

**A DETERMINAÇÃO DOS PADRÕES DA TOMOGRAFIA DE
COERÊNCIA ÓPTICA NOS NEVOS MELANOCÍTICOS E
MELANOMA CUTÂNEO E COMPARAÇÃO COM A
HISTOPATOLOGIA EM CORTES CONVENCIONAIS**

TATIANA CRISTINA MORAES PINTO BLUMETTI

**Tese apresentada à Fundação Antônio
Prudente para a obtenção do título de Doutor
em Ciências**

Área de Concentração: Oncologia

Orientadora: Dra Gisele Gargantini Rezze

São Paulo

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da Fundação Antônio Prudente

Blumetti, Tatiana Cristina Moraes Pinto

A determinação dos padrões da tomografia de coerência óptica nos nevos melanocíticos e melanoma cutâneo e comparação com a histopatologia em cortes convencionais / Tatiana Cristina Moraes Pinto

Blumetti – São Paulo 2017.

66p.

Tese (Doutorado)-Fundação Antônio Prudente.

Curso de Pós-Graduação em Ciências - Área de concentração:
Oncologia.

Orientadora: Gisele Gargantini Rezze

Descritores: 1. Neoplasias Cutâneas/Skin Neoplasms 2. Tomografia de Coerência Óptica/Tomography, Optical Coherence 3. Nevo Melanocítico/histopatologia/Nevus, Pigmented/histopathology 4. Melanomas/histopatologia/Melanoma/histopathology. 5. Microscopia Confocal/métodos/Microscopy, Confocal/methods.

DEDICATÓRIA

Ao meu filho **Giancarlo**, que traz ainda mais sentido à minha vida.

À minha filha **Caterina**, um presente de Deus no final deste trabalho.

Ao meu esposo Francesco, por me ajudar em todas as etapas deste estudo, direta e indiretamente, sempre me acompanhando, acalmando, cuidando dos nossos filhos ainda bebês. Não poderia ter melhor companheiro.

Ao meu pai José Antonio, que serve para mim como exemplo de amor à medicina e à família.

À minha mãe Maria Luisa, a pessoa que mais me incentiva e ajuda na busca de meus objetivos, por mais trabalhosos que sejam. Obrigada por cuidar com tanto carinho dos meus filhos.

Ao meu irmão **Bruno Luís Moraes Pinto** e “irmãs” **Ana Maria Camara Blumetti e Luciana Bernardon Ribeiro**, que participam de nossas vidas e conquistas.

Aos **meus sogros Leda e Egidio**, avós queridos, que sempre apoiam e participam de nossos projetos de vida.

AGRADECIMENTOS

À Professora Dra. Gisele Gargantini Rezze

“Uma pessoa realmente especial. Agradeço por tanto aprendizado sobre oncologia cutânea e diagnóstico por imagem e principalmente sobre a vida. Agradeço principalmente por acreditar em mim e por me receber sempre de braços abertos. Agradeço pelo incentivo constante e por todos os ensinamentos até hoje”.

À Dra Marcela Pecora Cohen

Pelo incentivo durante todo o projeto, e apoio imprescindível no início do estudo.

À Dra. Maria Dirlei Ferreira de Souza Begnami e ao Departamento de Anatomia Patológica do A.C. Camargo Cancer Center “Agradeço o apoio e a colaboração na realização desse projeto.”

À Dra. Mariana Petaccia de Macedo

“Por toda ajuda, pela disponibilidade, pelo coleguismo.”

Ao Dr. José Humberto Tavares Guerreiro Fregnani

“Por toda análise estatística do estudo, pelos ensinamentos e idéias durante todo o projeto”.

Ao Dr. João Pedreira Duprat

“Agradeço a oportunidade de participar de sua equipe e acreditar no meu trabalho.”

À querida amiga Juliana Casagrande Tavoloni Braga

“Pelo presente dessa nova e querida amizade. Pela parceria, companheirismo, disponibilidade, incentivo e ensinamentos.”

Aos meus amigos Elimar Gomes e Maurício Mendonça do Nascimento

“Ao companheirismo nessa jornada, à crescente proximidade durante esses quatro anos de estudo e amizade.

Às queridas amigas Dominique Vilarinho Sabbag, Salete da Ponte Nacif, Fernanda Romero e Camila Cazerta.

“Pela amizade sincera. Por estarem sempre presentes e participarem desta conquista.”

À todos os meus amigos do Núcleo de Câncer da Pele e Dermatologia do A.C. Camargo Cancer Center: Adriana Mendes, André Molina, Bianca Costa S. Sá, Eduard Brechtbühl, Eduardo Bertolli, Fernanda Berti Mendes, Fernando Parro, Ivana Lameiras, Juliana Areas, Marco Antônio de Oliveira, Mariane Campagnari e Raquel Castro pelo apoio profissional e

pela ajuda imprescindível na realização dessa pesquisa.

À toda equipe do Núcleo de Câncer da Pele do A.C. Camargo Cancer Center pelo auxílio na realização desse projeto.

Ao Prof. Dr. Fernando Augusto Soares, pelo excelente trabalho à frente da pós-graduação.

Às Sras. Ana Maria Kuninari, Luciana Pitombeira pelo suporte durante todo o curso de Pós-Graduação.

À Suely Francisco e Ana Carolina Scintini

“Pela estimada ajuda na formatação final da dissertação.”

Aos pacientes, pela compreensão e interesse pelo trabalho

Às pessoas que direta ou indiretamente auxiliaram no desenvolvimento e conclusão deste trabalho.

RESUMO

Blumetti TCMP. **A determinação dos padrões da tomografia de coerência óptica nos nevos melanocíticos e melanoma cutâneo e comparação com a histopatologia em cortes convencionais.** São Paulo; 2016. [Tese de Doutorado-Fundação Antônio Prudente].

Introdução: A tomografia de coerência óptica é uma técnica de diagnóstico por imagem em desenvolvimento para a análise de dermatoses inflamatórias e tumores cutâneos. Seu papel na avaliação de lesões melanocíticas e diferenciação entre nevos melanocíticos e melanoma ainda é preliminar.

Objetivo: Descrever os achados morfológicos dos nevos melanocíticos e melanoma observados no exame de tomografia de coerência óptica e estabelecer padrões diagnósticos que possam auxiliar na diferenciação de lesões malignas e benignas. Secundariamente, correlacionar os achados da tomografia de coerência óptica com os achados histopatológicos em cortes convencionais. **Métodos:** Em estudo preliminar foram avaliadas 39 lesões melanocíticas entre nevos e melanomas. As estruturas visualizadas na imagem de tomografia de coerência óptica foram comparadas às imagens de histopatologia. Após esta primeira análise, 4 observadores independentes, avaliaram 210 lesões melanocíticas provenientes de 3 diferentes centros de referência em oncologia cutânea (A.C.Camargo Cancer Center, São Paulo, Brasil, Melanoma Institute of Australia e University of Modena and Reggio Emilia). Foi realizada análise de concordância interobservadores, e análise independente dos critérios para diferenciação entre nevos melanocíticos e melanoma. **Resultados:** Onze critérios, sendo 4 novos foram utilizados para avaliação das imagens: cristas epidérmicas e suas deformidades (alongamento, alargamento, fusão, retificação), inversão do índice dermo-epidérmico, ninhos juncionais, sombras, “icicle-shaped structures”, colágeno e banda hiporreflexa. Concordâncias interobservador acima de moderada ($\kappa \geq 0,41$) foram

encontradas em sua maioria nos critérios localizados na junção dermo-epidérmica e derme. Na comparação entre nevos e melanoma, a ausência de visualização do colágeno aumentou o risco de melanoma em 4,3 vezes (IC 95%: 2,1- 9,0), enquanto a ausência de ninhos juncionais aumentou em 3,3 vezes (IC 95%: 1,3-7,9). A combinação destes dois critérios resultou no diagnóstico de melanoma em 75% das vezes. **Discussão:** Este estudo mostrou ser possível a detecção de alterações arquiteturais na OCT que podem levar à suspeita de melanoma. A técnica exige treinamento e ganho de experiência. **Conclusões:** Foi possível caracterizar quatro novas estruturas em lesões melanocíticas (retificação da epiderme, inversão do índice dermo-epidérmico, sombras e banda hiporreflexa), e duas mostraram ser importantes na diferenciação entre nevos e melanoma.

SUMMARY

Blumetti TCMP. [The description of patterns of melanocytic nevi and cutaneous melanoma on optical coherence tomography and comparison with conventional histopathology]. São Paulo; 2017. [Tese de Doutorado-Fundação Antônio Prudente].

Introduction: Optical coherence tomography (OCT) is a diagnostic imaging technique under development for the evaluation of inflammatory dermatosis and cutaneous tumors. The role of OCT in the evaluation of melanocytic lesions is preliminary and its ability to differentiate between melanocytic nevi and melanoma is still unclear. **Purpose:** To describe the morphological findings of melanocytic nevi and melanoma observed through OCT and to establish diagnostic standards that may aid in the differentiation of malignant and benign lesions. As a secondary objective, to correlate findings of optical coherence tomography with conventional histopathology. **Methods:** In a preliminary study 39 melanocytic lesions (nevi and melanomas) were studied. These lesions were selected for OCT evaluation and were compared to histopathological images. Following the first analysis, 4 independent observers evaluated 210 images of melanocytic lesions from 3 different centers in cutaneous oncology (A.C.Camargo Cancer Center, São Paulo, Brazil, Melanoma Institute of Australia and University of Modena and Reggio Emilia). Statistical analysis was performed to obtain interobserver agreement and independent analysis of criteria for differentiation between melanocytic nevi and melanoma. **Results:** Eleven criteria, from which four were newly described, were used to evaluate the images: rete ridges and their deformities (elongation, enlargement, fusion, rectification); inversion of the dermoepidermal index, junctional nests, shadows, “icicle-shaped structures”, collagen and hyporeflective band. Interobserver agreement above moderate ($\kappa \geq 0.4$) was found mostly for criteria related to the dermoepidermal junction and dermis. In comparison between nevi and melanoma, the loss of

collagen visualization increased the risk of melanoma by 4.3 times (95% CI: 2.1- 9.0) and the absence of junctional nests in 3.3 times (95% CI: 1.3-7.9). The combination of these two criteria lead to the diagnosis of melanoma in 75% of cases. **Discussion:** This study showed that it is possible to detect architectural changes in OCT that could lead to a suspicion of melanoma. This technique requires additional training and expertise. **Conclusion:** Four new structures were described (epidermis rectification, loss of normal dermoepidermal index, shadows e hyporeflective band) in melanocytic lesions, and two of them were found to be important in differentiating nevi from melanoma.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Exemplos de nevos comuns à dermatoscopia.....	4
Figura 2	Melanoma cutâneo: dermatoscopia.....	5
Figura 3	Dermatoscopia de nevos displásicos.....	5
Figura 4	Imagens do exame de microscopia confocal.....	7
Figura 5	Imagem de ultrassonografia de alta frequência do melanoma.	9
Figura 6	Gráfico ilustrando posição referente à resolução e profundidade de diferentes técnicas de diagnóstico de lesões cutâneas na pele.....	9
Figura 7	Princípios da Tomografia de Coerência Óptica-OCT.....	11
Figura 8	Tomografia de Coerência Óptica; aparelho, probe com adaptador e posicionamento na pele.....	12
Figura 9	Imagem da tomografia de coerência óptica nas diferentes camadas da pele.....	13
Figura 10	Carcinoma basocelular superficial na OCT.....	16
Figura 11	Pele normal. Imagem comparativa da tomografia de coerência óptica com a histologia	18
Figura 12	OCT nas lesões melanocíticas benignas	20
Figura 13	OCT na avaliação do melanoma	21
Figura 14	Nevo composto.....	48
Figura 15	Nevo juncional.....	49
Figura 16	Imagem de tomografia de coerência óptica de melanoma extensivo superficial, Breslow 0,56mm.....	50

Figura 17	Imagem de tomografia de coerência óptica de melanoma extensivo superficial, Breslow 0,8mm.....	51
Figura 18	Imagem de tomografia de coerência óptica de exemplo de pele normal e melanoma.....	54
Figura 19	Melanoma <i>in situ</i>	55
Figura 20	Nevo composto, padrão congênito.....	56
Figura 21	Nevo composto, padrão congênito.....	57
Figura 22	Melanoma <i>in situ</i>	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Distribuição dos Casos.....	33
Tabela 2	Resultados estatísticos de valores de Kappa para análise 2 a 2 e análise entre todos os observadores das estruturas avaliadas no estudo das 210 lesões.....	34
Tabela 3	Avaliação dos observadores na diferenciação entre Melanoma e Nevos.....	36
Tabela 4	Avaliação das estruturas observadas (presentes) na imagem de OCT e diagnóstico histopatológico (Observador 1).....	39
Tabela 5	Fatores de risco independentes para melanoma.....	43
Tabela 6	Fatores de Risco Independentes para Melanoma Invasivo.....	43
Tabela 7	Fatores de risco independentes para melanoma.....	43
Tabela 8	Fatores de risco independentes para nevos compostos.....	44
Tabela 9	Modelo preditivo do diagnóstico de melanoma de acordo com fatores de risco independentes indentificados na análise multivariada.....	44

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

H&E	Hematoxilina e eoxina
IC	Intervalo de confiança
ICICLES	“Icicle-shaped structures”
INCA	Instituto Nacional do Câncer
JDE	Junção dermo-epidérmica
OCT	Optical Coherence Tomography – Tomografia de Coerência Óptica
OR	<i>Odds ratio</i>

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	A dermatoscopia	2
1.2	A microscopia confocal	6
1.3	A ultrassonografia de alta frequência	8
1.4	Tomografia de Coerência Óptica (TCO).....	10
1.4.1	Obtenção das imagens pela tomografia de coerência óptica.....	11
1.4.2	O uso da tomografia de coerência óptica na dermatologia	13
1.4.3	A tomografia de coerência óptica na dermatologia	15
1.4.4	A tomografia de coerência óptica da pele normal	17
1.4.5	A tomografia de coerência óptica nas lesões melanocíticas	19
1.5	Justificativa	22
2	OBJETIVOS	23
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1	Material	24
3.1.1	Crítérios de Inclusão	25
3.1.2	Crítérios de Exclusão.....	25
3.1.3	População do Estudo.....	25
3.1.3.1	Centro A.C.Camargo Cancer Center	25
3.1.3.2	Outros centros	26
4	METODOLOGIA.....	27
4.1	Documentação clínica e dermatoscópica	27
4.1.1	Centro A.C.Camargo Cancer Center	27
4.2	Tomografia de Coerência Óptica.....	27
4.3	Exame Histopatológico	28
4.3.1	Centro A.C.Camargo Cancer Center.....	28
4.4	Características dos avaliadores.....	29
4.5	Treinamento dos avaliadores	29
4.6	Análise dos casos.....	30
4.7	Análise estatística dos resultados	30

5	RESULTADOS	32
5.1	Concordância entre observadores.....	33
5.2	Diferenciação entre nevos e melanoma: análise univariada	35
5.3	Correlação entre estruturas <i>versus</i> nevos e melanoma	37
5.3.1	Cristas epidérmicas	37
5.3.2	Junção dermo-epidérmica	37
5.3.3	Derme	38
5.4	Análise multivariada: diferenciação entre nevos e melanoma.....	41
5.4.1	Ninhos juncionais.....	41
5.4.2	Visualização de Colágeno na derme	41
5.4.3	Banda hiporreflexa.....	42
5.4.4	Índice dermo-epidérmico e alargamento de cristas.....	42
6	DISCUSSÃO	44
7	CONCLUSÃO.....	62
8	REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICAS	63

ANEXOS

- Anexo 1** Carta de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa-CEP
- Anexo 2** Carta de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa-CEP-
Alteração do título

APÊNDICES

- Apêndice 1** Termo de consentimento livre e esclarecido
- Apêndice 2** Tutorial para estudo interobservador
- Apêndice 3** Artigo publicado 1
- Apêndice 4** Artigo publicado 2
- Apêndice 5** Figuras descritivas de estruturas observadas na tomografia de
coerência ótica
- Apêndice 6** Estruturas na OCT

1 INTRODUÇÃO

O melanoma cutâneo é uma neoplasia que origina-se dos melanócitos localizados na camada basal da epiderme e é considerado um importante problema de saúde pública mundial (RIGEL et al. 2010). Atualmente, enquanto a incidência de muitos tipos de tumores vem diminuindo, a do melanoma continua a crescer. Nos Estados Unidos, o crescimento médio da incidência foi de 4,6% no período entre 1975 e 1985 e de 1,4% no período entre 1993 e 2013 (RIGEL et al. 2010; National Cancer Institute-NCI 2016). No Brasil, as estatísticas mais recentes do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA) estimaram uma incidência de 5670 casos novos de melanoma em 2016 e 1547 mortes pela doença em 2013 (Ministério da Saúde 2016). A Austrália apresenta um dos maiores números mundiais, com uma estimativa de 13.283 novos casos no ano de 2016, com 1774 mortes no mesmo período. Apesar dos avanços crescentes no diagnóstico precoce e tratamento, o melanoma ainda é responsável por 3.8% das mortes por câncer na Austrália (Cancer Australia 2016).

Esta neoplasia acomete indivíduos jovens e apresenta comportamento agressivo. Apesar do grande avanço na terapia da doença avançada, a sobrevida dos pacientes com melanoma cutâneo mantém-se diretamente relacionada ao estágio da doença no diagnóstico e depende principalmente da profundidade da lesão na pele, atualmente mensurada

pelo índice de Breslow (National Comprehensive Cancer Network-NCCN 2016).

Dentro deste contexto, o diagnóstico precoce do melanoma ocorre na avaliação dermatológica de lesões pigmentadas suspeitas. O exame clínico e o uso da regra do ABCDE (assimetria, bordas, cor, diâmetro e evolução), proporcionam uma sensibilidade no diagnóstico entre 57 e 90%, com especificidade semelhante a depender do treinamento do examinador e a alteração em um dos critérios presente na lesão suspeita (THOMAS et al. 1998). Apesar da introdução da regra do ABCDE ter trazido excelentes resultados na detecção precoce do melanoma, esta leva o examinador à exérese de grande quantidade de lesões pigmentadas benignas, entre nevos melanocíticos displásicos e tumores não melanocíticos benignos. Nos anos 90, a dermatoscopia (exame realizado através de uma lente de aumento acoplada a uma fonte de luz) foi adotada por médicos dermatologistas e aumenta sensivelmente a acurácia no diagnóstico de lesões pigmentadas suspeitas. Quando realizada por examinador experiente, a dermatoscopia é instrumento útil no diagnóstico diferencial de lesões benignas e malignas da pele (PEHAMBERGER et al. 1993).

1.1 A DERMATOSCOPIA

A dermatoscopia, também chamada de microscopia de superfície, dermoscopia ou ainda, microscopia de epiluminescência, é um método para visualização das estruturas da pele localizadas abaixo do estrato córneo. O

exame consiste na colocação de uma lente de aumento (com aumento de 10 vezes) com fonte luminosa em contato direto (luz não polarizada) ou próximo a pele (luz polarizada) sobre a lesão de interesse. A dermatoscopia apresenta sua principal indicação no estabelecimento do diagnóstico diferencial das lesões pigmentadas da pele, visando o diagnóstico do melanoma cutâneo nas fases iniciais de evolução e infiltração.

As estruturas e cores visualizadas à dermatoscopia avaliadas isoladamente e em conjunto fornecem informações que auxiliam na distinção entre as lesões pigmentadas da pele, inclusive possibilitando a diferenciação quanto a sua origem (melanocítica e não melanocítica) e suspeita de malignidade (PEHAMBERGER et al.1987).

Há uma série de critérios já bem descritos e pré-estabelecidos na literatura para análise de lesões melanocíticas, onde, com a avaliação de um examinador experiente, há possibilidade de atingirmos alta sensibilidade e especificidade no diagnóstico de melanoma (KITTLER et al. 2002).

O método de análise de padrões é um dos métodos de maior sensibilidade e especificidade no diagnóstico do melanoma cutâneo. É o método mais utilizado entre os dermatologistas mais experientes em dermatoscopia. Este método qualitativo baseia-se na avaliação de estruturas presentes em lesões melanocíticas com distribuição global (critérios globais ou padrões) e critérios locais (estruturas encontradas e sua distribuição sobre a lesão) (ARGENZIANO et al. 2003).

Enquanto os nevos comuns tendem a apresentar homogeneidade, simetria e ausência de estruturas suspeitas de melanoma, os melanomas

geralmente apresentam-se heterogêneos, assimétricos e com estruturas normalmente não visualizadas em lesões benignas (MARGHOOB et al. 2007) (Figuras 1 e 2).

