(5):430–6.
4. Del Bino S, Duval C, Bernerd F. Clinical and biological characterization of skin pigmentation diversity and its consequences on UV impact. *Int J Mol Sci.* 2018;19(9):2668.
5. Ho BK, Robinson JK. Color bar tool for skin type self-identification: A cross-sectional study. *J Am Acad Dermatol.* 2015;73(2):312–3.
6. Maranduca MA, Branisteanu D, Serban DN, Branisteanu DC, Stoleriu G, Manolache N, et al. Synthesis and physiological implications of melanic pigments (review). *Oncol Lett.* 2019;17(5):4183–7.
7. Solano F. Melanins: Skin Pigments and Much More—Types, Structural Models, Biological Functions, and Formation Routes. *New J Sci.* 2014;2014:1–28.
8. Bonaventure J, Domingues MJ, Larue L. Cellular and molecular mechanisms controlling the migration of melanocytes and melanoma cells. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2013;26(3):316–25.
9. Panzella L, Ebato A, Napolitano A, Koike K. The late stages of melanogenesis: Exploring the chemical facets and the application opportunities. *Int J Mol Sci.* 2018;19(6):1753.
10. D’Alba L, Shawkey MD. Melanosomes: Biogenesis, properties, and evolution of an ancient organelle. *Physiol Rev.* 2019;99(1):1–19.
11. Ito S, Wakamatsu K. Quantitative analysis of eumelanin and pheomelanin in humans, mice, and other animals: A comparative review. *Pigment Cell Res.* 2003;16(5):523–31.

12. Junqueira, L. C.; Carneiro J. *Pele e Anexos*. In: *Histologia Básica - Texto e Atlas*. 12th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2013. p. 357–66.
13. Simon, John D.; Peles DN. The red and the black. *Acc Chem Res*. 2010;43(11):1452–60.
14. Solano F. Photoprotection and Skin Pigmentation: Melanin-Related Molecules and Some Other New Agents Obtained from Natural Sources. *Molecules*. 2020;25(7):1537.
15. Solano F. Photoprotection versus photodamage: updating an old but still unsolved controversy about melanin. *Polym Int*. 2016;65(11):1276–87.
16. Pilas B, Sarna T, Kalyanaraman B, Swartz HM. The effect of melanin on iron associated decomposition of hydrogen peroxide. *Free Radic Biol Med*. 1988;4(5):285–93.
17. Sitaram A, Marks MS. Mechanisms of protein delivery to melanosomes in pigment cells. *Physiology*. 2012;27(2):85–99.
18. Dell'Angelica EC. Melanosome biogenesis: Shedding light on the origin of an obscure organelle. *Trends Cell Biol*. 2003;13(10):503–6.
19. Kushimoto T, Valencia JC, Costin GE, Toyofuku K, Watabe H, Yasumoto KI, et al. The Seiji Memorial Lecture - The melanosome: An ideal model to study cellular differentiation. *Pigment Cell Res*. 2003;16(3):237–44.
20. Wasmeier C, Hume AN, Bolasco G, Seabra MC. Melanosomes at a glance. *J Cell Sci*. 2008;121(24):3995–9.
21. Curie I, Recherche C De, France F-. Melanosomes – dark organelles enlighten endosomal mem. *Nat Mol cell Biol*. 2009;8(10):786–97.
22. van Niel G, Bergam P, Di Cicco A, Hurbain I, Lo Cicero A, Dingli F, et al. Apolipoprotein E Regulates Amyloid Formation within Endosomes of Pigment Cells. *Cell Rep*. 2015;13(1):43–51.
23. Bissig C, Rochin L, van Niel G. PMEL amyloid fibril formation: The bright steps of pigmentation. *Int J Mol Sci*. 2016;17(9):1438.
24. Hurbain I, Geerts WJC, Boudier T, Marco S, Verkleij AJ, Marks MS, et al. Electron tomography of early melanosomes: Implications for melanogenesis and the generation of fibrillar amyloid sheets. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(50):19726–31.