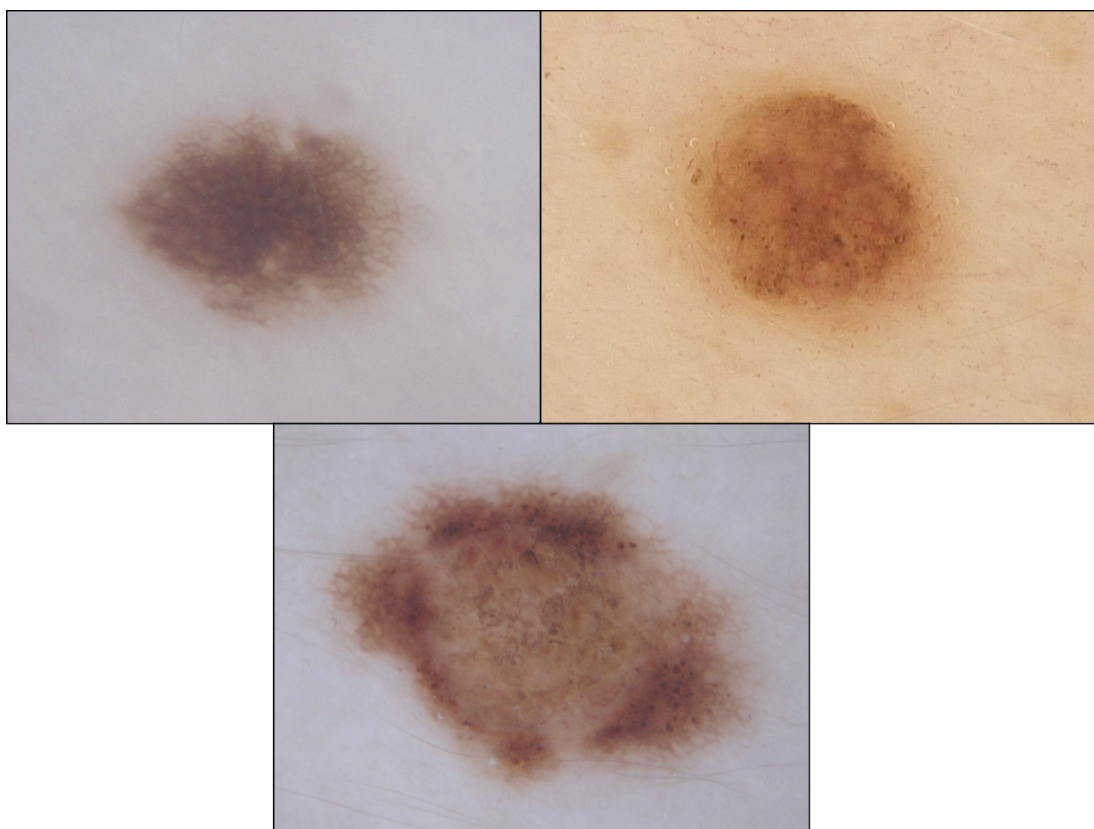


Figura 1 - Exemplos de nevos comuns à dermatoscopia. Apresentam-se como lesões pequenas (<5mm), simétricas, com bordos regulares e uma ou duas cores ou estruturas.

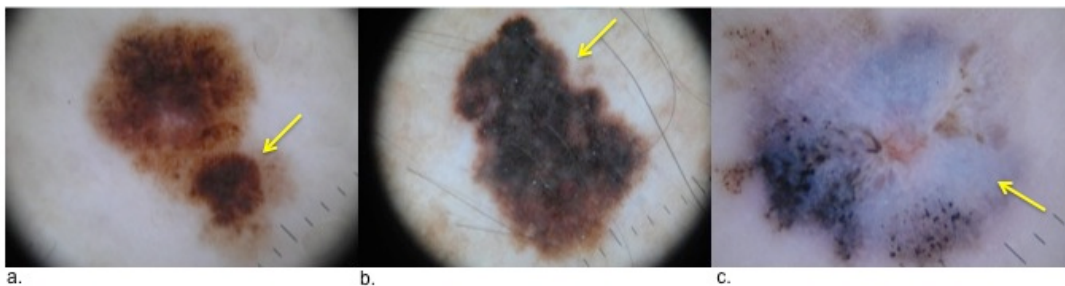


Figura 2 - Melanoma cutâneo: dermatoscopia. Nota-se a presença de mais de uma das estruturas em cada uma das lesões. a.: rede pigmentar irregular, atípica, área de hiperpigmentação (“blotch” ou borrão) distribuída assimetricamente (seta). b.: múltiplas cores, rede pigmentar irregular, assimetria de bordas (seta). c.: pontos azul-acinzentados distribuídos irregularmente, área de despigmentação, véu azul-esbranquiçado (seta).

Já os nevos atípicos ou displásicos são nevos melanocíticos benignos que podem apresentar estruturas suspeitas de melanoma à dermatoscopia, podem representar um grande desafio ao dermatologista. (Figura 3).

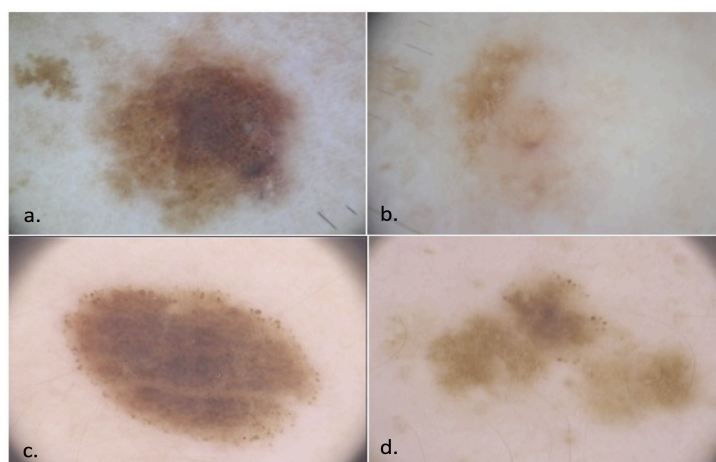


Figura 3 - Dermatoscopia dos nevos displásicos. Exemplos de nevos displásicos que apresentam estruturas dermatoscópicas que são geralmente encontradas na dermatoscopia do melanoma. a. Múltiplas cores, pigmentação irregularmente distribuída por toda a lesão. b. Pigmentação irregularmente distribuída, área de hipopigmentação periférica, assimetria de estruturas, mais do que duas estruturas (rede pigmentar, glóbulos e áreas sem estrutura). c. Glóbulos distribuídos assimetricamente na lesão, áreas sem estrutura. d. Assimetria, glóbulos distribuídos assimetricamente pela lesão, múltiplas cores (múltiplos tons de marrom), múltiplas estruturas.

A existência de limitações do exame dermatoscópico na realização do diagnóstico de lesões benignas com aspecto dermatoscópico sugestivo de melanoma cutâneo e de lesões de melanoma cutâneo com ausência de características dermatoscópicas específicas, levou à necessidade do desenvolvimento de novas técnicas de diagnóstico por imagem à fim de aumentar a acurácia no diagnóstico do melanoma e consequentemente reduzir custos e morbidade pela exérese desnecessária de lesões benignas. Neste contexto, a microscopia confocal a laser, a ultrassonografia e a tomografia de coerência óptica, entre outras técnicas de diagnóstico estão constantemente sendo desenvolvidas e aprimoradas. Neste campo destaca-se a microscopia confocal, que trouxe grande avanço no diagnóstico diferencial destas lesões.

1.2 A MICROSCOPIA CONFOCAL

A microscopia confocal trata-se de um exame não invasivo a laser com alta resolução capaz de produzir imagens em tempo real com alta definição (da ordem de $1\mu\text{m}$), possibilitando a avaliação das estruturas mais superficiais da pele. A microscopia confocal trouxe avanço na avaliação de lesões duvidosas à dermatoscopia e já mostrou-se eficaz em reduzir o número de exéreses desnecessárias de lesões benignas (PELLACANI et al. 2014). Apesar dos benefícios desta tecnologia, sua execução é de longa duração (10 a 20 minutos) e necessita de examinadores treinados e experientes com a técnica. Uma outra limitação consiste na dificuldade de

avaliação de planos mais profundos da pele, pois o aparelho atinge uma profundidade de até 350 μ m, o que geralmente representa a avaliação máxima da derme papilar na maioria das topografias do tegumento (Figura 4).

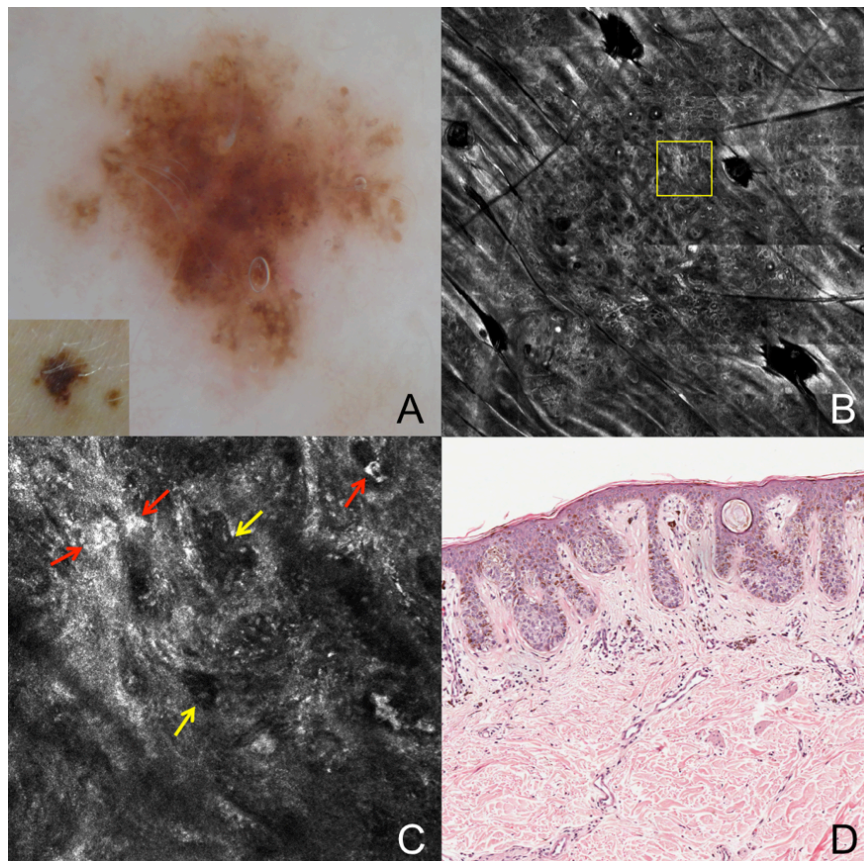
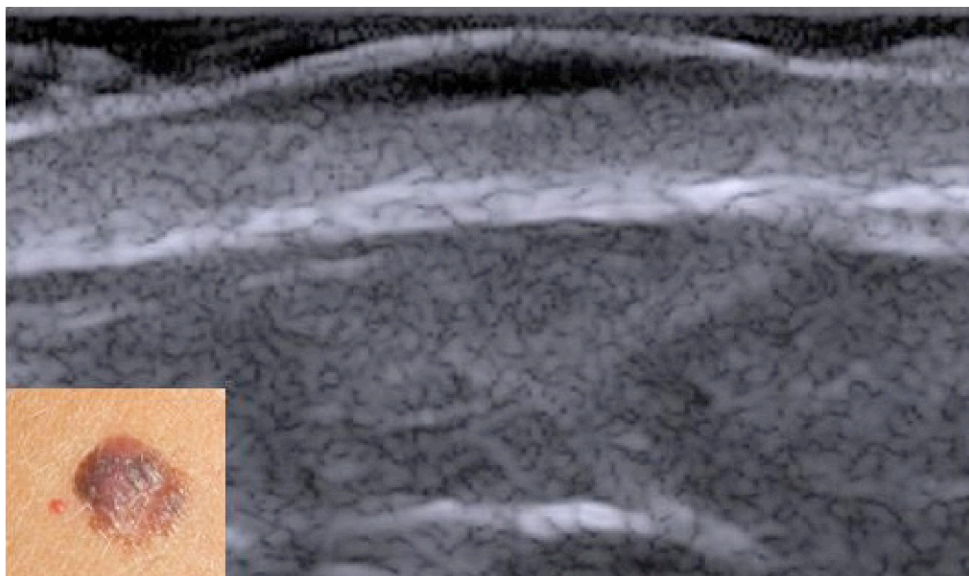


Figura 4 - Imagens do exame de microscopia confocal. A. Fotos clínica e dermatoscópica e histopatologia (D.). Nas imagens B e C é possível identificar estruturas com definição celular (setas vermelhas indicam células brilhantes que correspondem à melanócitos atípicos na junção dermo-epidérmica e setas amarelas indicam papilas não demarcadas) e desarranjo arquitetural da lesão.

1.3 A ULTRASSONOGRAFIA DE ALTA FREQUÊNCIA

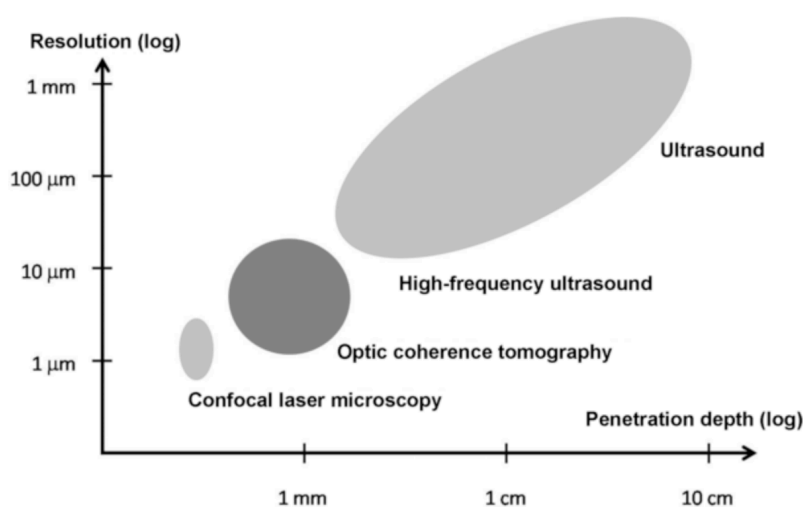
O uso da ultrassonografia de alta frequência na pele foi inicialmente estudado por ALEXANDER e MILLER (1979). Trata-se de um exame não invasivo para o qual utiliza-se um aparelho emissor de ondas ultrassônicas que quando retornam são processadas e produzem uma imagem em preto e branco com resolução da ordem de 80 μm no plano axial 200 μm no plano lateral, com penetração em planos profundos de até 10mm (SCHMITZ et al. 2013).

Até o momento, os aparelhos têm sido modernizados, porém existem poucos estudos em lesões melanocíticas com esta tecnologia. Os estudos mais recentes indicam a utilização do ultrassom de alta frequência para avaliação de planos profundos de tumores melanocíticos e não melanocíticos, com a vantagem de ser um exame rápido, porém incapaz de diferenciar tumores melanocíticos de não melanocíticos devido ao fato de não apresentar definição celular (ANDRÉKUTÉ et al. 2016). Ainda como importantes limitantes para a técnica, vale ressaltar a dificuldade em visualizar a epiderme pela grande presença de ecos de ultrassom presentes em lesões melanocíticas (Figuras 5 e 6).



Fonte: BARCAUI et al. (2016).

Figura 5 - Imagem de ultrassonografia de alta frequência do melanoma. Presença de lesão fusiforme, hipoeecogênica, bem delimitada, localizada na derme.



Fonte: SCHMITZ et al. (2013).

Figura 6 - Gráfico ilustrando posição referente à resolução e capacidade de avaliação de planos da pele de diferentes técnicas de diagnóstico de lesões cutâneas na pele.

1.4 TOMOGRAFIA DE COERÊNCIA ÓPTICA (TCO)

A tomografia de coerência óptica (*Optical Coherence Tomography-OCT*) é uma técnica de diagnóstico por imagem emergente que fornece imagens da morfologia dos tecidos biológicos *in vivo* e em tempo real com micro resolução. Com esta tecnologia pode-se alcançar uma profundidade de 1000-2000 μ m, dependendo do índice de refração e da propriedade de dispersão do tecido examinado (GAMBICHLER et al. 2007).

Este método de imagem foi desenvolvido inicialmente para a investigação dos tecidos do olho humano, baseado no princípio da interferometria de Michelson e tem funcionamento análogo ao ultrassom. Porém, os pulsos de ultrassom são substituídos por uma fonte de luz com comprimento de onda de baixa coerência, próxima ao infravermelho (HUANG et al. 1991). A luz é dividida em dois feixes pelo interferômetro. Um feixe vai em direção a um espelho (feixe referência) e o outro incide sobre a pele (feixe amostral). O interferômetro compara o sinal proveniente da amostra com o sinal referência e o processamento matemático das diferenças resulta em uma imagem de alta qualidade com resolução espacial de aproximadamente 10 a 15 μ m e a penetração de poucos milímetros (máximo 2mm). Este sistema óptico permite a obtenção de imagens perpendiculares em relação à superfície cutânea, semelhantes à histologia, assim como a construção de imagens tridimensionais (THOMAS et al. 2007). (Figura 7).

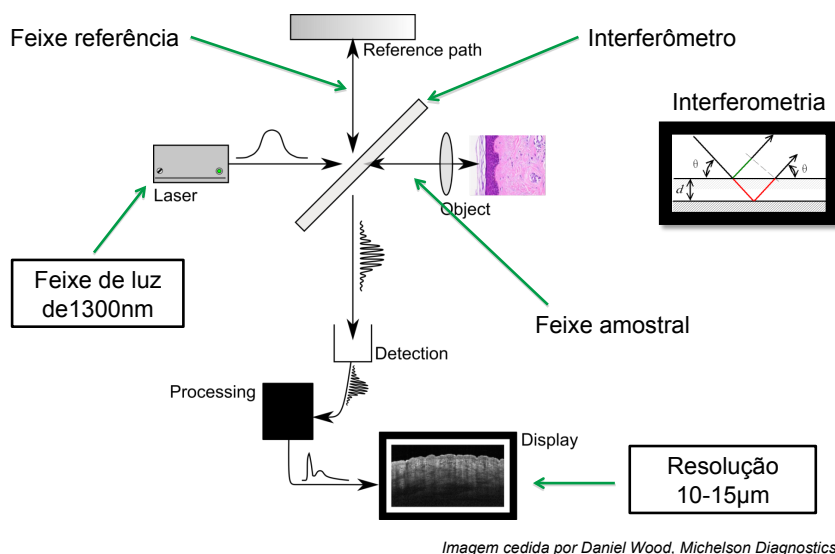


Figura 7 - Princípios da Tomografia de Coerência Óptica-OCT

1.4.1 Obtenção das imagens pela tomografia de coerência óptica

O exame de tomografia de coerência óptica consiste no adequado posicionamento do paciente (sentado ou deitado, de modo que seja possível o acesso à lesão de interesse pelo examinador, semelhante ao exame dermatoscópico) seguido do contato de um probe com a região ou lesão de interesse na pele. Adapta-se um espaçador entre a pele e o probe, que corrige a diferença entre a altura da pele e a área de cobertura do feixe do laser (Figura 8). Este “posicionamento” da lesão a ser submetida à OCT é facilmente obtido por um modo do aparelho chamado “FREERUN”, no qual a imagem da lesão aparece no monitor em tempo real. Após o posicionamento correto ativa-se o modo de gravação através de um pedal e o computador passa a registrar uma sequência de imagens que pode ser de 60, 120 ou 500 cortes longitudinais da lesão. A captura habitual resulta em 60 imagens

é chamada de “MULT1”, e as imagens obtidas são cortes seqüenciais da pele em preto e branco com diâmetro de 6mm de largura por 2mm de profundidade com uma resolução de 10-15 μ m. Outra opção de captura chama-se “MULT2”; 500 imagens seqüenciais de corte da pele são obtidos de uma área de 2mm de largura por 2mm de profundidade. As imagens obtidas em MULT2 podem ser utilizadas para a construção de imagens 3D por um software adicional.

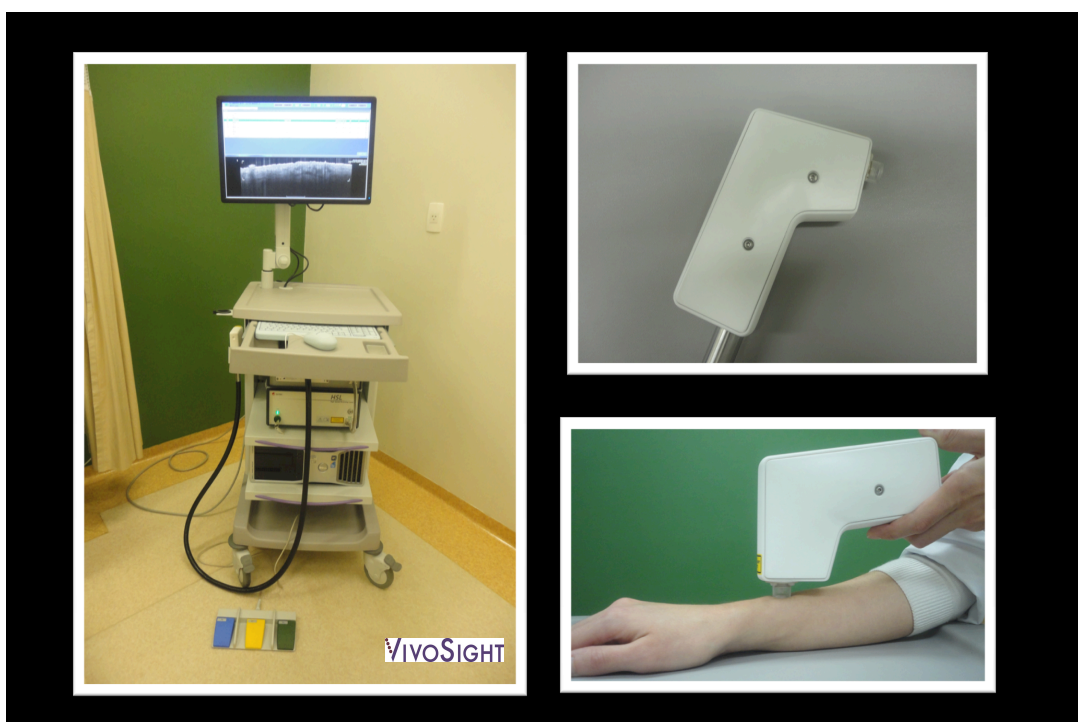


Figura 8 - Tomografia de Coerência Óptica; aparelho, probe com adaptador e posicionamento na pele (VivoSight® (Michelson Diagnostics, Orpington, Kent, Inglaterra))

As imagens obtidas são em preto e branco e a variação de densidade e reflexividade das diferentes estruturas e camadas da pele possibilita a

diferenciação entre elas. As diferentes estruturas da pele são classificadas como hiperreflexas (mais brancas) como o queratinócito, o colágeno e a queratina, hiporreflexas (mais escuras) como as células da camada basal, o sangue, a queratina lamelar e as células queratinizadas e arreflexas como os fluidos e o ar. (Figura 9).

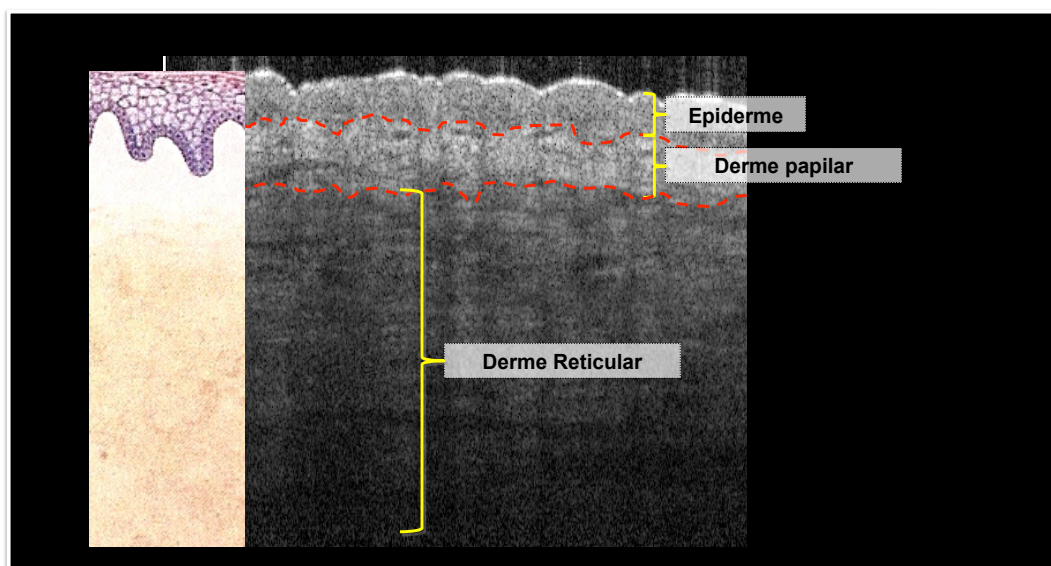


Figura 9 - Imagem da tomografia de coerência óptica nas diferentes camadas da pele.

1.4.2 Vantagens do uso da tomografia de coerência óptica na dermatologia

Em 2000, GLADKOVA et al. enumeraram as principais razões para a utilização da tomografia de coerência óptica na prática clínica. São elas:

Fornecer imagens da superfície cutânea com resolução espacial de 10-15 μ m, sendo maior do que qualquer outro método diagnóstico não invasivo.

A profundidade pode chegar a 1,5-2,0 mm, sendo suficiente para examinar todas as camadas da pele na maior parte do tegumento.

As imagens são *in vivo* em tempo real e mostram não só a estrutura como também as características específicas dos tecidos.

É um método rápido, não invasivo, não causa traumas ou outros efeitos não desejados pelas características da luz emitida.

A tomografia de coerência óptica pode avaliar rapidamente a pele saudável e patológica de um mesmo paciente, permitindo a comparação imediata.

Permite avaliar regiões da pele consideradas de difícil acesso e da região palmo-plantar, ao contrário da microscopia confocal *in vivo* (profundidade máxima de 350µm).

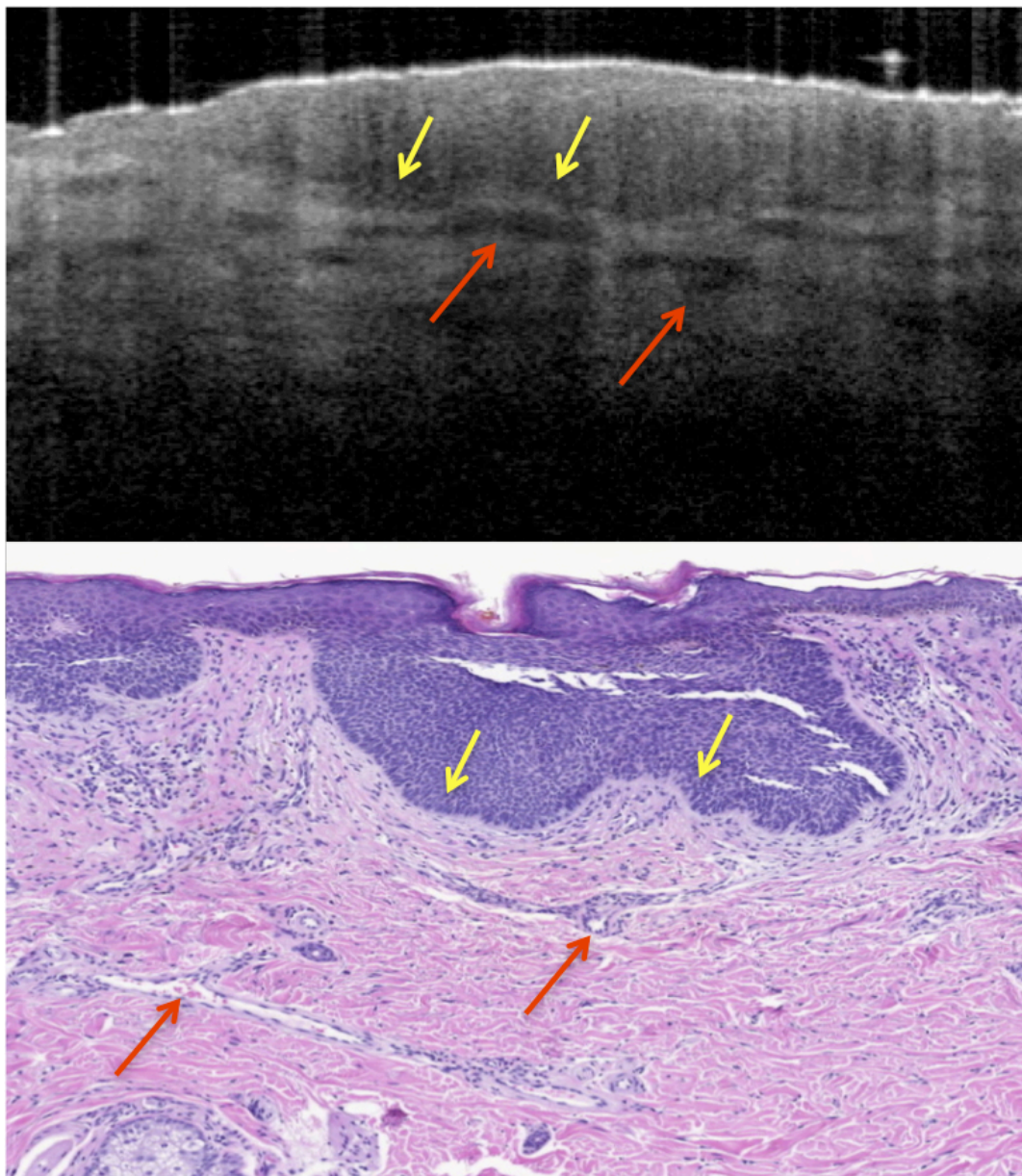
A rapidez da obtenção das imagens permite minimizar os erros decorrentes dos movimentos involuntários dos pacientes e do examinador.

O aparelho permite o processamento e o armazenamento das imagens no computador para posterior avaliação.

O aparelho é de fácil manuseio, rápida execução (a captação de uma sequência de 60 imagens – Mult1 é feita em aproximadamente 10 segundos) sendo conveniente para o uso na prática diária.

1.4.3 A tomografia de coerência óptica na dermatologia

Na dermatologia, a OCT constitui uma técnica recente. Os primeiros relatos de literatura com a técnica ocorreram há pouco mais de 10 anos. Os estudos de OCT estão principalmente concentrados em tumores malignos da pele e lesões pré-cancerosas como as queratoses actínicas e doenças inflamatórias da pele (GAMBICHLER et al. 2011). A OCT vem mostrando-se de grande utilidade no estudo dos danos actínicos da pele e no carcinoma basocelular (WASSEF et al. 2013). No diagnóstico de ceratoses actínicas, alguns estudos mostram sensibilidade e especificidade de 86 e 84%, contra 98 e 62% no exame clínico (KORDE et al. 2007). Nos carcinomas basocelulares, relatos da literatura já descrevem estruturas encontradas na imagem de OCT com boa correlação com histopatologia (GOMES et al. 2013), com relevante potencial no auxílio da avaliação de margens em tumores mal delimitados, no seguimento de tratamentos não cirúrgicos e avaliação pré- operatória da cirurgia micrográfica de Mohs (COLEMAN et al. 2014). (Figura 10).



Fonte: GOMES et al. (2013).

Figura 10 - Carcinoma basocelular superficial na OCT. Na histologia, observa-se a proliferação de células basalóides em maior detalhe, observada na imagem da tomografia de coerência óptica como uma área escura (hiporreflexa) bem delimitada partindo da área correspondente a epiderme e invadindo a derme papilar. Setas amarelas mostram a paliçada periférica típica desta neoplasia na histologia, e a delimitação evidente da epiderme normal e do bloco tumoral. Setas vermelhas mostram vaso sanguíneo na derme reticular.

Nas lesões da pele não oncológicas, a OCT tem mostrado-se útil na avaliação de doenças bolhosas, pela facilidade em avaliar a perda de continuidade na transição dermo-epidérmica. Outras utilidades de relevância incluem o uso da OCT na avaliação da penetração dermo-epidérmica de cremes, hidratantes e radiação UV. A OCT também tem se mostrado útil na avaliação do processo de cicatrização e transplante capilar (WASSEF et al. 2013).

1.4.4 A tomografia de coerência óptica da pele normal

Para a interpretação do exame de tomografia de coerência óptica é importante conhecer a aparência típica da pele normal à histopatologia nas diferentes regiões anatômicas (WELZEL et al 2004). Na pele glabra, o estrato córneo não é visível e a epiderme apresenta-se como uma faixa cinza-escura (hiporreflexa) com aspecto granulado grosso. A transição dermo-epidérmica é bem marcada por uma linha superior hiporreflexa que corresponde à camada basal, seguida por outra linha, hiperreflexa, que corresponde ao início da derme. A derme papilar apresenta-se como uma faixa hiperreflexa (mais branca quando comparada às estruturas vizinhas) que progressivamente perde seu brilho até tornar-se escura (hiporreflexa). Os vasos sanguíneos são representados por estruturas lineares na derme, hiporreflexas, com nuance próxima ao preto. A imagem da pele na região palmo-plantar apresenta uma superfície ondulada decorrente dos dermatoglifos. A primeira camada é espessa, homogênea e com fraco sinal, nitidamente demarcada em relação à camada seguinte e corresponde à

camada córnea. A epiderme e a derme papilar não são bem definidas. Na pele da face, é possível a visualização de folículos pilosos em grande quantidade e glândulas sebáceas (WELZEL et al. 2004; MOGENSEN et al. 2008) (Figura 11).

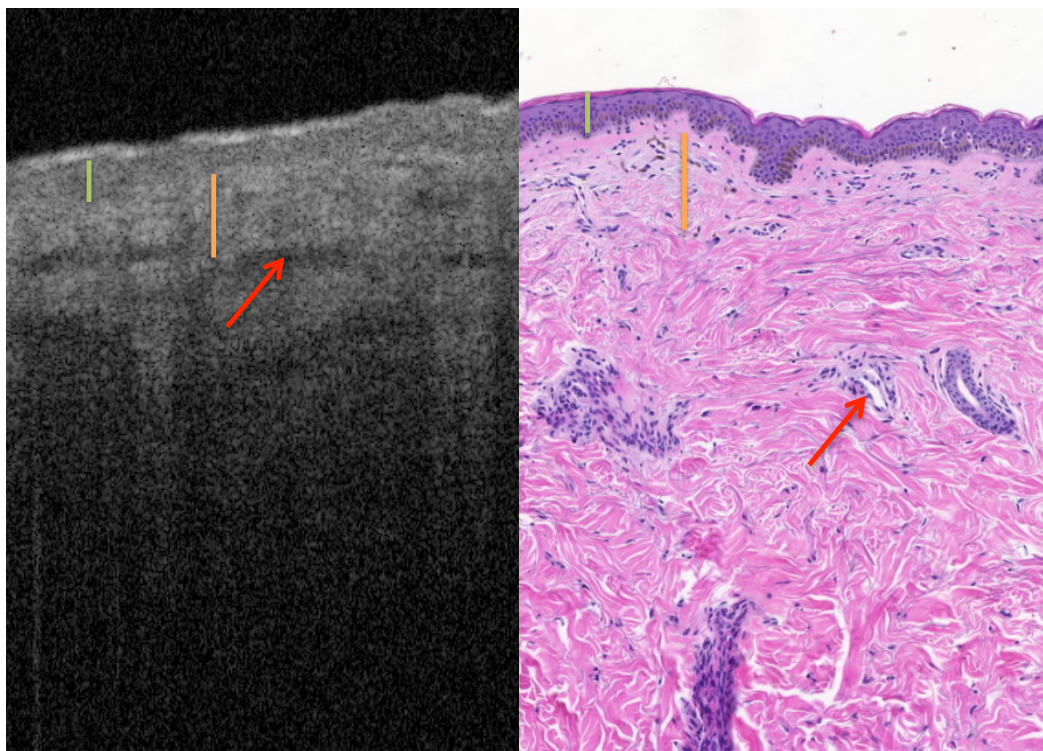


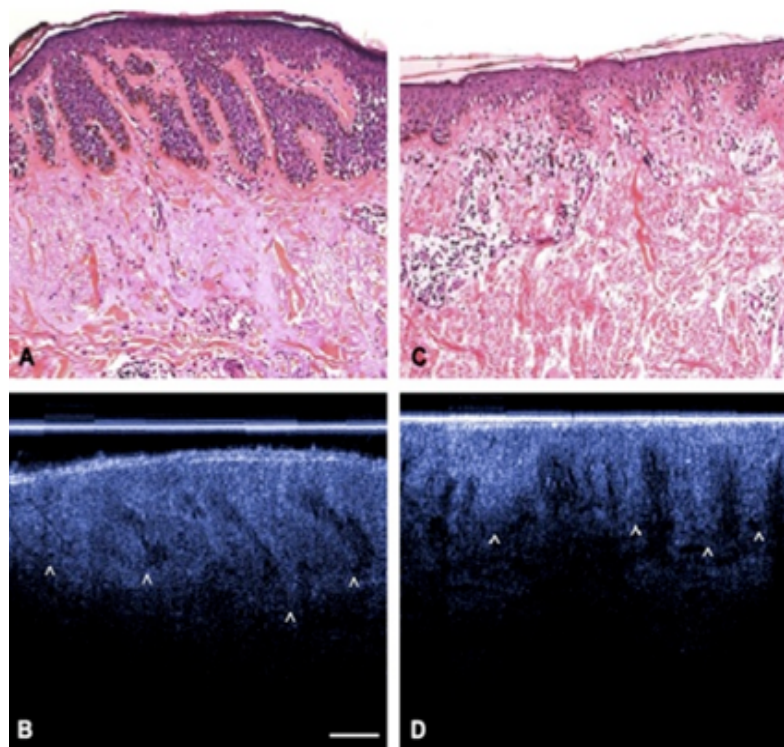
Figura 11 - Pele normal. Imagem comparativa da tomografia de coerência óptica (à esquerda) com a histologia. A barra verde representa a espessura da epiderme e a barra laranja delimita a área correspondente a derme papilar (hiperreflexa pelos feixes de colágeno). A seta vermelha indica uma área hiporreflexa linear na imagem da tomografia que corresponde a um vaso sanguíneo.

1.4.5 A tomografia de coerência óptica nas lesões melanocíticas

Em 2005, de GIORGI et al. realizaram um estudo para correlacionar estruturas visualizadas à dermatoscopia, tomografia de coerência óptica e histopatologia. Neste estudo utilizaram 10 lesões melanocíticas. Descreveram a rede pigmentar no exame de tomografia de coerência óptica por esta apresentar um sinal intenso ao nível da junção dermo-epidérmica em comparação com a epiderme saudável, correspondendo à presença da melanina em células ao longo da junção dermo-epidérmica. Os glóbulos marrons se apresentaram como estruturas redondas ou ovais com um sinal forte e compacto na tomografia de coerência óptica, correspondendo à concentração da melanina em células formando ninhos na junção dermo-epidérmica e intra-epidérmica (GIORGI et al. 2005).

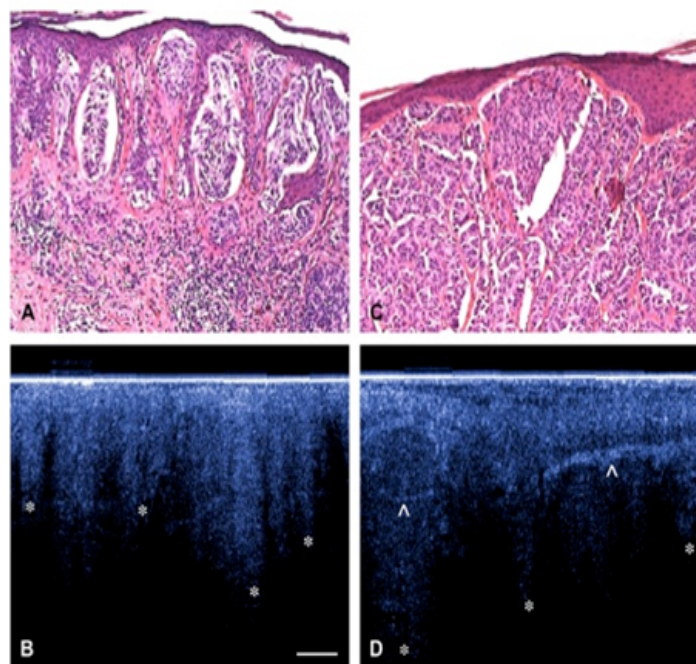
Na tentativa de diferenciar as lesões melanocíticas benignas e malignas da pele utilizando a tomografia de coerência óptica, Gambichler et al. avaliaram 92 lesões melanocíticas, entre nevos e melanoma. Os melanomas apresentaram um desarranjo arquitetural acentuado da epiderme em comparação com os nevos. Os nevos apresentaram cristas alongadas em forma de dedos. Nos melanomas a região da papila dérmica e derme reticular superficial apresentavam uma área difusa brilhante ao contrário das típicas estruturas lineares brilhantes. A característica mais acentuada observada nos melanomas cutâneos foi a presença de estruturas denominadas “icicle-shaped structures” (“icicles”), que correspondem a

estruturas espiculadas hiperreflexas verticais que alcançam a derme reticular (GAMBICHLER et al. 2007). (Figuras 12 e 13).



Fonte: GAMBICHLER et al. (2007).

Figura 12 - OCT nas lesões melanocíticas benignas. A. Ilustra imagem de histopatologia de um nevo lentiginoso e C de um nevo juncional. B e D correspondem à imagens de OCT e ilustram cristas epidérmicas evidentes e alongadas. A junção dermo-epidérmica apresenta-se bem demarcada em contrastando com a derme papilar escura.



Fonte: GAMBICHLER et al. (2007).

Figura 13 - OCT na avaliação do melanoma. A. E C Ilustram imagens de histopatologia de dois melanomas, do subtipo extensivo superficial, (espessura de Breslow 0,91mm e 1,7mm respectivamente). B e D correspondem às imagens de OCT e ilustram desarranjo arquitetural importante, com estruturas espiculadas na derme (“icicles” - asterisco da imagem). Na imagem “D” também é possível a visualização de estruturas hiperreflexas (símbolo “^”) que correspondem aos cordões de colágeno denso dos blocos tumorais encapsulados.

Entretanto, a especificidade e sensibilidade do diagnóstico dos tumores da pele através da tomografia de coerência óptica ainda não foi investigada em estudos controlados (BECHARA et al. 2004; GAMBICHLER et al. 2007). Quando refere-se a lesões melanocíticas, apesar do grande potencial, os estudos existentes na sua maioria não apresentam desenho clínico adequado e, até o momento, não havia descrição da possibilidade de

discriminação de lesões benignas e malignas pela tomografia de coerência óptica.

1.5 JUSTIFICATIVA

Na prática, a tomografia de coerência óptica da pele é um exame ainda em investigação e seus padrões diagnósticos ainda não foram definidos. Assim, a realização de pesquisas nesta área tem grande potencial, pois poderá contribuir com informações valiosas nas fases iniciais do desenvolvimento de um método diagnóstico considerado promissor.

Este projeto tem por meta estudar as características na tomografia de coerência óptica dos nevos melanocíticos e do melanoma baseado nos achados histopatológicos em cortes convencionais.

2 OBJETIVOS

- 1 Descrever os achados morfológicos dos nevos melanocíticos displásicos, comuns e melanoma observados no exame de tomografia de coerência óptica da pele e estabelecer padrões diagnósticos que possam auxiliar na diferenciação de lesões malignas e benignas.
- 2 Correlacionar os achados da tomografia de coerência óptica da pele com os achados histopatológicos em cortes convencionais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Para fins didáticos, o presente estudo será subdividido e detalhado em 3 sessões.