25. Hara M, Yaar M, Byers HR, Goukassian D, Fine RE, Gonsalves J, et al. Kinesin participates in melanosomal movement along melanocyte dendrites. *J Invest Dermatol.* 2000;114(3):438–43.
26. Seabra MC, Coudrier E. Rab GTPases and myosin motors in organelle motility. *Traffic.* 2004;5(6):393–9.
27. Ohbayashi N, Fukuda M. Recent advances in understanding the molecular basis of melanogenesis in melanocytes. *F1000Research.* 2020;9(F1000 Faculty Rev):608.
28. Singh SK, Nizard C, Kurfurst R, Bonte F, Schnebert S, Tobin DJ. The silver locus product (Silv/gp100/Pmel17) as a new tool for the analysis of melanosome transfer in human melanocyte-keratinocyte co-culture. *Exp Dermatol.* 2008;17(5):418–26.
29. Van Den Bossche K, Naeyaert JM, Lambert J. The quest for the mechanism of melanin transfer. *Traffic.* 2006;7(7):769–78.
30. Scott G, Leopardi sonya, Printup S, Madden BC. Filopodia are conduits for melanosome transfer to keratinocytes. *J Cell Sci.* 2002;115(7):1441–51.
31. Wu X, Hammer JA. Melanosome transfer: It is best to give and receive. *Curr Opin Cell Biol.* 2014;29(1):1–7.
32. Ando H, Niki Y, Ito M, Akiyama K, Matsui MS, Yarosh DB, et al. Melanosomes are transferred from melanocytes to keratinocytes through the processes of packaging, release, uptake, and dispersion. *J Invest Dermatol.* 2012;132(4):1222–9.
33. Park HY, Kosmadaki M, Yaar M, Gilchrest BA. Cellular mechanisms regulating human melanogenesis. *Cell Mol Life Sci.* 2009;66(9):1493–506.
34. Yamaguchi Y, Hearing VJ. Physiological factors that regulate skin pigmentation. *BioFactors.* 2009;35(2):193–9.
35. Cicero A Lo, Delevoye C, Gilles-Marsens F, Loew D, Dingli F, Guéré C, et al. Exosomes released by keratinocytes modulate melanocyte pigmentation. *Nat Commun.* 2015;6:7506.
36. Simons M, Raposo G. Exosomes - vesicular carriers for intercellular communication. *Curr Opin Cell Biol.* 2009;21(4):575–81.
37. Nordlund JJ. The Melanocyte and the Epidermal Melanin Unit: An Expanded Concept. *Dermatol Clin.* 2007;25(3):271–81.

38. Scott G, Deng A, Rodriguez-Burford C, Seiberg M, Han R, Babiarz L, et al. Protease-activated receptor 2, a receptor involved in melanosome transfer, is upregulated in human skin by ultraviolet irradiation. *J Invest Dermatol.* 2001;117(6):1412–20.
39. Scott G, Leopardi S, Printup S, Malhi N, Seiberg M, LaPoint R. Proteinase-activated receptor-2 stimulates prostaglandin production in keratinocytes: Analysis of prostaglandin receptors on human melanocytes and effects of PGE2 and PGF2 $\alpha$  on melanocyte dendricity. *J Invest Dermatol.* 2004;122(5):1214–24.
40. Cardinali G, Ceccarelli S, Kovacs D, Aspite N, Lotti LV, Torrisi MR, et al. Keratinocyte growth factor promotes melanosome transfer to keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 2005;125(6):1190–9.
41. Rouzaud F, Costin G, Yamaguchi Y, Valencia JC, Berens WF, Chen KG, et al. Regulation of constitutive and UVR-induced skin pigmentation by melanocortin 1 receptor isoforms. *FASEB J.* 2006;20(11):1927–9.
42. Shin SY, Choi JH, Jung E, Gil HN, Lim Y, Lee YH. The EGR1–STAT3 Transcription Factor Axis Regulates  $\alpha$ -Melanocyte–Stimulating Hormone–Induced Tyrosinase Gene Transcription in Melanocytes. *J Invest Dermatol.* 2019;139(7):1616–9.
43. Serre C, Busuttill V, Botto JM. Intrinsic and extrinsic regulation of human skin melanogenesis and pigmentation. *Int J Cosmet Sci.* 2018;40(4):328–47.
44. Vachtenheim J, Borovanský J. “Transcription physiology” of pigment formation in melanocytes: Central role of MITF. *Exp Dermatol.* 2010;19(7):617–27.
45. Nicolaidou E, Katsambas AD. Pigmentation disorders: Hyperpigmentation and hypopigmentation. *Clin Dermatol.* 2014;32(1):66–72.
46. Armenta AM, Henkel ED, Ahmed AM. Pigmentation Disorders in the Elderly. *Drugs and Aging.* 2019;36(3):235–45.
47. Chung JH, Eun HC. Angiogenesis in skin aging and photoaging. *J Dermatol.* 2007;34(9):593–600.
48. Rittié L, Fisher GJ. Natural and sun-induced aging of human skin. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015;5(1):a015370.
49. Fradin MS, Ellis CN, Voorhees JJ. Efficacy of cyclosporin A in psoriasis: A summary of the United States’ experience. *Br J Dermatol.* 1990;122(36):21–5.