- 1 Estudo piloto com análise de 39 casos – estudo já publicado. Os detalhes de metodologia, análise e resultados encontram-se no Apêndice 3 – Artigo publicado 1.
- 2 Estudo interobservador multicêntrico – estudo já aceito para publicação. Os detalhes de metodologia, análise e resultados encontram-se no Apêndice 4 – Artigo publicado 2 (carta de aceite).
- 3 Estudo interobservador multicêntrico. O mesmo será detalhado nas sessões subsequentes abaixo.

3.1 MATERIAL

Neste estudo selecionamos um total de 210 grupos de imagens (grupos de 60 a 120 “cortes” de tomografia de coerência óptica) de 210 lesões melanocíticas pigmentadas a serem estudadas provenientes dos 3 centros de dermatologia (A.C.Camargo Cancer Center, São Paulo, Brasil; Melanoma Institute of Australia, Sydney, Australia; Universidade de Modena e Reggio Emilia, Modena, Italia).

3.1.1 Critérios de Inclusão

- 1 Lesões pigmentadas cujo resultado anátomo-patológico foi compatível com o diagnóstico de nevo melanocítico ou melanoma.
- 2 Lesões pigmentadas com critérios clínicos e dermatoscópicos de nevos melanocíticos e que não foram excisados.
- 3 Lesões com até 6mm de diâmetro cujas imagens de tomografia de coerência óptica apresentaram qualidade suficiente para a avaliação.

3.1.2 Critérios de Exclusão

- 1 Pacientes com diagnóstico de nevo melanocítico congênito médio ou gigante por tratarem-se de lesões profundas que podem não ser completamente visualizadas pela técnica em estudo (OCT).
- 2 Lesões cujo resultado anátomo-patológico foi compatível com lentigo maligno.
- 3 Lesões localizadas na superfície palmo-plantar, ungueais ou localizadas no couro cabeludo por dificuldade técnica.

3.1.3 População do Estudo

3.1.3.1 Centro A.C.Camargo Cancer Center

Os pacientes de interesse foram selecionados durante a consulta médica realizada no Departamento de Oncologia Cutânea do A.C.Camargo Cancer Center. Após o consentimento pós-informado assinado (Apêndice 1), as informações referentes aos pacientes foram registradas em um

protocolo preenchido durante a consulta médica com os dados do paciente (data do exame, data de nascimento, número do prontuário médico, topografia da lesão, hipótese diagnóstica e resultado anátomo-patológico).

3.1.3.2 Demais Centros

Dos pacientes dos centros da Itália e Austrália obtivemos somente as imagens tomografia de coerência óptica, topografia da lesão e diagnóstico histopatológico. As imagens fornecidas não apresentavam identificação que pudesse representar o centro de origem ou identidade do paciente por razões éticas.

4 METODOLOGIA

4.1 DOCUMENTAÇÃO CLÍNICA E DERMATOSCÓPICA

4.1.1 Centro A.C.Camargo Cancer Center

Após a coleta dos dados iniciais de identificação do paciente, a lesão ou as lesões de interesse foram submetidas ao exame clínico e dermatoscópico. A documentação clínica e dermatoscópica foi realizada nas lesões selecionadas utilizando-se uma câmera digital acoplada a um dermatoscópio (DermLite II HR; 3Gen LLC, Dana Point CA) com o uso de um adaptador. O método diagnóstico utilizado na dermatoscopia foi o de análise de padrões e os critérios dermatoscópicos foram utilizados para a classificação da lesão como melanocítica e inclusão do paciente no estudo.

Como já relatado, não foram fornecidas as imagens clínicas e dermatoscópicas dos pacientes dos demais centros.

4.2 TOMOGRAFIA DE COERÊNCIA ÓPTICA

A tomografia de coerência óptica utilizada para o estudo foi a OCT VivoSight® (Michelson Diagnostics, Orpington, Kent, Inglaterra) em todos os centros. Para cada lesão a ser estudada, pelo menos duas séries de imagens “MULTI1” (60 ou 120 fotos sequenciais) foram coletadas, preferencialmente no sentido longitudinal da lesão. Um grupo de imagens,

que melhor representasse a lesão e com boa qualidade foi selecionado para avaliação de cada paciente.

4.3 EXAME HISTOPATOLÓGICO

4.3.1 Centro A.C.Camargo Cancer Center

Após preencher os critérios de inclusão, a lesão selecionada foi totalmente excisada e a peça cirúrgica obtida fixada em formol tamponado à 10%, por no mínimo 24 horas. Após processada, foi analisada por um patologista que utilizou o protocolo de avaliação de lesões melanocíticas padronizado pelo Departamento de Anatomia Patológica do A.C.Camargo Cancer Center, São Paulo. Nos demais centros, as lesões excisadas foram submetidas ao exame anatomopatológico conforme rotina do hospital de origem.

A avaliação dos casos foi realizada de modo cego (os observadores avaliaram individualmente somente as imagens de OCT, sem conhecimento do diagnóstico histopatológico e das fotografias clínicas e dermatoscópicas). Esta foi realizada por 4 observadores independentes com diferentes graus de experiência em OCT.

4.4 CARACTERÍSTICAS DOS AVALIADORES

- Observador 1: Dermatologista, pesquisadora principal deste estudo, com mais de 3 anos de experiência em OCT e quem descreveu os critérios utilizados para o estudo.
- Observador 2: Dermatologista, com mais de 3 anos de experiência, proveniente do centro brasileiro (A.C.Camargo Cancer Center)
- Observador 3: Médica não especialista, pesquisadora, 1 ano de experiência em OCT, proveniente do centro australiano.
- Observador 4: Dermatologista, com dois anos de experiência em OCT, pesquisadora, proveniente do centro italiano.

4.5 TREINAMENTO DOS AVALIADORES

Três observadores (observadores 2,3 e 4) foram submetidos ao treinamento separadamente com um tutorial presente no Apêndice 2. Os critérios avaliados nas lesões melanocíticas constam em detalhe no Apêndice 6, e foram descritos e publicados pela pesquisadora principal deste estudo (Apêndice 3). Após o estudo do tutorial, foram oferecidas imagens de 20 lesões por observador não pertencentes ao estudo para treinamento não cego, discutidas com o observador 1 até a obtenção de um consenso sobre as estruturas visualizadas. O observador 1 não realizou o treinamento por ser o autor do tutorial. A descrição das estruturas observadas encontra-se no Apêndice 6.

4.6 ANÁLISE DOS CASOS

Os 4 observadores avaliaram os 210 casos selecionados. A avaliação das imagens foi baseada na análise de uma sequência de imagens (60 ou 120) pertencentes a cada lesão. A observação das estruturas descritas no tutorial é classificada como presente ou ausente no exame. Quando presente, numera-se a planilha com o valor “1”, quando ausente (ou estrutura não visualizada, numera-se como o valor “0”(exemplo do preenchimento no Apêndice 2).

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

Após a avaliação dos casos por todos os avaliadores, foi realizada a análise estatística dos dados obtidos. A população do estudo foi caracterizada por meio da estatística descritiva. Para a análise de concordância, foram usados os coeficientes kappa de Cohen e de Fleiss, respectivamente para as análises de pares e do grupo todo. Realizou-se a comparação das variáveis categóricas por meio do teste exato de Fisher. A regressão linear múltipla foi utilizada para a identificação dos fatores independentemente relacionados com o desfecho (diagnóstico de melanoma). Para tanto, empregou-se a técnica de modelagem do tipo "*stepwise forward selection*". Em todos os testes estatísticos utilizou-se o nível de significância de 5%. O Software utilizado foi o IBM-SPSS statistics professional package (release 20.0.0, 2011;IBM, Armonk, NY, U.S.A).

5 RESULTADOS

Obtivemos um total de 210 casos analisados, 95 deles foram provenientes do centro brasileiro (A.C.Camargo Cancer Center), 76 provenientes da Itália (Universidade de Modena e Reggio Emilia) e 39 da Austrália (Melanoma Institute of Australia). Dos centros localizados na Austrália e Itália, obtivemos acesso somente às imagens de tomografia de coerência óptica e informação da topografia da lesão no paciente. Fotos clínicas e dermatoscópicas não foram fornecidas. 24 melanomas foram incluídos no estudo pelo centro brasileiro, 20 pela Itália e 5 pela Austrália, somando um total de 49 melanomas.

Foram avaliados 16 melanomas *in situ*, 28 melanomas com Breslow menor ou igual a 1mm, com média de índice de Breslow de 0,58mm neste grupo e 5 melanomas com mais de 1mm, sendo os índices de Breslow de 2,2mm, 2,88mm, 4mm (dois casos) e 5,3mm.

Tivemos 10 casos fornecidos para avaliação pelo grupo da Itália, aonde as características clínicas e dermatoscópicas relatadas pelo centro eram compatíveis com nevos comuns, portanto sem resultado histopatológico confirmatório (descrito como “Nevo não excisado – controle” na tabela) (Tabela 1).

Tabela 1 - Distribuição dos Casos

	Brasil	Itália	Austrália	Total
Melanoma <i>in situ</i>	11	3	2	16
Melanoma $\leq 1\text{mm}$	13	12	3	28
Melanoma $> 1\text{mm}$	0	5	0	5
Nevo junctional	10	5	6	21
Nevo junctional displasico	8	7	7	22
Nevo composto	33	16	3	52
Nevo composto displásico	18	10	17	45
Nevo intradermico	2	2	1	5
Nevo nao excisado - controle	0	10	0	10
Nevo de spitz	0	6	0	6
Total	95	76	39	210

Distribuição dos casos/ grupos de imagens por países.

5.1 CONCORDÂNCIA ENTRE OBSERVADORES

A concordância entre os observadores resultou em regular na maioria das estruturas avaliadas. As maiores discrepâncias foram observadas quando as cristas epidérmicas e suas deformidades como alongamento, alargamento e retificação foram avaliadas. Os melhores resultados de concordância aconteceram na avaliação de “icles” ($\kappa=0,513$), colágeno ($\kappa=0,392$) e sombras ($\kappa=0,389$). Quando comparadas 2 a 2, concordâncias substanciais foram observadas nas estruturas “icles” e colágeno ($\kappa=0,685$ e $\kappa=0,673$ respectivamente) entre os observadores 1 e 2 e “icles” entre os observadores 2 e 3 ($\kappa=0,608$). (Tabela 2).

Tabela 2 - Resultados estatísticos de valores de Kappa para análise 2 a 2 (Cohen Kappa) e análise entre todos os observadores (Fleiss Kappa) das estruturas avaliadas no estudo das 210 lesões.

Estruturas	OBSERVADORES						(95% CI) Fleiss Kappa
	1 e 2	1 e 3	1 e 4	2 e 3	2 e 4	3 e 4	
Cristas epidérmicas	,127	,080	,277	,536	,238	,224	,165 (,109-.202)
Alongamento	,472	,257	,300	,445	,191	,256	,298 (,243-.353)
Alargamento	,470	,322	,413	,458	,203	,354	,359 (,304-.415)
Retificação	,167	,200	,063	,200	,075	-,073	,098 (,040-.151)
Fusão de cristas	,380	,367	,350	,485	,287	,430	,379 (,324-.434)
Índice Dermo-epidérmico	,394	,402	,470	,206	,293	,484	,344 (,289-.399)
Ninhos Juncionais	,425	,340	,194	,340	,213	,069	,207 (,152-.262)
Banda Hiporreflexa	,375	,217	,267	,419	,543	,539	,379 (,324-.434)
Sombras	,521	,289	,482	,313	,389	,313	,389 (,334-.445)
"Icicles"	,685	,474	,479	,608	,440	,353	,513 (,456-.568)
Colageno	,673	,419	,277	,462	,276	,191	,392 (,337-.447)

Valores em negrito indicam concordância acima de moderada.

Valores para referência:

< 0 Concordância Pobre

0.01 – 0.20 Concordância Discreta

0.21 – 0.40 Concordância Regular

0.41 – 0.60 Concordância Moderada

0.61 – 0.80 Concordância Substancial

0.81 – 1.00 Concordância Próximo a Perfeita

5.2 DIFERENCIAÇÃO ENTRE NEVOS E MELANOMA: ANÁLISE UNIVARIADA

Em uma primeira análise de todos os casos buscamos estruturas que apresentassem maiores ou menores frequências em nevos e melanoma. Destacou-se com diferenças estatisticamente significantes a presença de colágeno, “icicles”, sombras e o índice dermo-epidérmico entre todos os avaliadores. Tomando como referência o observador 1, 38,8% dos melanomas apresentaram visualização do colágeno, enquanto que uma porcentagem significativamente maior (76,2%) dos nevos apresentam visualização desta estrutura ($p=0,000$). O observador 1 apresentou o maior número de correlações com significância estatística na diferenciação entre nevos e melanoma (Tabela 3). As estruturas avaliadas que apresentaram correlação foram: cristas epidérmicas, fusão de cristas, índice dermo-epidérmico preservado, ninhos juncionais, sombras, banda hiporreflexa, colágeno e “icicles” na distinção entre nevos e melanoma. O observador 4 apresentou também resultados significantes em 7 estruturas analisadas: fusão e alargamento de cristas, índice dermo-epidérmico, sombras, colágeno, “icicles” e banda hiporreflexa (Tabela 3).

Tabela 3 - Avaliação dos Observadores na Diferenciação entre Melanoma e Nevos (189 casos).

	Observador		Observador		Observador		Observador	
	1		2		3		4	
% Melanoma / % Nevos								
Epiderme		p		p		p		p
Cristas Epidérmicas	67,3/87,4	0,002	32,7/33,8	1,000	22,4/21,2	0,843	49/62,3	0,132
Alongamento	32,7/47	0,097	28,6/23,8	0,570	12,2/15,2	0,816	34,7/42,4	0,404
Fusão	14,3/31,1	0,026	24,5/21,9	0,697	16,3/19,2	0,833	12,2/33,1	0,006
Alargamento	18,4/33,1	0,070	26,5/22,5	0,565	14,3/16,6	0,825	20,4/42,4	0,006
Retificação	20,4/19,2	0,838	6,1/7,3	1,000	16,3/13,9	0,647	22,4/14,6	0,267
Junção Dermo-Epidérmica								
Índice Dermo-epidérmico normal	49/82,8	0,000	38,8/62,9	0,004	57,1/93,4	0,000	65,3/89,4	0,000
Ninhos Juncionais	65,3/89,4	0,000	71,4/87,4	0,14	63,3/87,4	0,000	40,8/55	0,101
Derme								
Sombras	46,9/22,5	0,002	44,9/16,6	0,000	24,5/5,3	0,000	40,8/13,2	0,000
Colageno	38,8/76,2	0,000	46,9/77,5	0,000	44,9/82,8	0,000	81,6/95,4	0,005
Banda Hiporreflexa	24,5/49	0,003	16,3/31,8	0,044	14,3/27,2	0,083	16,3/33,1	0,029
Icicles	20,4/5,3	0,003	40,8/7,9	0,000	36,7/8,6	0,000	18,4/2,6	0,001

Teste de Fisher

Nível de significância de $P < 0,05$ (valores em negrito)

% Melanoma / % Nevo

5.3 CORRELAÇÃO ENTRE ESTRUTURAS *VERSUS* NEVOS E MELANOMA

Quando tomamos como referência o observador 1 e separamos os diferentes diagnósticos entre nevos e melanoma, novas estruturas apresentam diferentes frequências (Tabela 4).

5.3.1 Cristas Epidérmicas

Cristas epidérmicas apresentaram-se em grande frequência em nevos juncionais (93%, $p=0,043$) e displásicos (94%, $p=0,003$), quando comparado aos outros diagnósticos. Nos melanomas invasivos, as cristas epidérmicas são visualizadas com menor frequência (54,5%, $p=0,000$).

Deformidades das cristas como alongamento, alargamento e retificação não apresentaram frequências diferentes entre nevos e melanomas (Tabela 3 e 4).

Quando comparado presença das estruturas entre nevos compostos e melanoma, as cristas epidérmicas são mais frequentemente visualizadas nos primeiros (87,6% x 67,3%, $p=0,007$). Entre os nevos juncionais e nevos compostos, não houve diferença entre as frequências de visualização da estrutura (Tabela 4 e 5).

5.3.2 Junção dermo-epidérmica

Na junção dermo-epidérmica, o índice dermo-epidérmico normal foi observado mais frequentemente em nevos juncionais: 93% ($p=0,001$),

compostos: 81,4% ($p=0,035$) e displásicos: 91% ($p=0,000$). Contrariamente, são observados em menor frequência em melanomas invasivos (42,4%, $p=0,000$)(Tabela 4 e 5).

5.3.3 Derme

Na derme houve o maior número de estruturas observadas com diferenças entre nevos e melanoma.

As sombras apresentam-se em 46,9% dos melanomas ($p=0,002$) enquanto que são observadas em nevos juncionais em 11,6% dos casos ($p=0,007$). Icticles também apresentam-se com maior frequência em melanomas quando comparados a lesões benignas (30,3% dos melanomas invasivos, $p=0,000$). Já a banda hiporreflexa apresenta-se com maior frequência em lesões benignas com componente dérmico (62,9%, $p=0,000$) e com menor frequência em melanomas invasivos, aonde foi presente somente em 7 casos (21,2%, $p=0,007$). (Tabela 4 e 5).

Imagens de casos seleccionados encontram-se no Apêndice 5.

Tabela 4 - Avaliação das estruturas observadas (presentes) na imagem de OCT e diagnóstico histopatológico (Observador 1).

Estruturas	Melanoma		Melanomas		Melanoma <i>in situ</i>		Nevos		Nevos		P	Nevos		P
	<i>in situ</i>		Invasivos		+ Invasivos		juncionais		Compostos			displásicos		
	16 (100%)	P	33 (100%)	P	49 (100%)	P	43 (100%)	P	97 (100%)	P		67 (100%)	P	
Epiderme														
Cristas Epidérmicas	15 (93,8)	0,315	18 (54,5)	0,000	33 (67,3)	0,002	40 (93)	0,043	85 (87,6)	0,093		63 (94)	0,003	
Alongamento	7 (43,8)	1,000	9 (27,3)	0,054	16 (32,7)	0,097	21 (48,8)	0,489	49 (50,5)	0,064		33 (49,3)	0,291	
Fusão	4 (25)	1,000	3 (9,1)	0,010	7 (14,3)	0,026	14 (32,6)	0,438	29 (29,9)	0,427		17 (25,4)	0,739	
Alargamento	3 (18,8)	0,404	6 (18,2)	0,146	9 (18,4)	0,070	14 (32,6)	0,706	33 (34)	0,215		20 (29,9)	1,000	
Retificação	3 (18,8)	1,000	7 (21,2)	0,811	10 (20,4)	0,838	5 (11,6)	0,192	20 (20,6)	0,724		11 (16,4)	0,571	
Junção Dermo-Epidérmica														
Índice Dermo-epidérmico normal	10 (62,5)	0,246	14 (42,4)	0,000	24 (49%)	0,000	40 (93)	0,001	79 (81,4)	0,035		61 (91)	0,000	
Ninhos Juncionais	15 (93,8)	0,480	17 (51,5)	0,000	32 (65,3)	0,000	39 (90,7)	0,172	88 (90,7)	0,008		65 (87)	0,000	
Derme														
Sombras	4 (25)	1,000	19 (57,6)	0,000	23 (46,9)	0,002	5 (11,6)	0,007	25 (25,8)	0,436		14 (20,9)	0,100	
Colageno	8 (50)	0,166	11 (33,3)	0,000	19 (38,8)	0,000	38 (88,4)	0,000	71 (73,2)	0,074		53(79,1)	0,011	
Banda Hiporreflexa	5 (31,2)	0,432	7 (21,2)	0,007	12 (24,5)	0,002	7 (16,3)	0,000	61 (62,9)*	0,000		31 (46,3)	0,547	
Icicle	0 (0)	0,370	10 (30,3)	0,000	10 (20,4)	0,003	1 (2,3)	0,129	6 (6,2)	0,220		3 (4,5)	0,126	

Teste de Fisher

Nível de significância de $P < 0,05$.

Comparação feita entre a estrutura de interesse vs outros diagnósticos.

Cont/Tabela

Estruturas	Melanoma invasivo vs Nevos Compostos	Nevos Compostos vs Nevos Juncionais	Melanoma vs Nevos Compostos	Melanoma vs Nevos Displásicos	Nevos Comuns vs Nevos Displásicos	Melanoma vs Nevos Comuns
<i>Epiderme</i>						
Cristas Epidérmicas	0,000	0,554	0,007	0,000	0,104	0,027
Alongamento	0,026	1,000	0,052	0,088	1,000	0,063
Fusão	0,019	0,843	0,043	0,170	0,204	0,120
Alargamento	0,123	1,000	0,055	0,195	0,474	0,042
Retificação	1,000	0,239	1,000	0,630	0,826	1,000
<i>Junção Dermo-epidérmica</i>						
Índice Dermo-epidérmico normal	0,000	0,122	0,000	0,000	0,062	0,001
Ninhos Juncionais	0,000	1,000	0,000	0,000	0,018	0,016
<i>Derme</i>						
Sombras	0,001	0,075	0,015	0,004	1,000	0,005
Colageno	0,000	0,050	0,000	0,000	0,839	0,000
Banda Hiporreflexa	0,000	0,000	0,000	0,020	0,616	0,005
"Icicle-shaped structures"	0,001	0,438	0,022	0,014	1,000	0,018

Teste de Fisher

Nível de significância: $P < 0,017$

5.4 ANÁLISE MULTIVARIADA: DIFERENCIAÇÃO ENTRE NEVOS E MELANOMA

Optamos pela descrição e análise multivariada baseada nos achados do avaliador 1, que mostrou maior número de correlações significativas nas análises prévias. Quando procedemos à análise multivariada e regressão linear, obtivemos 5 estruturas que mostraram ser relevantes estatisticamente na avaliação de nevos melanocíticos e melanoma: ninhos juncionais, colágeno, banda hiporreflexa, índice dermo-epidérmico e alargamento de cristas.

5.4.1 Ninhos Juncionais

Na diferenciação entre melanomas (*in situ* e invasivos) e nevos (juncionais e compostos), a ausência de ninhos juncionais aumenta o risco de melanoma em 3,3 vezes. Quando comparamos melanomas invasivos e nevos compostos, a ausência de ninhos juncionais aumenta o risco de melanoma invasivo em 8,1 vezes (Tabela 5 e 6)

5.4.2 Visualização do Colágeno na derme

A ausência de visualização do colágeno aumenta o risco de melanoma em 4,3 vezes quando melanomas e nevos são comparados. Quando comparamos somente lesões benignas, os nevos juncionais e compostos, a ausência de visualização do colágeno aumenta o risco de diagnóstico de nevo composto em 4,9 vezes (Tabelas 5 e 8).

5.4.3 Banda Hiporreflexa

Quando avaliamos lesões com componente dérmico como os nevos compostos e o melanoma invasivo, a ausência da banda hiporreflexa aumenta o risco de diagnóstico de melanoma em 5,6 vezes (Tabela 6). Quando comparados melanomas invasivos e *in situ* com nevos compostos, os riscos mantêm-se semelhantes, em 5,5 vezes (Tabela 7). Contrariamente, quando comparamos nevos juncionais e compostos, a presença de banda hiporreflexa aumenta o risco do último em 8,7 vezes (Tabela 8)

5.4.4 Índice Dermo-Epidérmico e Alargamento de Cristas

A ausência destas duas estruturas aumentou o risco de diagnóstico de melanoma em 3,8 vezes (para o índice dermo-epidérmico) e em 4,9 vezes (para o alargamento de cristas) quando comparados os melanomas e os nevos compostos (Tabela 7).

Quando comparados os nevos e os melanomas, um modelo preditivo indica que o diagnóstico de melanoma esteve presente em 75% das vezes em que houve a combinação específica de dois fatores (ausência de ninhos juncionais e ausência de visualização do colágeno) em uma lesão pigmentada na tomografia de coerência óptica (Tabela 9).

Tabela 5 - Fatores de risco independentes para o diagnóstico de melanoma (Grupos: Melanomas Invasivos ou *in situ* Versus Nevos Juncionais ou Compostos)

Estrutura	CATEGORIA	N	OR	95%IC
Ninhos Juncionais	Não	30	3.3	1.3 – 7.9
	Sim	159	1.0	Referência
Colágeno visualizado	Não	61	4.3	2.1 – 9.0
	Sim	128	1.0	Referência

OR: Odds ratio.

IC: Intervalo de Confiança

Tabela 6 - Fatores de Risco Independentes para o diagnóstico de melanoma invasivo: (Grupos: Melanomas Invasivos Versus Nevos Compostos)

Estrutura		N	OR	95%CI
Ninhos Juncionais	Não	25	8.1	2.9 – 23.1
	Sim	125	1.0	Referência
Banda Hiporreflexa	Não	62	5.6	2.1 – 15.3
	Sim	68	1.0	Referência

OR: Odds ratio.

IC: Intervalo de Confiança

Tabela 7 - Fatores de risco independentes para o diagnóstico de melanoma: (Grupos: Melanoma (*in situ* ou Invasivo) Versus Nevos Compostos).

Estrutura		N	OR	95%IC
Índice Dermo-epidérmico	Não	43	3.8	1.6 – 8.9
	Sim	103	1.0	Referência
Alargamento de cristas	Não	104	4.9	1.8 – 13.4
	Sim	42	1.0	Referência
Banda Hiporreflexa	Não	73	5.5	2.3 – 13.0
	Sim	73	1.0	Referência

OR: Odds ratio.

IC: Intervalo de Confiança

Tabela 8 - Fatores de risco independentes para o diagnóstico de nevos compostos: (Grupos: Nevos Compostos Versus Nevos Juncionais)

Estrutura		OR	95%IC
Colágeno visualizado	Não	4.9	1.6 – 15.0
	Sim	1.0	Referência
Banda Hiporreflexa	Não	1.0	Referência
	Sim	8.7	3.5 – 21.6

OR: Odds ratio.

IC: Intervalo de Confiança

Tabela 9 - Modelo preditivo do diagnóstico de melanoma de acordo com fatores de risco independentes identificados na análise multivariada (Grupos de estudo: melanoma *in situ*, invasivo versus nevos juncionais e compostos).

Número de Fatores de Risco(*)	N	% MELANOMA	OR	95%IC
0	118	17 (14.4%)	1.0	Referência
1	51	17 (33.3%)	3.0	1.4 – 6.5
2	20	15 (75.0%)	17.8	5.7 – 55.5

(*) Fatores de risco: ausência de ninhos juncionais e ausência de visualização do colágeno.

IC: Intervalo de Confiança

6 DISCUSSÃO

Na dermatologia, a utilização da tomografia de coerência óptica é recente, sendo os primeiros relatos com maior casuística publicados há 10 anos. Durante a revisão da literatura, observou-se uma pequena quantidade de estudos descrevendo as lesões melanocíticas na OCT. Isto provavelmente deve-se à variedade de aparelhos disponíveis, ainda em processo de desenvolvimento e aperfeiçoamento, somado aos diferentes graus de resolução oferecidos por cada um, o que provavelmente levou às dificuldades de interpretação e comparação dos resultados. Dado à grande importância do assunto, o diagnóstico precoce do melanoma, nossa intenção de explorar as capacidades da OCT em avaliar estas lesões torna-se relevante.

Na primeira etapa deste projeto, o objetivo foi identificar e descrever estruturas observadas na imagem de OCT, e para isto utilizamos a mesma nomenclatura já sugerida na literatura, pois reconhecemos a importância da padronização de terminologia para a divulgação de conhecimento (ARGENZIANO et al. 2003; MALVEHY et al 2007; SCOPE et al. 2007). Além disso, utilizamos nomes de estruturas já descritos na histopatologia (cristas epidérmicas, ninhos juncionais, as deformidades das cristas e fusão) para facilitar o reconhecimento das mesmas estruturas na OCT, já que o plano de visualização da OCT é o mesmo da lâmina de histopatologia convencional. A avaliação das imagens da OCT em paralelo com as imagens digitalizadas

das lâminas de histopatologia e o auxílio de uma patologista experiente, aumentou a confiança da comparação entre estruturas visualizadas.

A descrição de cristas epidérmicas, ninhos juncionais e ninhos de melanócitos na derme papilar foi feita de modo mais detalhado por GAMBICHLER et al. (2007), que realizaram um estudo com 92 lesões melanocíticas entre nevos juncionais, nevos compostos e melanoma cutâneo. O termo “icicle-shaped structures” também foi como imagens hiperreflexas (brancas) espiculadas na derme que lembram o aspecto resultante do congelamento de gotas de água em suspensão de batentes de portas e telhados em países de clima frio. No Brasil, os “icicles” poderiam assemelhar-se aos estalactites de grutas ou cavernas. Segundo os autores, estas estruturas correspondem ao infiltrado denso de células tumorais e linfócitos na derme na histopatologia.

No nosso estudo, a visualização das cristas epidérmicas foi observada nos nevos assim como nos melanomas, sem diferença estatística significativa na análise multivariada. Acreditamos que este critério seja mais útil na diferenciação entre as lesões melanocíticas e as não melanocíticas pela OCT.

Já a presença ou ausência de ninhos epidérmicos mostrou ser um critério importante na diferenciação entre nevos e melanoma na análise multivariada. Sua ausência aumentou o risco de tumor maligno em até 3 vezes. Este achado provavelmente deve-se à desorganização estrutural que os melanomas podem promover na junção dermo-epidérmica e derme,

apagando a arquitetura habitual encontrada nas lesões melanocíticas benignas (estruturas detalhadas no Apêndice 5 e Figuras 14, 15 e 16).

A estrutura “icicle-shaped” foi uma das que apresentou melhor concordância interobservador na avaliação de lesões melanocíticas, e estava presente em 33,3% dos melanomas invasivos ($p=0,000$) de nossos casos. Interessante ressaltar que Gambichler et al. (2007) apresentaram frequência semelhante de “icicle-shaped structures” nos melanomas analisados em seu estudo. Apesar disto, esta estrutura não mostrou-se significativa na análise multivariada do nosso estudo, provavelmente pela grande proporção de melanomas *in situ* e finos, aonde as alterações significantes na derme não são esperadas (Figura 17).

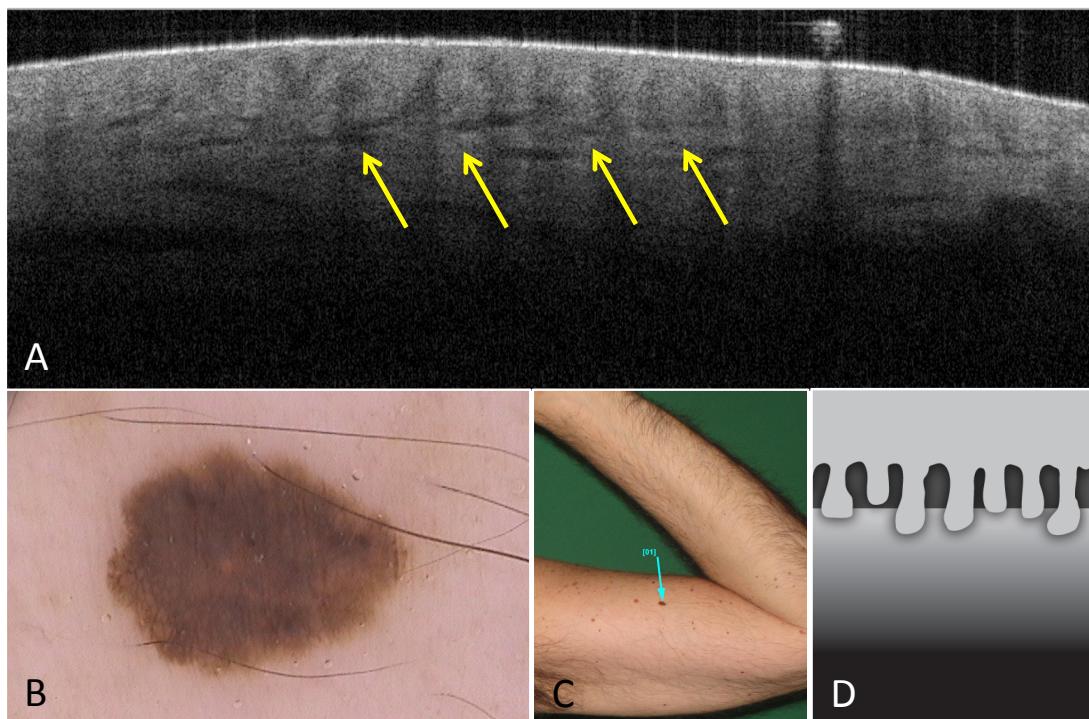


Figura 14 - Nevo composto. Lesão melanocítica pigmentada no braço esquerdo. A. Imagem da tomografia de coerência óptica: setas amarelas ilustram imagem das cristas epidérmicas. B. e C. Imagem clínica e dermatoscopia da lesão estudada. D. Desenho esquemático de cristas epidérmicas evidentes pela OCT.

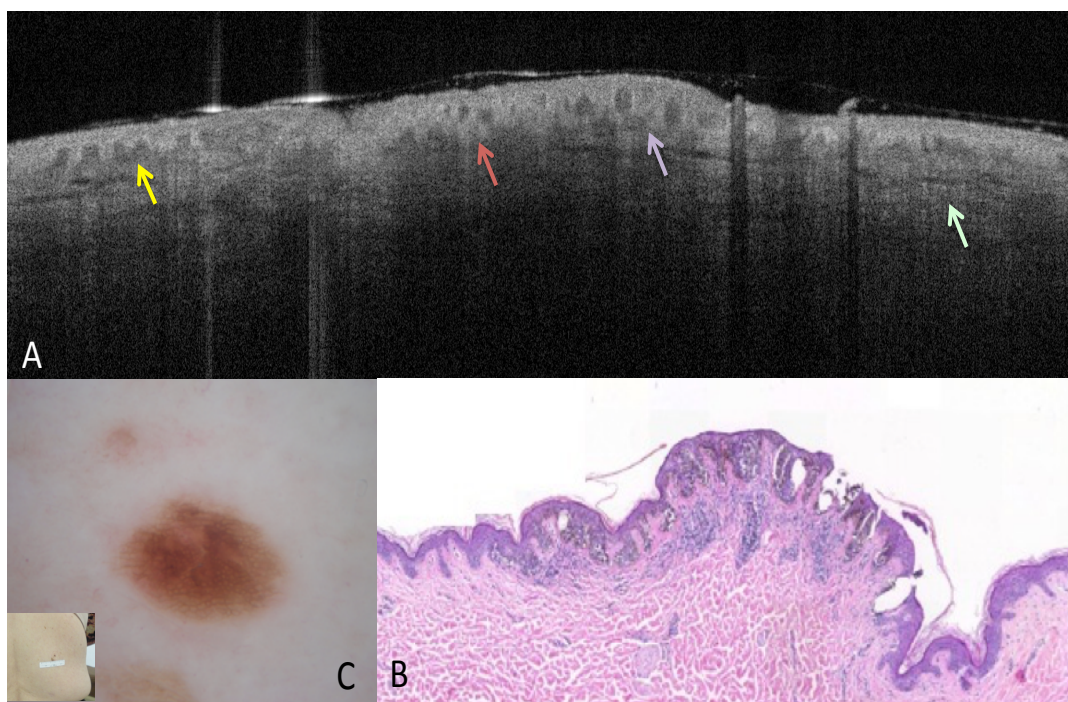


Figura 15 - Nevo junctional. A. Imagem de tomografia de coerência óptica de lesão melanocítica pigmentada lombar direita. Nota-se a visualização de cristas e papilas bem demarcadas, apresentando algumas das deformidades; seta vermelha indica fusão de cristas, seta lilás apresenta alargamento de cristas. Seta amarela indica presença de fusão de ninhos na junção dermo-epidérmica e seta verde-claro presença de colágeno hiperreflexo na derme. Foto da dermatoscopia digitalizada e foto clínica da lesão em C. B. Imagem panorâmica de histopatologia da lesão (H&E; aumento 40x).

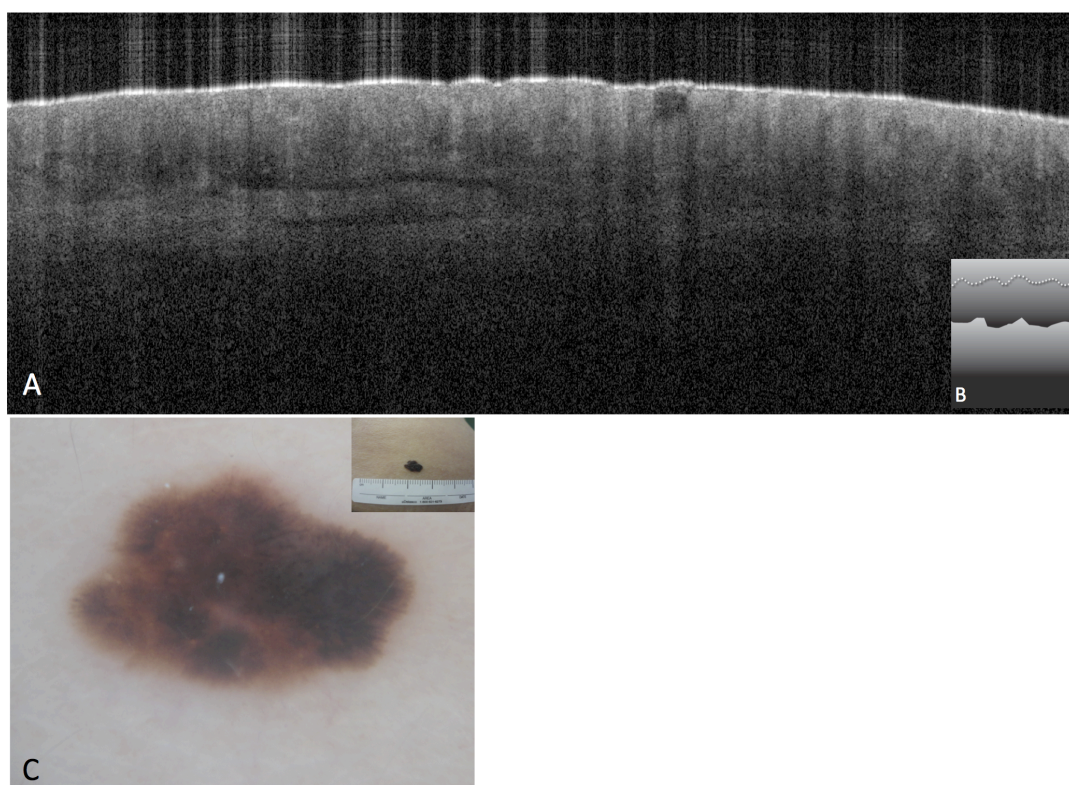


Figura 16 - Imagem de tomografia de coerência óptica de melanoma extensivo superficial, Breslow 0,56mm. A. OCT ilustrando desarranjo arquitetural e perda da visualização das cristas epidérmicas em toda a lesão, mais acentuada na metade esquerda da imagem (Desenho esquemático em “B”). C. Imagem clínica e dermatoscopia da lesão.

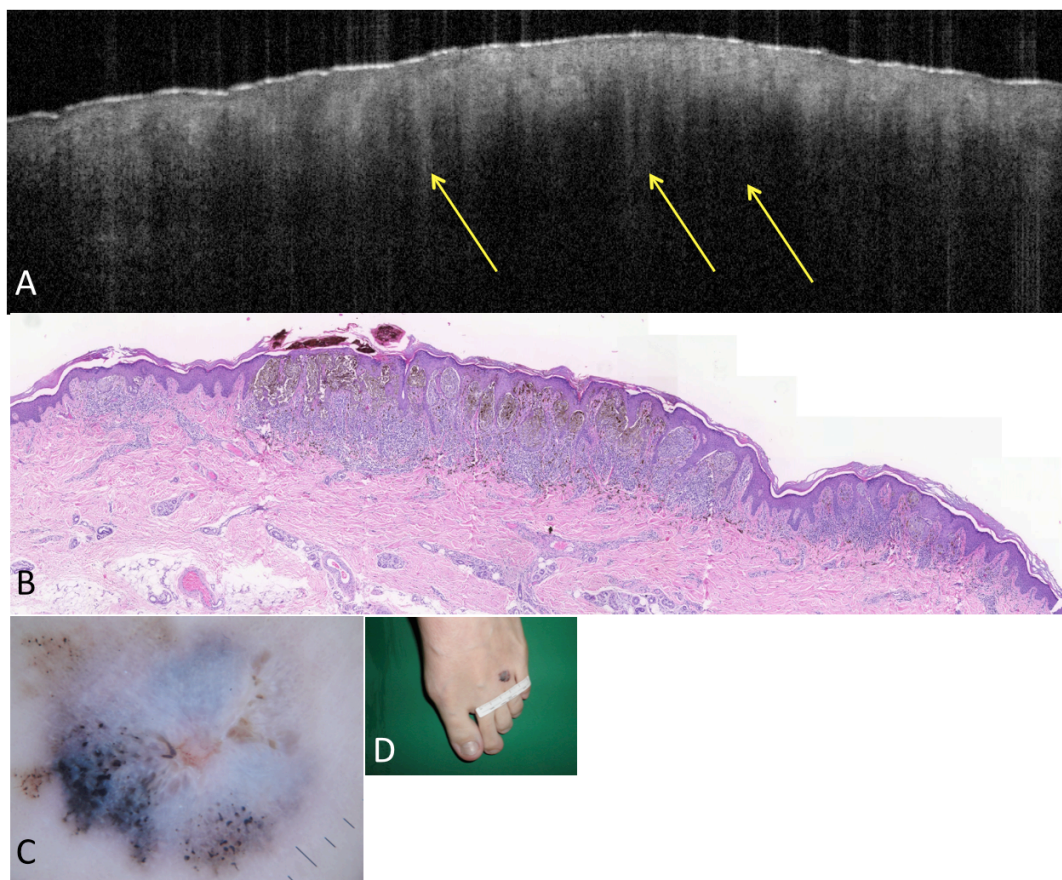


Figura 17 - Melanoma extensivo superficial, Breslow 0,8mm. A. Imagem de tomografia de coerência óptica de lesão melanocítica pigmentada no dorso do pé esquerdo. Nota-se a perda da visualização da transição dermo-epidérmica e na seta amarela a presença de estruturas espiculadas ("icicle-shaped structures") associada a perda de visualização do colágeno dérmico. B. Imagem panorâmica de histopatologia da lesão (H&E; aumento 40x) mostrando bloco de tumor que infiltra a derme caracterizando o melanoma invasivo. D e C. Foto clínica e da dermatoscopia digital.

As deformidades de cristas, (alongamento, alargamento e fusão) foram descritas por BOONE et al. (2013) através da análise de lesões melanocíticas com um aparelho de OCT de alta definição (high definition OCT - HD-OCT). Apesar da maior definição do aparelho, não foi possível a discriminação entre nevos e melanoma. Em nosso estudo, a ausência de alargamento de cristas mostrou-se significativa na diferenciação entre melanomas e nevos compostos, aumentando o risco de melanoma como critério isolado em 4,9 vezes (OR; IC 95% 1,8-13,4). A perda da visualização de estruturas na junção dermo-epidérmica (como as cristas epidérmicas e suas deformidades) na OCT ocorre provavelmente como resultado da desorganização arquitetural já observada na histopatologia de lesões melanocíticas displásicas ou do melanoma cutâneo.