50. Shlivko IL, Petrova GA, Zor'kina M V., Tchekalkina OE, Firsova MS, Ellinsky DO, et al. Complex assessment of age-specific morphofunctional features of skin of different anatomic localizations. *Ski Res Technol.* 2013;19(1):85–92.
51. Handel AC, Miot LDB, Miot HA. Melasma: A clinical and epidemiological review. *An Bras Dermatol.* 2014;89(5):771–82.
52. Plensdorf S, Livieratos M, Dada N. Pigmentation Disorders: Diagnosis and Management. *Am Fam Physician.* 2017;96(12):797–804.
53. Kwon SH, Na JI, Choi JY, Park KC. Melasma: Updates and perspectives. *Exp Dermatol.* 2019;28(6):704–8.
54. Regazzetti C, Sormani L, Debayle D, Bernerd F, Tulic MK, De Donatis GM, et al. Melanocytes Sense Blue Light and Regulate Pigmentation through Opsin-3. *J Invest Dermatol.* 2018;138(1):171–8.
55. Ball Arefiev KL, Hantash BM. Advances in the treatment of melasma: A review of the recent literature. *Dermatologic Surg.* 2012;38(7):971–84.
56. Westerhof W, Kooyers TJ. Hydroquinone and its analogues in dermatology - a potential health risk. *J Cosmet Dermatol.* 2005;4(2):55–9.
57. Ferreira Cestari T, Hassun K, Sittart A, de Lourdes Viegas M. A comparison of triple combination cream and hydroquinone 4% cream for the treatment of moderate to severe facial melasma. *J Cosmet Dermatol.* 2007;6(1):36–9.
58. Sheu SL. Treatment of melasma using tranexamic acid: What's known and what's next. *Cutis.* 2018;101(2):E7–8.
59. Tse TW, Hui E. Tranexamic acid: An important adjuvant in the treatment of melasma. *J Cosmet Dermatol.* 2013;12(1):57–66.
60. Sarkar R, Arsiwala S, Dubey N, Al E. Chemical Peels in Melasma: A Review with Consensus Recommendations by Indian Pigmentary Expert Group. *Indian J Dermatol.* 2017;62(6):578–84.
61. Passeron T, Picardo M. Melasma, a photoaging disorder. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2018;31(4):461–5.
62. Dereure O. Drug-induced skin pigmentation. Epidemiology, diagnosis and treatment. *Am J Clin Dermatol.* *Am J Clin Dermatol.* 2001;2(4):253–62.

63. Krause W. Drug-induced hyperpigmentation: A systematic review. *JDDG - J Ger Soc Dermatology*. 2013;11(7):644–51.
64. Giménez García RM, Molina SC. Drug-induced hyperpigmentation: Review and case series. *J Am Board Fam Med*. 2019;32(4):628–38.
65. Kanwar AJ, Jaswal R, Thami GP, Bedi GK. Acquired Acromelanosis due to Phenytoin. *Dermatology*. 1997;194(4):373–4.
66. Sicari MC, Lebwohl M, Baral J, Wexler P, Gordon RE, Phelps RG. Photoinduced dermal pigmentation in patients taking tricyclic antidepressants: Histology, electron microscopy, and energy dispersive spectroscopy. *J Am Acad Dermatol*. 1999;40(2):290–3.
67. Soares MA, Santos D. Reações Adversas Cutâneas: Eritema fixo. *Guia Reações Adversas a Medicam*. 2011;19–21.
68. Leblond CP. Histological Structure of Hair, With a Brief Comparison To Other Epidermal Appendages and Epidermis Itself. *Ann N Y Acad Sci*. 1951;53(3):464–75.
69. Schneider MR, Schmidt-Ullrich R, Paus R. The Hair Follicle as a Dynamic Miniorgan. *Curr Biol*. 2009;19(3):R132–42.
70. Krause K, Foitzik K. Biology of the hair follicle: the basics. *Semin Cutan Med Surg*. 2006;25(1):2–10.
71. Buffoli B, Rinaldi F, Labanca M, Sorbellini E, Trink A, Guanziroli E, et al. The human hair: From anatomy to physiology. *Int J Dermatol*. 2014;53(3):331–41.
72. Kloepper JE, Sugawara K, Al-Nuaimi Y, Gáspár E, van Beek N, Paus R. Methods in hair research: how to objectively distinguish between anagen and catagen in human hair follicle organ culture. *Exp Dermatol*. 2010;19(3):305–12.
73. Tobin DJ, Gunin A, Magerl M, Handjiski B, Paus R. Plasticity and cytokinetic dynamics of the hair follicle mesenchyme: Implications for hair growth control. *J Invest Dermatol*. 2003;120(6):895–904.
74. Houshyar KS, Borrelli MR, Tapking C, Popp D, Puladi B, Ooms M, et al. Molecular Mechanisms of Hair Growth and Regeneration: Current Understanding and Novel Paradigms. *Dermatology*. 2020;236(4):271–80.
75. Park AM, Khan S, Rawnsley J. Hair Biology: Growth and Pigmentation. *Facial Plast*