A retificação da epiderme, descrita pela primeira vez e publicada em nosso Artigo 1 (Apêndice 3), pode ser resultado tanto a proliferação de ninhos de células névicas quanto de agregado tumoral dos melanomas que ocupa o espaço entre duas cristas epidérmicas, impedindo sua visualização. Esta estrutura não foi frequentemente observada e também não diferiu em frequência entre nevos e melanoma.

A definição das novas estruturas observadas pela OCT que não tem reprodutibilidade direta com a imagem de histopatologia foram baseadas nos termos utilizados para descrever imagens de ultrassom. Isto pois as imagens em preto e branco lembram muito a imagem obtida por esta técnica. Neste contexto descrevemos e publicamos no Artigo 1 (Apêndice 3) novos termos como as sombras (“shadows” na língua inglesa) e inversão do índice dermo-

epidérmico (“dermoepidermal index” na língua inglesa). A participação de uma radiologista experiente para a avaliação inicial das imagens de OCT foi de grande importância na descrição das estruturas observadas.

Quando avaliamos uma imagem de pele normal pela OCT, espera-se observar a faixa correspondente à epiderme com reflexividade menor quando comparada à derme. Denominamos esta diferença de reflexos como “índice dermo-epidérmico” (“dermoepidermal index”) normal ou habitual. Quando encontramos uma epiderme que apresenta-se hiperreflexa quando comparada à derme, nomeamos este fenómeno como perda do índice dermo-epidérmico ou “loss of dermoepidermal index”. Acreditamos que a perda do índice habitual ocorra pela ocupação da derme por blocos tumorais do melanoma que bloqueiam a passagem do laser por completo na derme, resultando no apagamento do colágeno hiperreflexo. Neste estudo este critério mostrou-se importante na diferenciação entre nevos e melanoma, apresentando resultados significativos para o melanoma como evidenciado no primeiro artigo e nos resultados de análise uni e multivariada (Figuras 18 e 19).

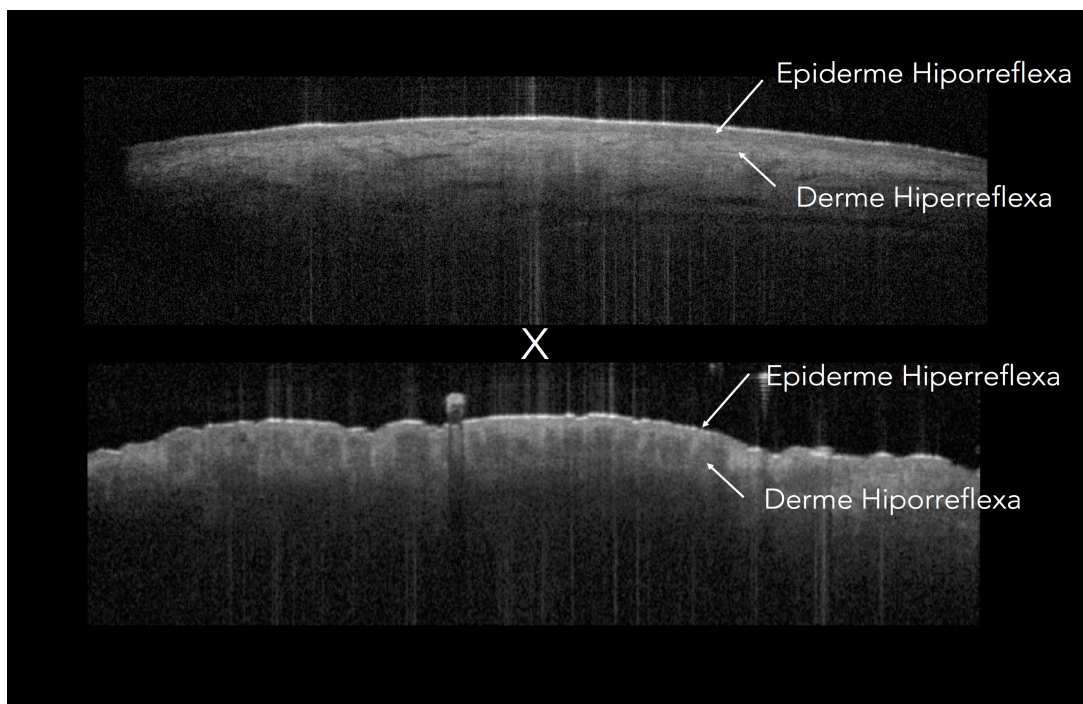


Figura 18 - Imagem de tomografia de coerência óptica de exemplo de pele normal (imagem superior) e melanoma (imagem inferior). Na pele normal a epiderme apresenta-se habitualmente hiporreflexa em relação à derme. Já no caso de melanoma a epiderme apresenta-se hiperreflexa (ou mais brilhante) do que a derme subjacente. Nestes casos denominamos este fenômeno como “inversão ou perda do índice dermo-epidérmico”.

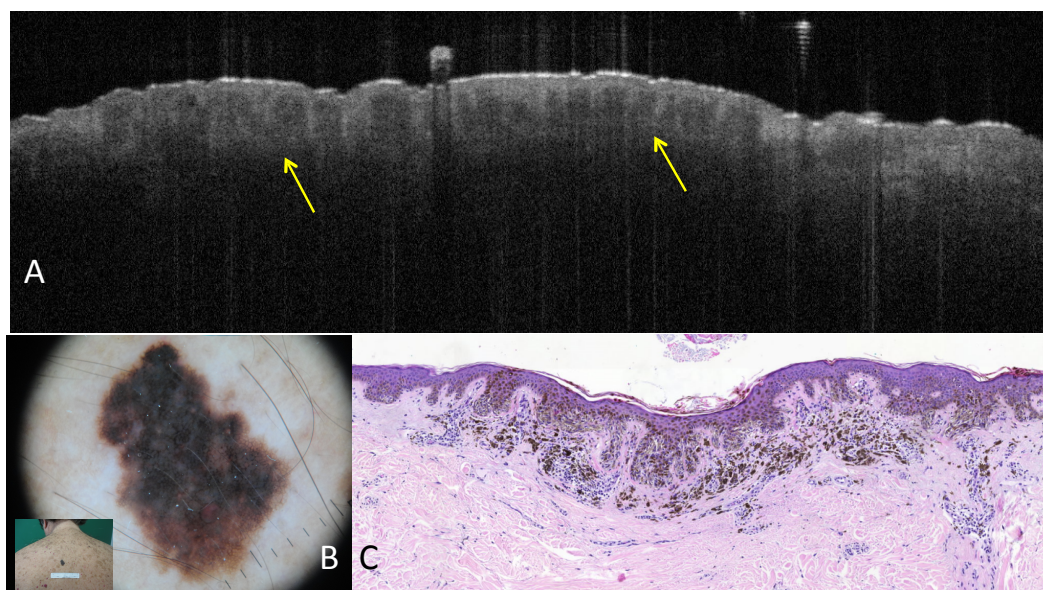


Figura 19 - Melanoma *in situ*. A. Imagem de tomografia de coerência óptica de lesão melanocítica pigmentada no dorso. Nota-se na seta amarela a presença de cristas epidérmicas associada à perda de reflexia normal da derme e hiperreflexia da epiderme, caracterizando a inversão ou perda do índice dermo-epidérmico. Foto da dermatoscopia digitalizadas e imagem clínica da lesão em B. C. Imagem panorâmica de histopatologia da lesão (H&E 40x) mostrando aglomerado de células névicas atípicas confinadas a junção dermo-epidérmica, caracterizando o melanoma *in situ*.

A “banda hiporreflexa” foi uma das primeiras observações relevantes em nosso trabalho. Esta reflete a presença de ninho de células névicas dentro da derme. Já nas primeiras avaliações esta estrutura apresentou-se marcante nos nevos dérmicos e sua visualização estava fortemente relacionada às lesões benignas. Ela é facilmente observada em lesões pigmentadas com discreto relevo, já que os nevos com grande relevo ultrapassam a profundidade de avaliação do aparelho (2mm) e a visualização de planos profundos fica prejudicada. A ausência da banda hiporreflexa mostrou-se um preditor importante de melanoma (OR 5,5; IC

2,3-13; comparação entre nevos e melanoma) e sua presença mostrou-se útil diferenciação entre nevos juncionais e compostos (OR 8,7 para nevos compostos; IC 95% 3,5-21,6). Isto deve-se ao fato que lesões que apresentam banda hiporreflexa geralmente não apresentam apagamento do colágeno (na descrição deste critério a visualização do colágeno abaixo da faixa hiporreflexa é mandatória (Apêndice 6) e habitualmente apresentam arquitetura preservada, características encontradas com maior frequência em lesões benignas (Exemplos em Figuras 20 e 21 e no Apêndice 5).

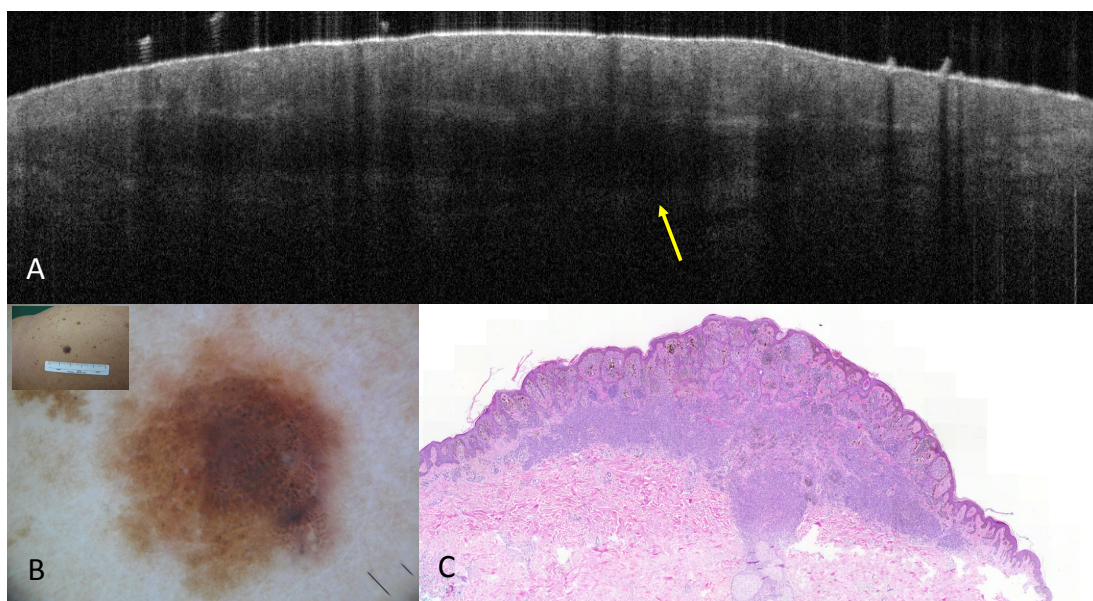


Figura 20 - Nevo composto, padrão congênito. A. Imagem de tomografia de coerência óptica de lesão melanocítica pigmentada dorsal superior a esquerda. Nota-se na seta amarela a presença de uma faixa hiporreflexa na derme que corresponde à banda hiporreflexa. Foto da dermatoscopia e imagem clínica digitalizadas da lesão em B. C. Imagem panorâmica de histopatologia da lesão (H&E 40x) mostrando aglomerado de células névicas na derme extendendo-se até base do folículo piloso, característico de nevos compostos de padrão congênito.

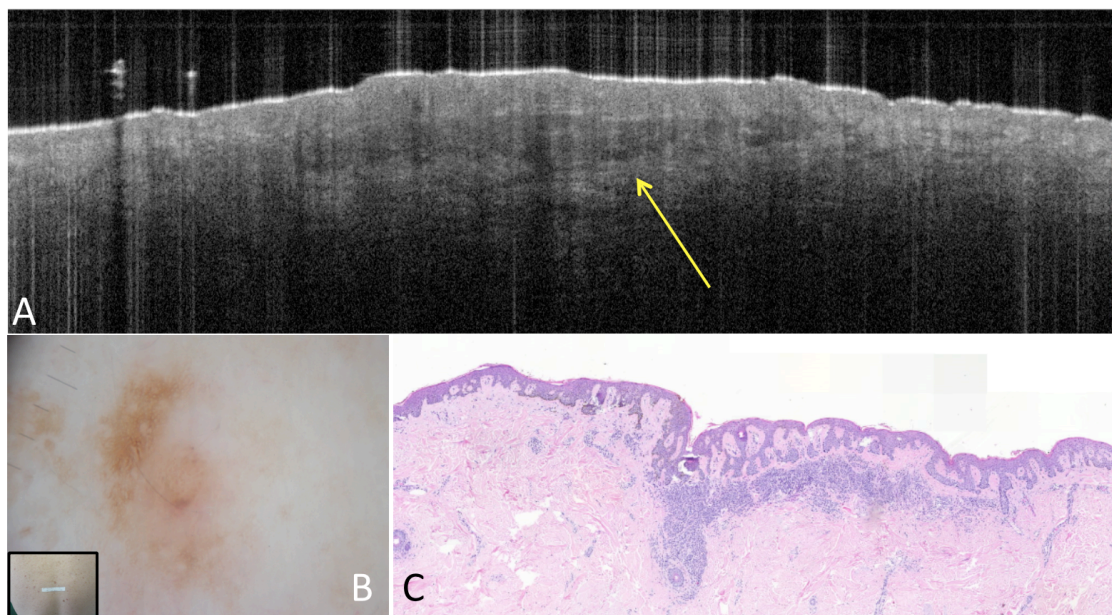


Figura 21 - Nevo composto padrão congênito. A. Imagem de tomografia de coerência óptica de lesão melanocítica pigmentada dorsal. Nota-se na seta amarela a presença de uma faixa hiporreflexa na derme que corresponde à banda hiporreflexa. Foto da dermatoscopia e imagem clínica digitalizadas da lesão em B. C. Imagem panorâmica de histopatologia da lesão (H&E 40x) mostrando aglomerado de células névicas na derme estendendo-se até a base do folículo piloso.

Outro importante fenômeno observado nas lesões melanocíticas malignas foi a perda de sinal, ou perda de visualização do colágeno na derme. Esta foi observada em pontos focais ou em toda a lesão. As perdas focais parecem ser mais frequentes em lesões iniciais, enquanto que as perdas completas, na qual não é possível mais a visualização do colágeno, parecem ser mais frequentes nos melanomas mais espessos. Quando a perda de sinal caracteriza-se por uma faixa vertical que estende-se da epiderme até as partes mais profundas da derme, denominamos o achado de sombra (ou “shadow” na língua inglesa). A perda de colágeno e a sombra mostraram-se importantes na diferenciação entre nevos e melanoma,

provavelmente porque representam a desorganização arquitetural e de densidade de blocos tumorais no melanoma.

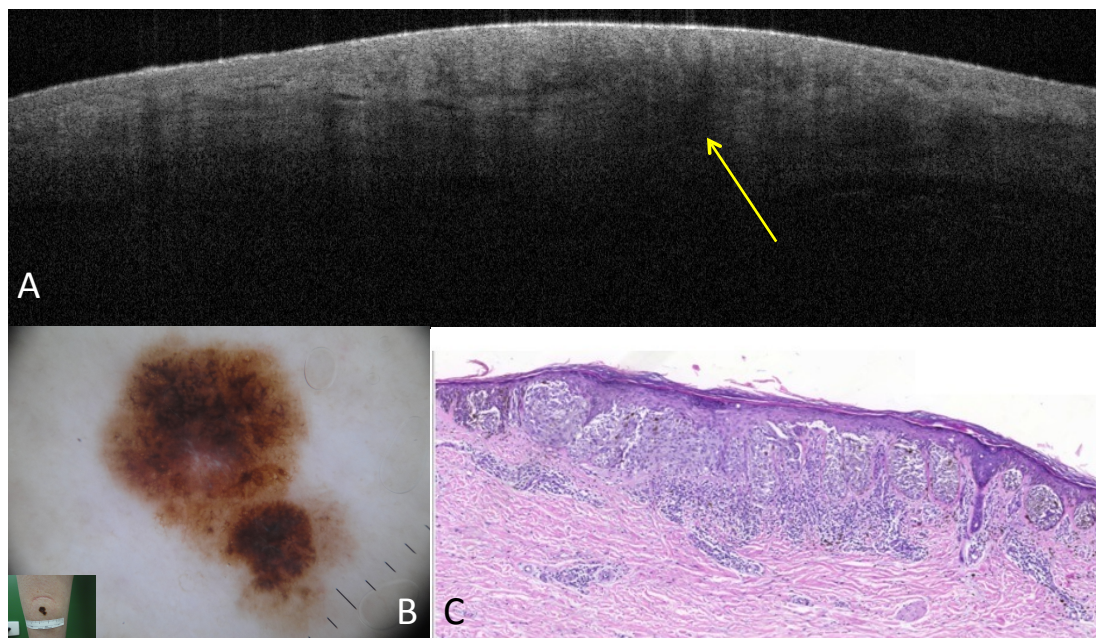


Figura 22 - Melanoma *in situ*. A. Imagem de tomografia de coerência óptica de lesão melanocítica pigmentada na perna. Nota-se na seta amarela a presença de uma faixa hiporrreflexa vertical na derme com perda de reflexia compatível com “sombra”. Foto da dermatoscopia digitalizada e imagem clínica da lesão em B. C. Imagem panorâmica de histopatologia da lesão (H&E 40x) mostrando aglomerado de células névicas atípicas partindo da junção dermo-epidérmica para a derme.

Quando associamos ausência de ninhos juncionais e ausência de visualização do colágeno, critérios estatisticamente significantes de nossa análise, chegamos ao diagnóstico de melanoma em 75% das vezes. Hipotetizamos que a associação da junção dermo-epidérmica desorganizada (pela impossibilidade de visualizar os ninhos), somado à uma derme com perda de sinal (pela não visualização do colágeno) representem a desorganização arquitetural que o melanoma apresenta à histopatologia.

Consideramos este resultado da análise multivariada bastante relevante para uma técnica de diagnóstico recente no estudo de tumores na pele, além de ser inédito no estudo de lesões melanocíticas pela OCT convencional. Outro fator que deve ser considerado é que nossos resultados foram obtidos através da análise de lesões de modo cego. Na prática clínica, a avaliação de uma lesão suspeita vem acompanhada de informações adicionais que são relevantes e aumentam a acurácia do diagnóstico: história clínica, dermatoscopia digital, entre outros.

Apesar da descrição detalhada das estruturas observadas, a avaliação de sua reprodutibilidade faz-se essencial para validar o uso da técnica na prática dermatológica diária. Neste contexto procedemos ao estudo interobservador.

Encontramos concordância entre observadores baixa na maioria dos critérios avaliados ($\kappa < 0,4$). Isto provavelmente ocorreu por um conjunto de fatores, entre eles: dificuldades em treinar avaliadores à distância, pouco tempo de experiência em OCT e a avaliação dicotômica de variáveis que podem estar presentes e ausentes em uma série de 60 cortes de uma mesma lesão. As melhores concordâncias foram observadas entre os avaliadores 1 e 2, que pertencem ao mesmo centro (Brasil). Isto deve-se provavelmente à experiência em OCT dos dois avaliadores e pelo maior tempo de conhecimento das estruturas avaliadas pelo observador 2.

A baixa concordância interobservadores mostra-se presente mesmo na avaliação de técnicas consagradas como a dermatoscopia e a microscopia confocal. ARGENZIANO et al. (2003) encontrou concordância

pobre ($\kappa < 0,5$) em critérios dermatoscópicos isolados avaliados por 51 experts mundiais em dermatoscopia. Resultados semelhantes foram obtidos por FARNETANI et al. (2015), que avaliaram critérios isolados na microscopia confocal entre 6 experts e 2 dermatologistas (κ entre 0,3 e 0,5). Nos dois últimos estudos descritos, a acurácia diagnóstica aumentou significativamente quando foram realizadas avaliações globais ou algoritmos instituídos.

A OCT não foi capaz de distinguir nevos comuns de displásicos. Consideramos este achado potencialmente útil, à medida que a atipia em lesões melanocíticas pode ser fator de suspeição de melanoma em exames de imagem não invasivos como a dermatoscopia e a microscopia confocal. Esta dúvida leva, com frequência, à exérese desnecessária de lesões benignas. Em contrapartida, a OCT não mostrou-se conclusiva na avaliação dos melanomas *in situ*. Isto está de acordo com o que é esperado para uma técnica de diagnóstico que tem definição suficiente para avaliar grandes estruturas e alterações arquiteturais (da ordem de $10\mu\text{m}$), porém insuficiente para avaliação de alterações de ordem celular (menor que $1\mu\text{m}$).

Em síntese, com este projeto avaliamos com maior casuística o papel das estruturas descritas na literatura em lesões melanocíticas pela OCT convencional, além da descrição de novos achados. Dentre as estruturas previamente descritas, os ninhos juncionais e o alargamento de cristas epidérmicas demonstraram ser importantes na diferenciação entre nevos e melanoma. Dentre as novas estruturas, o índice dermo-epidérmico, a banda hiporreflexa, além da avaliação do colágeno mostraram ser importantes

nesta avaliação. A associação da ausência de visualização de ninhos juncionais e do colágeno levou à chance de melanoma em até 75% dos casos. Acreditamos que o desenvolvimento de um algoritmo com a somatória de critérios na avaliação, associado à dermatoscopia, por exemplo leve à melhores resultados em concordância na conduta e validação da técnica.

Além disso, com o desenvolvimento do aparelho e estudos mais aprofundados da OCT na linha de estudo do melanoma, esta poderia trazer benefícios na definição do bloco tumoral e avaliação de planos mais profundos da lesão e manejo cirúrgico adequado. Em situações como o planejamento cirúrgico de lesões suspeitas de melanoma, a OCT poderia auxiliar, por exemplo na realização de um “shaving” (não habitualmente realizado para lesões melanocíticas no Brasil, mas sim em outros locais do mundo) ou na excisão completa da lesão a depender de critérios ou estruturas observadas (por exemplo banda hiporreflexa, sombras).

7 CONCLUSÕES

Foi possível caracterizar quatro novas estruturas em lesões melanocíticas (retificação da epiderme, índice dermo-epidérmico, banda hiporreflexa e sombras). Entre as onze estruturas analisadas, duas (ninhos juncionais e colágeno) apresentaram-se importantes na diferenciação entre nevos e melanoma. A associação dos critérios acima em uma lesão melanocítica avaliada pela OCT levou ao diagnóstico de melanoma em até 75% das vezes.

As estruturas índice dermo-epidérmico, e o alargamento de cristas epidérmicas mostraram-se importantes na diferenciação de melanomas (*in situ* e invasivos) e nevos compostos. A banda hiporreflexa apresentou correlação com o diagnóstico de nevo composto e mostrou-se relevante na diferenciação entre melanomas (*in situ* e invasivos) e nevos compostos.

A avaliação de lesões melanocíticas pela tomografia de coerência óptica constitui grande desafio. A avaliação das imagens exige treinamento e aprimoramento do aparelhos, que são desenvolvidos com o tempo de uso.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alexander H, Miller DL. Determining skin thickness with pulsed ultrasound. **J Invest Dermatol** 1979; 72:17-9.

Andrėkutė K, Linkevičiūtė G, Raišutis R, Valiukevičienė S, Makštienė J. Automatic Differential Diagnosis of Melanocytic Skin Tumors Using Ultrasound Data. **Ultrasound Med Biol** 2016; 42:2834-43.

Argenziano G, Soyer HP, Chimenti S, et al. Dermoscopy of pigmented skin lesions: results of a consensus meeting via the Internet. **J Am Acad Dermatol** 2003; 48:679-93.

Argenziano G, Mordente I, Ferrara G, Sgambato A, Annese P, Zalaudek I. Dermoscopic monitoring of melanocytic skin lesions: clinical outcome and patient compliance vary according to follow-up protocol. **Br J Dermatol** 2008; 159:331-6.

Barcaui Ede O, Carvalho AC, Lopes FP, Piñeiro-Maceira J, Barcaui CB. High frequency ultrasound with color Doppler in dermatology. **An Bras Dermatol** 2016; 91:262-73.

Bechara FG, Gambichler T, Stücker M, et al. Histomorphologic correlation with routine histology and optical coherence tomography. **Skin Res Technol** 2004; 10:169-73.

Boone MALM, Norrenberg S, Jemec GBE, Del Marmol V. High-definition optical coherence tomography imaging of melanocytic lesions: a pilot study. **Arch Dermatol Res** 2013; 306:11-26.

Cancer Australia. **Melanoma of the skin statistics**. Updated: Fri, 06/05/2016. Available from: <URL:<https://melanoma.canceraustralia.gov.au/statistics>> [2017 jan 12]

Coleman AJ, Penney GP, Richardson TJ, et al. Automated registration of optical coherence tomography and dermoscopy in the assessment of sub-clinical spread in basal cell carcinoma. **Comput Aided Surg** 2014; 19:1-12.

Farnetani F, Scope A, Braun RP, Gonzalez S, Guitera P, et al. Skin cancer diagnosis with reflectance confocal microscopy: Reproducibility of feature recognition and accuracy of diagnosis. **JAMA Dermatol** 2015; 151:1075-80.

Gambichler T, Regeniter P, Bechara FG, et al. Characterization of benign and malignant melanocytic skin lesions using optical coherence tomography in vivo. **J Am Acad Dermatol** 2007; 57:629-37.

Gambichler T, Jaedicke V, Terras S. Optical coherence tomography in dermatology: technical and clinical aspects. **Arch Dermatol Res** 2011 303:457-73.

Giorgi V, Stante M, Massi D, Mavilia L, Cappugi P, Carli P. Possible histopathologic correlates of dermoscopic features in pigmented melanocytic lesions identified by means of optical coherence tomography. **Exp Dermatol** 2005; 14:56-9.

Gladkova ND, Petrova GA, Nikulin NK et al. In vivo optical coherence tomography imaging of human skin: norm and pathology. **Skin Res Technol** 2000; 6:6-16.

Gomes EE, Blumetti TCMP, Macedo MP, et al. Tomografia de coerência óptica no diagnóstico do carcinoma basocelular. **Surg Cosm Dermatol** 2013; 5:241-4.

Huang D, Swanson EA, Lin CP, et al. Optical coherence tomography. **Science** 1991; 254:1178-81.

Kittler H, Pehamberger H, Wolff K, Binder M. Diagnostic accuracy of dermoscopy. **Lancet Oncol** 2002; 3:159-65.

Korde VR, Bonnema GT, Xu W, et al. Using optical coherence tomography to evaluate skin sun damage and pre-cancer. **Laser Surg Med** 2007; 39:87-695.

Marghoob AA, Korzenko AJ, Changchien L, Scope A, Braun RP, Rabinovitz H. The beauty and the beast sign in dermoscopy. **Dermatol Surg**. 2007 Nov;33(11):1388–91.

Malvehy J, Puig S, Argenziano G, Marghoob AA, Soyer HP; International Dermoscopy Society Board members. Dermoscopy report: proposal for standardization: results of a consensus meeting of the International Dermoscopy Society. **J Am Acad Dermatol** 2007; 57:84-95.

Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer José de Alencar Gomes da Silva. **Estimativa/2016 incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA; 2016.

Mogensen M, Morsy HA, Thrane L, Jemec GB. Morphology and epidermal thickness of normal skin imaged by optical coherence tomography. **Dermatology** 2008; 217:14-20.

Mogensen M, Thrane L, Joergensen TM, Andersen PE, Jemec GB. Optical coherence tomography for imaging of skin and skin diseases. **Semin Cutan Med Surg** 2009; 28:196-202.

[NCI] National Cancer Institute. **SEER Cancer Statistics Review, 1975-2013; melanoma**. Based on November 2015 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2016. Available from: <URL:<https://seer.cancer.gov/statfacts/html/melan.html>> [2017 jan 12]

[NCCN] National Comprehensive Cancer Network. **Melanoma**. Available from: <URL:https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/melanoma.pdf> [2016 nov 13]

Pehamberger H, Steiner A, Wolff K. In vivo epiluminescence microscopy of pigmented skin lesions. I. Pattern analysis of pigmented skin lesions. **J Am Acad Dermatol** 1987; 17:571-83.

Pehamberger H, Binder M, Steiner A, In vivo epiluminescence microscopy: Improvement of early diagnosis of melanoma. **J Invest Dermatol** 1993;100:356S-362S.

Pellacani G, Pepe P, Casari A, Longo C. Reflectance confocal microscopy as a second-level examination in skin oncology improves diagnostic accuracy and saver unnecessary excisions: a longitudinal prospective study. **Br J Dermatol** 2014; 171:1044-51.

Rigel DS, Russak J, Friedman R. The evolution of melanoma diagnosis: 25 years beyond the ABCDs. **CA Cancer J Clin** 2010; 60:301-16.

Schmitz L, Reinhold U, Bierhoff E, Dirschka T. Optical coherence tomography: its role in daily dermatological practice. **J Dtsch Dermatol Ges** 2013; 11:499-507.

Scope A, Benvenuto-Andrade C, Agero AL, et al. In vivo reflectance confocal microscopy imaging of melanocytic skin lesions: consensus terminology glossary and illustrative images. **J Am Acad Dermatol** 2007; 57:644-58.

Thomas MW, Grichnik JM, Izatt JA. Three-dimensional images and vessel rendering using optical coherence tomography. **Arch Dermatol** 2007; 143:1468-9.

Thomas L, Tranchand P, Berard F, Secchi T, Colin C, Moulin G. Semiological value of ABCDEcriteria in the diagnosis of cutaneous pigmented tumors. **Dermatology** 1998; 197:11-7.

Wassef C, Kao BK. Uses of non-invasive imaging in the diagnosis of skin cancer: an overview of the currently available modalities. **Int J Dermatol** 2013; 52:1481-9.

Welzel J, Reinhardt C, Lankenau E, Winter C, Wolff HH. Changes in uncton and morphology of normal human skin: evaluation using optical coherence tomography. **Br J Dermatol** 2004; 150:220-5.

Anexo 1 - Carta de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa-CEP



**A.C. Camargo
Cancer Center**

**Comitê de Ética em
Pesquisa - CEP**

São Paulo, 03 de setembro de 2013.

**A
Dra. Gisele Gargantini Rezze.**

Aluna: Tatiana Cristina Moraes Pinto Blumetti (Mestrado).

Ref.: Projeto de Pesquisa nº. 1767/13B

"A determinação dos padrões da tomografia de coerência óptica nos nevos melanocíticos e comparação com a dermatoscopia, microscopia confocal e histopatologia em cortes convencionais".

Os membros do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Fundação Antonio Prudente - Hospital do Câncer - A.C. Camargo/SP, em sua última reunião de 03/09/2013, após analisarem as respostas aos questionamentos realizados em reunião de 16/07/2013, tomaram conhecimento e aprovaram os seguintes documentos:

- Solicitação de aprovação do projeto supracitado por se tratar de um projeto afiliado ao temático intitulado "A determinação dos padrões da tomografia de coerência óptica nas lesões pigmentadas da pele e comparação com a dermatoscopia, microscopia confocal e histopatologia em cortes convencionais", registrado neste CEP sob nº 1767/13; o presente projeto afiliado será o trabalho de Mestrado da aluna *Tatiana Cristina Moraes Pinto Blumetti*;
- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Versão 1.1 de 13 de maio de 2013);
- Projeto afiliado da aluna de Mestrado *Tatiana Cristina Moraes Pinto Blumetti*, datado de 06 de março de 2013.

Informações a respeito do andamento do referido projeto deverão ser encaminhadas ao CEP dentro de 06 meses.

Atenciosamente,


Dr. Jefferson Luiz Gross

1º Vice-Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

1/1

Anexo 2 - Carta de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa-CEP- Ateração do título



A.C. Camargo
Cancer Center

Comitê de Ética
em Pesquisa - CEP

São Paulo, 30 de janeiro de 2017.

PARECER CONSIDERADO - Projeto nº 1767/1313

Título: "A determinação dos padrões da tomografia de coerência óptica nos nevos melanocíticos e melanoma cutâneo e comparação com histopatologia convencional"

Pesquisador responsável: Dra. Gisele Gargantini Rizzo
Aluna: Tatiana Cristina Moraes Pinto Blumetti (Doutorado)

Comentários Gerais:

Este comitê aprovou a solicitação de modificação do título do projeto. Entendemos que a aluna Tatiana Cristina Moraes Pinto Blumetti, está em vias de defender o doutorado, cujo prazo extinguiu-se em dezembro de 2016. Sugerimos, no entanto, a revisão e atualização do nome do hospital em todo o corpo do texto do estudo para A.C. Camargo Cancer Center.

Observamos também, que a versão do TCLE encaminhada para esta avaliação, não é a versão atualizada para o estudo. Assim, entendemos que o mesmo esteja finalizado, aguardando apenas esta aprovação, para que a aluna possa defender sua tese de doutorado.

Porém, se ainda for necessária a inclusão de mais pacientes neste estudo, todas as atualizações deverão ser feitas no texto do projeto e também no TCLE, incluindo neste, o número da versão, paginação, nome atualizado da instituição e atualização do telefone de contato da pesquisadora responsável, sendo assim apresentado e assinado por estes pacientes Parecer Final:

Modificação do título do projeto aprovada. Obs:
Vide comentários gerais. 2ª Vice-Coo


D^a. Sandra Caires Serrano
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa

Apêndice 1 - Termo de Consentimento

A determinação dos padrões da tomografia de coerência óptica nos nevos melanocíticos e melanoma cutâneo e comparação com a dermatoscopia e histopatologia em cortes convencionais.

Termo de informação e consentimento livre e esclarecido

Para obter um maior conhecimento clínico e científico do câncer, o Corpo Clínico deste Hospital (médicos e pesquisadores) desenvolve pesquisas clínica científicas. Através da pesquisa é possível conhecer melhor os mecanismos da doença e, portanto, oferecer novas possibilidades de diagnóstico e tratamento.

Você está sendo admitido (a) neste Hospital para estabelecimento de diagnóstico e/ou tratamento de alguma forma de tumor. Para fins de diagnóstico e/ou como parte de seu tratamento, há necessidade da remoção do tumor e/ou material biológico relacionado ao seu problema de saúde.

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa que vai estudar uma ou mais pintas/manchas da sua pele (que chamamos de lesões melanocíticas: nevos melanocíticos e melanoma cutâneo). Este estudo tem o objetivo de comparar as características encontradas em duas técnicas de exame de imagem para pele realizadas neste Hospital (às quais o Sr(a) será submetido caso concorde em participar): **dermatoscopia digital** (exame da lesão com lupa) e **tomografia de coerência óptica *in vivo***. A tomografia de coerência óptica é um exame de imagem que possibilita a visualização de estruturas microscópicas da pele com alta definição. O exame é realizado com o paciente sentado ou deitado, uma “ponteira” do aparelho toca na pele (local de interesse) e imagens são captadas e processadas por um computador. Não é necessário nenhum preparo prévio da pele e não há riscos diretos à sua saúde ou alterações na sua pele. O tempo de exame completo é de aproximadamente 30 minutos. Antes do início do exame de tomografia de coerência óptica será realizada uma fotografia digital e dermatoscópica (com uma lente de aumento acoplada à câmera digital). As imagens captadas na dermatoscopia e na tomografia de coerência óptica serão utilizadas para comparação com o resultado da análise do exame anátomo-patológico (biópsia após o procedimento cirúrgico). O material será totalmente examinado, não havendo qualquer prejuízo para o diagnóstico e/ou tratamento a ser estabelecido. As amostras coletadas serão processadas e armazenadas pelo

Banco de macromoléculas do Biobanco do Hospital AC Camargo, e o excedente não utilizado por este projeto de pesquisa poderá ser utilizado em outros projetos no futuro, após a aprovação dos mesmos pelo Comitê de Ética em Pesquisa desta Instituição.

As imagens realizadas e o fragmento retirado na cirurgia serão identificados por um código de números e letras, e, portanto, sua privacidade e identidade serão sempre preservadas. A eventual inclusão dos resultados em publicação científica será feita de modo a manter o anonimato do paciente.

O Sr(a) tem liberdade, em qualquer fase da pesquisa, de recusar-se a participar ou retirar seu consentimento, sem penalização alguma ou qualquer prejuízo ao seu cuidado. Concordando com o uso do material para os fins da pesquisa, é necessário esclarecer que não existem quaisquer benefícios ou direitos ou indiretos financeiros a receber sobre os eventuais resultados decorrentes da pesquisa.

Caso você ainda tenha questões a fazer sobre este Termo de Consentimento ou alguma dúvida que não tenha sido esclarecida pelo seu médico, por gentileza, entre em contato com a pesquisadora principal, Dra. Gisele Gargantini Rezze pelo telefone (11) 2189-5135. Se o pesquisador responsável não fornecer as informações/ esclarecimentos suficientes, por favor entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Fundação Antônio Prudente – Hospital do Câncer - A.C. Camargo/SP pelo telefone (11) 2189-5000, ramais 2069 ou 5020. de segunda-feira à quinta-feira das 7 horas às 18 horas e sexta-feira das 7 horas às 16 horas.

Você receberá uma cópia deste documento e o original será arquivado pelo pesquisador. Somente assine este termo se consentir.

DECLARAÇÃO

Declaro estar ciente das informações ora prestadas, tendo lido atentamente e concordado com todo o teor.

Responsável ou Paciente:

Nome:

RGH:

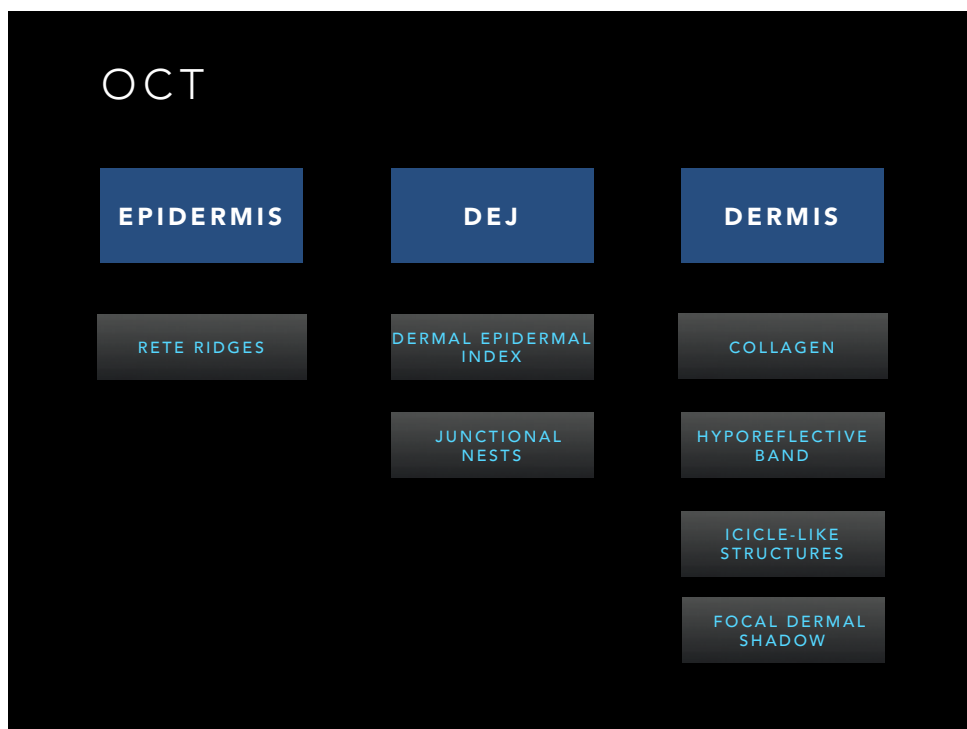
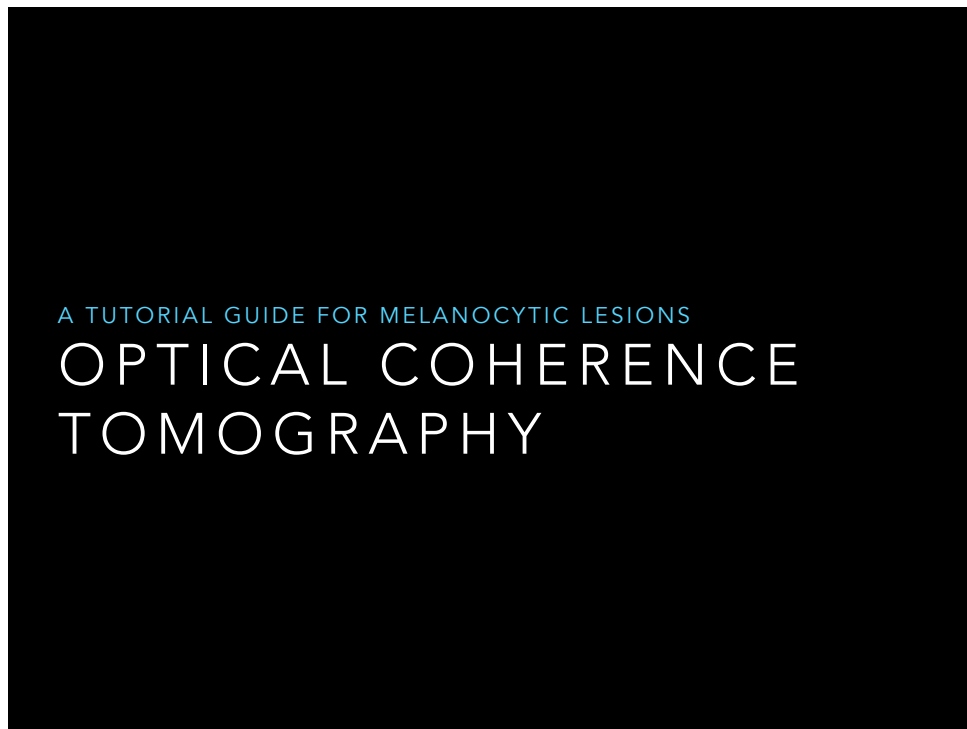
RG:

Assinatura:

Nome do pesquisador responsável:

Assinatura:

São Paulo, ____ de _____ de ____.



OCT

EPIDERMIS

DEJ

DERMIS

RETE RIDGES

OCT

EPIDERMIS

DEJ

DERMIS

RETE RIDGES

- Well demarcated/ill demarcated
- Deformity

OCT

EPIDERMIS

DEJ

DERMIS

RETE RIDGES

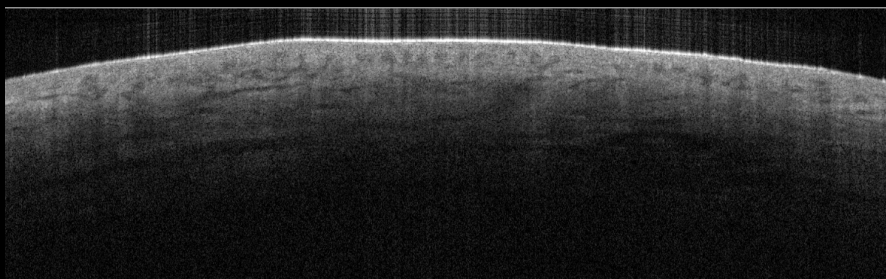
- Well demarcated/ill demarcated
- Deformity

OCT

EPIDERMIS

✓ Rete ridges - well outlined.