- Surg Clin North Am. 2018;26(4):415–24.
76. Randall VA, Botchkareva N V. The Biology of Hair Growth. In: Ahluwalia GSBT-CA of L& L-BS, editor. Personal Care & Cosmetic Technology. Boston: William Andrew Publishing; 2009. p. 3–35.
  77. Slominski A, Wortsman J, Plonka PM, Schallreuter KU, Paus R, Tobin DJ. Hair follicle pigmentation. *J Invest Dermatol.* 2005;124(1):13–21.
  78. Van Neste D, Tobin DJ. Hair cycle and hair pigmentation: Dynamic interactions and changes associated with aging. *Micron.* 2004;35(3):193–200.
  79. Kaur K, Kaur R, Bala I. Therapeutics of premature hair graying: A long journey ahead. *J Cosmet Dermatol.* 2019;18(5):1206–14.
  80. Fernandez-Flores A, Saeb-Lima M, Cassarino DS. Histopathology of aging of the hair follicle. *J Cutan Pathol.* 2019;46(7):508–19.
  81. O’Sullivan JDB, Nicu C, Picard M, Chéret J, Bedogni B, Tobin DJ, et al. The biology of human hair greying. *Biol Rev.* 2020;
  82. Tobin DJ, Hagen E, Botchkarev VA, Paus R. Do Hair Bulb Melanocytes Undergo Apoptosis During Hair Follicle Regression (Catagen)? *J Invest Dermatol.* 1998;111(6):941–7.
  83. Keogh E V., Walsh RJ. © 1965 Nature Publishing Group. *Nat Publ Gr.* 1965;208(5007):239–41.
  84. Panhard S, Lozano I, Loussouarn G. Greying of the human hair: A worldwide survey, revisiting the “50” rule of thumb. *Br J Dermatol.* 2012;167(4):865–73.
  85. Mahendiratta S, Sarma P, Kaur H, Kaur S, Kaur H, Bansal S, et al. Premature graying of hair: Risk factors, co-morbid conditions, pharmacotherapy and reversal—A systematic review and meta-analysis. *Dermatol Ther.* 2020;e13990.
  86. Trüeb RM. Oxidative Stress in Aging of Hair. *Int J Trichology.* 2009;1(1):6–14.
  87. Lee JH, Fisher DE. Melanocyte stem cells as potential therapeutics in skin disorders. *Expert Opin Biol Ther.* 2014;14(11):1569–79.
  88. Arck PC, Overall R, Spatz K, Liezman C, Handjiski B, Klapp BF, et al. Towards a “free radical theory of graying”: melanocyte apoptosis in the aging human hair follicle is an indicator of oxidative stress induced tissue damage. *FASEB J.* 2006;20(9):1567–

- 9.
89. Trüeb RM. The impact of oxidative stress on hair. *Int J Cosmet Sci.* 2015;37(2):25–30.
90. Kumar AB, Shamim H, Nagaraju. Premature Graying of Hair: Review with Updates. *Int J Trichology.* 2018;10(5):198–203.
91. Pandhi D, Khanna D. Premature graying of hair. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2013;79(5):641–53.
92. Triwongwaranat D, Thuangtong R, Arunkajohnsak S. A review of the etiologies, clinical characteristics, and treatment of canities. *Int J Dermatol.* 2019;58(6):659–66.
93. Ricci F, De Simone C, Del Regno L, Peris K. Drug-induced hair colour changes. *Eur J Dermatology.* 2016;26(6):531–6.
94. Di Giacomo TB, Valente NYS, Nico MMS. Chloroquine - Induced hair depigmentation. *Lupus.* 2009;18(3):264–6.