"Visualization of the rete ridges shape within the dermal-epidermal junction"

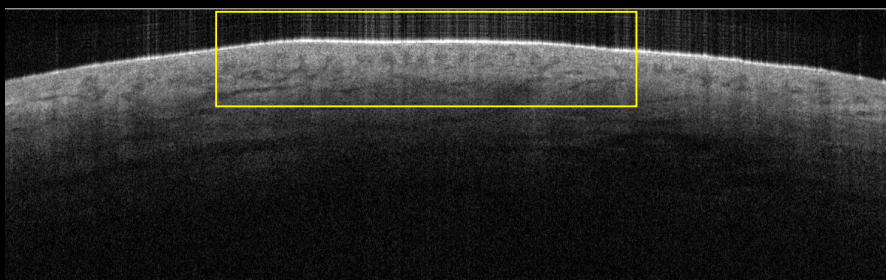


OCT

EPIDERMIS

- ✓ Rete ridges - well outlined.

"Visualization of the rete ridges shape within the dermal-epidermal junction"

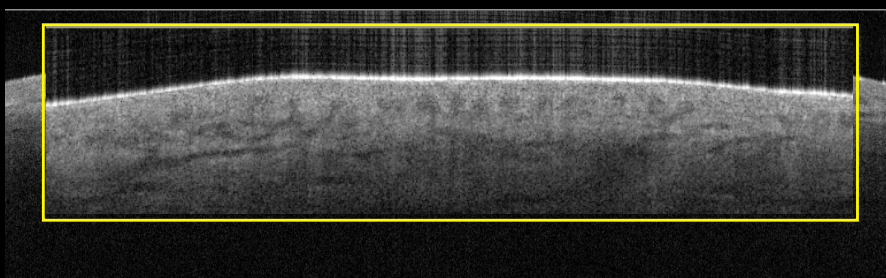


OCT

EPIDERMIS

- ✓ Rete ridges - well outlined.

"Visualization of the rete ridges shape within the dermal-epidermal junction"

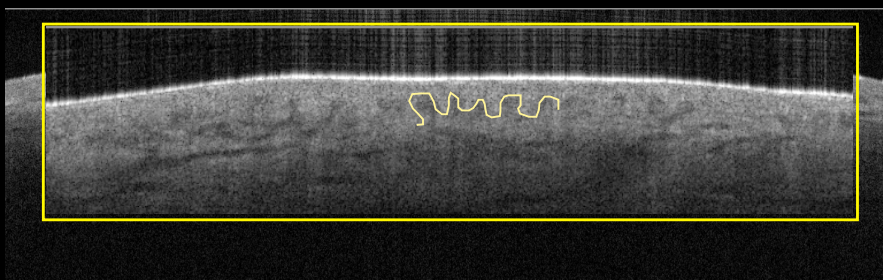


OCT

EPIDERMIS

- ✓ Rete ridges - well outlined.

"Visualization of the rete ridges shape within the dermal-epidermal junction"

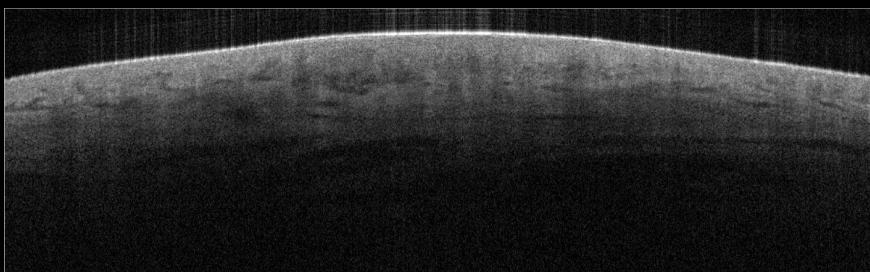


OCT

EPIDERMIS

- ✓ Rete ridges - ill outlined.

"No clear visualization of the rete ridges"

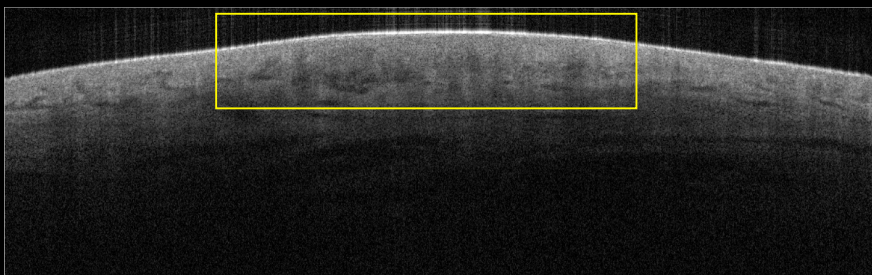


OCT

EPIDERMIS

✓ Rete ridges - ill outlined.

"No clear visualization of the rete ridges"

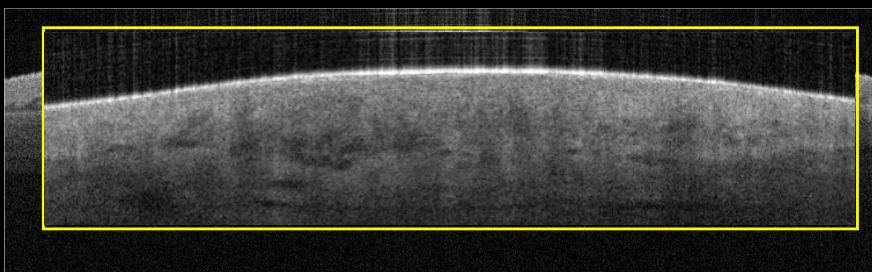


OCT

EPIDERMIS

✓ Rete ridges - ill outlined.

"No clear visualization of the rete ridges"



OCT

EPIDERMIS

DEJ

DERMIS

RETE RIDGES

- Well demarcated/ill demarcated
- Deformity

OCT

EPIDERMIS

✓ Rete ridges - deformity.

"Some degree of deformity in rete pegs shape;"

ELONGATED RETE PEGS

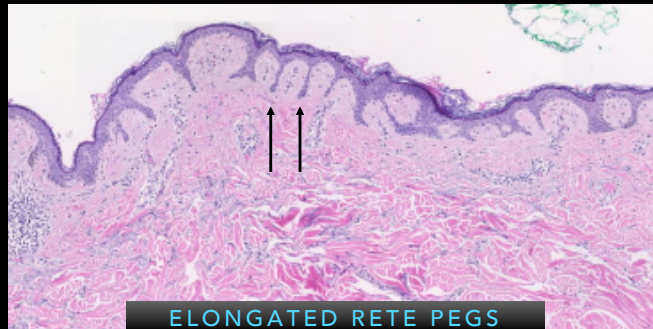
ENLARGEMENT

FUSION OF RETE PEGS

RECTIFICATION

OCT

EPIDERMIS



OCT

EPIDERMIS



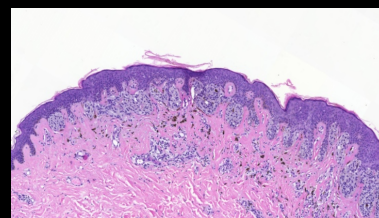
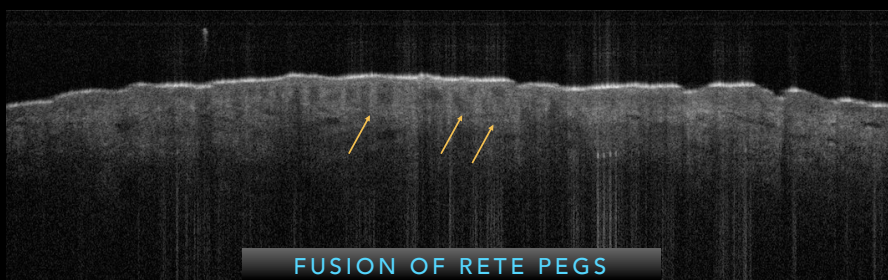
OCT

EPIDERMIS



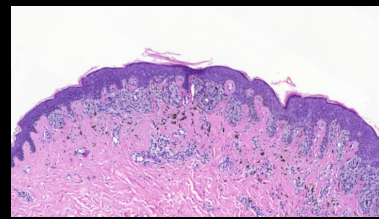
OCT

EPIDERMIS



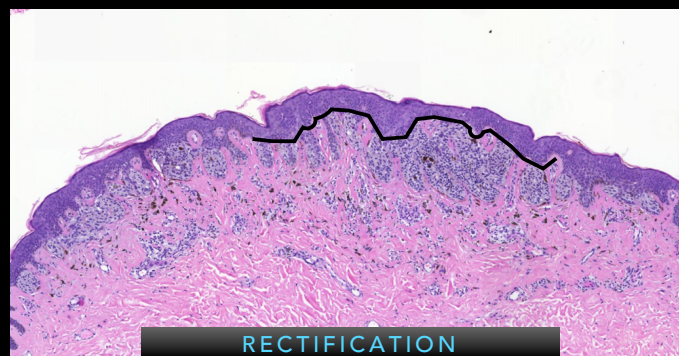
OCT

EPIDERMIS



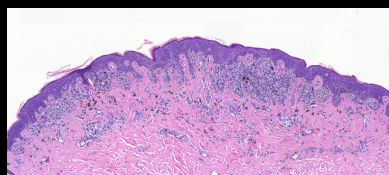
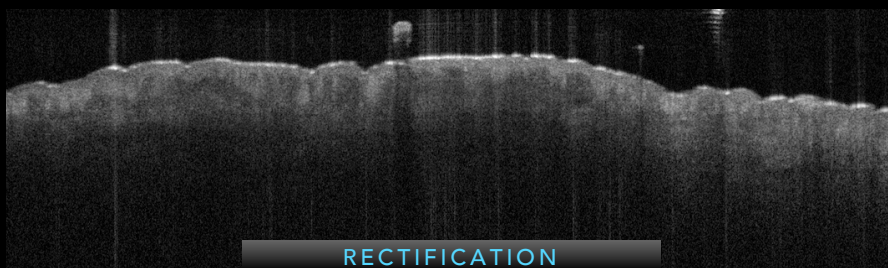
OCT

EPIDERMIS



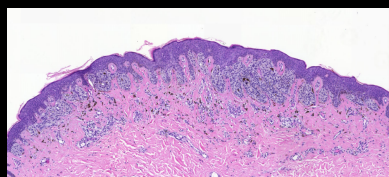
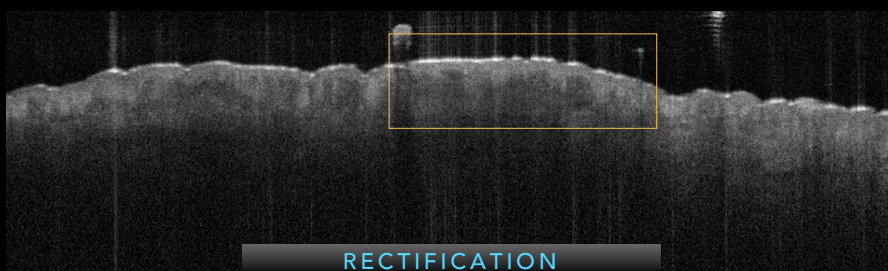
OCT

EPIDERMIS



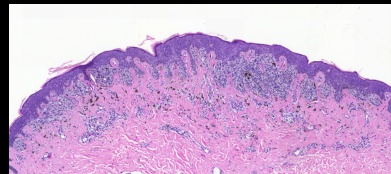
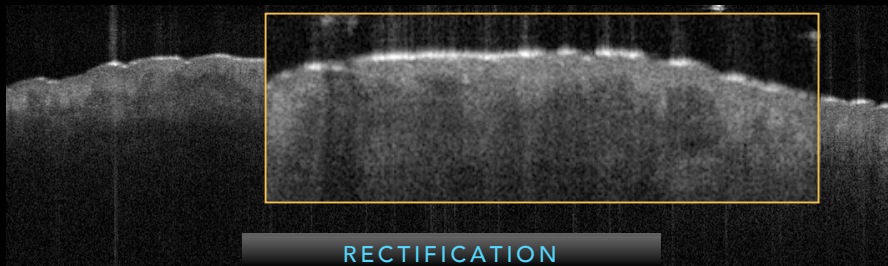
OCT

EPIDERMIS



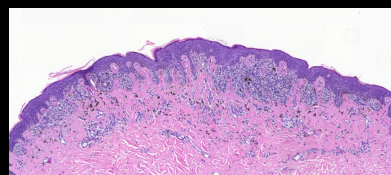
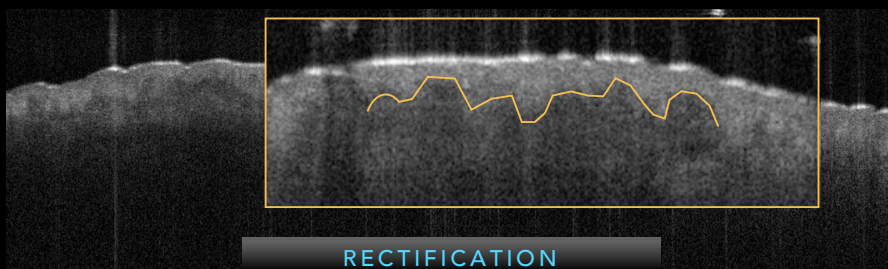
OCT

EPIDERMIS



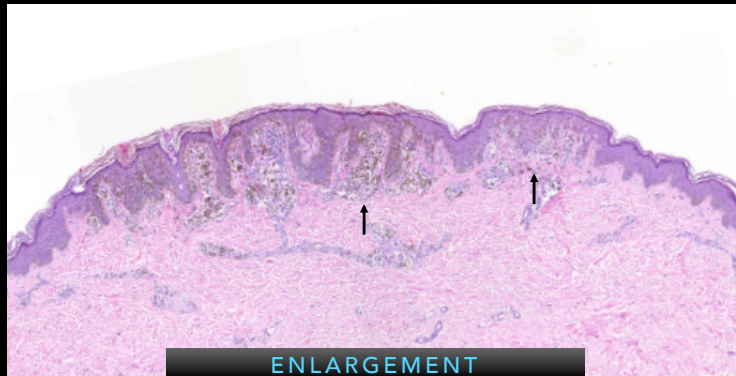
OCT

EPIDERMIS



OCT

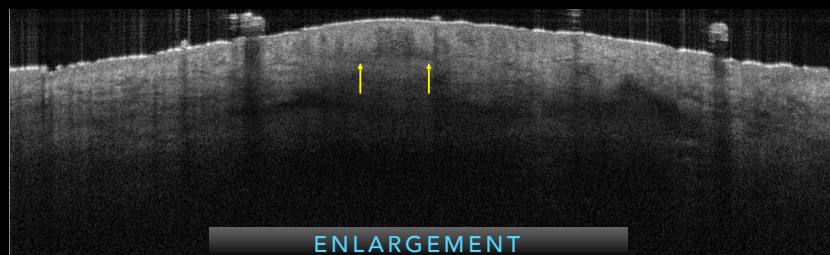
EPIDERMIS



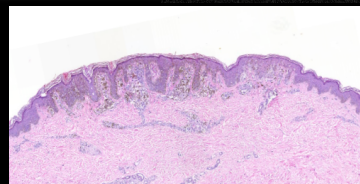
ENLARGEMENT

OCT

EPIDERMIS

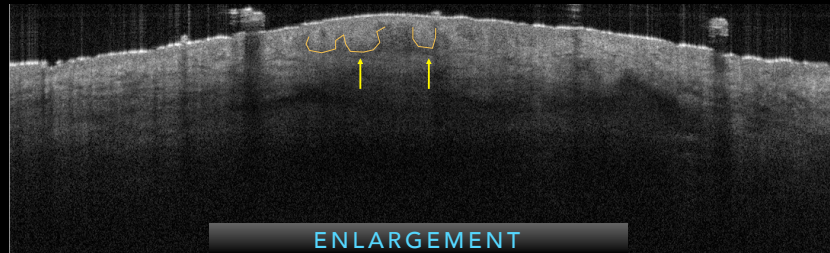


ENLARGEMENT

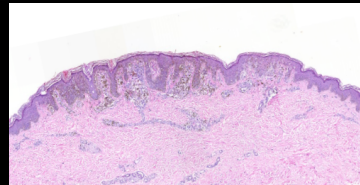


OCT

EPIDERMIS



ENLARGEMENT



OCT

EPIDERMIS

DERMAL EPIDERMAL INDEX

DEJ

JUNCTIONAL NESTS

DERMIS

OCT

EPIDERMIS

DERMAL EPIDERMAL INDEX

DEJ

JUNCTIONAL NESTS

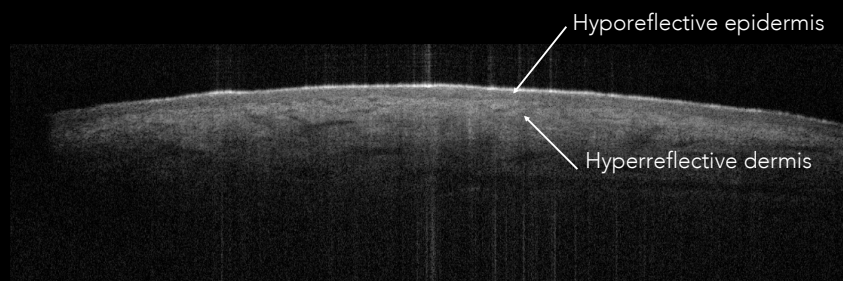
DERMIS

OCT

DEJ

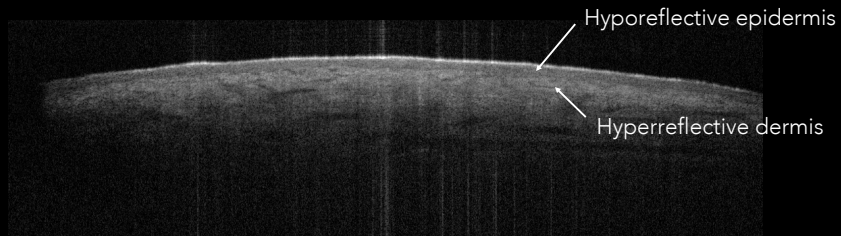
✓ Dermal-epidermal index

"Maintained: if maintenance of the habitual reflective properties in epidermis and dermis"

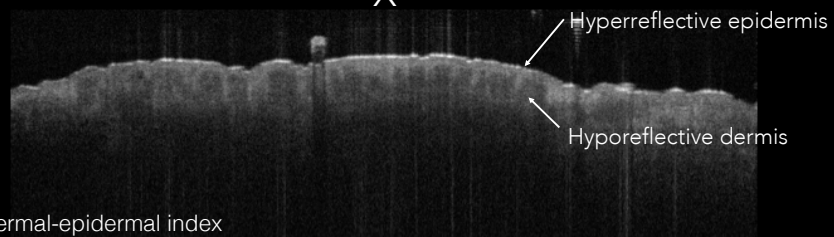


OCT

DEJ



X



✓ Dermal-epidermal index

"Loss: if the habitual reflective properties in epidermis and dermis is inverted or lost"

OCT

EPIDERMIS

DERMAL EPIDERMAL INDEX

DEJ

JUNCTIONAL NESTS

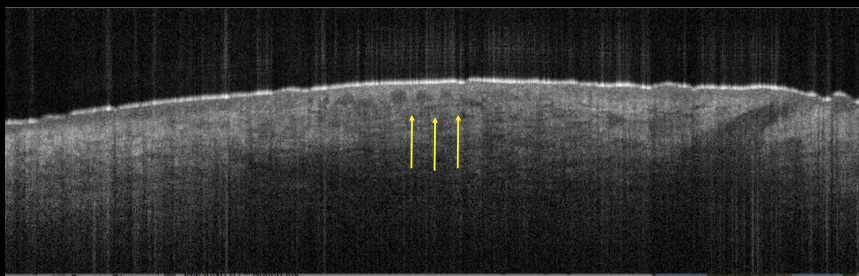
DERMIS

OCT

DEJ

✓ Presence of junctional nests

"Presence of hyporeflective round areas in DEJ"



OCT

EPIDERMIS

DEJ

DERMIS

COLLAGEN

HYPOREFLECTIVE BAND

ICICLE-LIKE STRUCTURES

DERMAL SHADOW

OCT

EPIDERMIS

DEJ

DERMIS

COLLAGEN

HYPOREFLECTIVE BAND

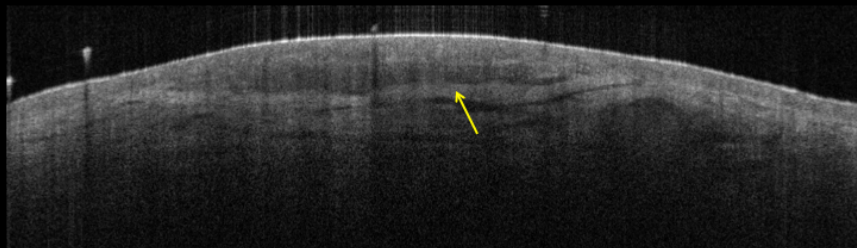
ICICLE-LIKE STRUCTURES

DERMAL SHADOW

OCT

DERMIS

- ✓ Collagen - hyperreflexive, well visualized.



OCT

EPIDERMIS

DEJ

DERMIS

COLLAGEN

HYPOREFLECTIVE BAND

ICICLE-LIKE STRUCTURES

DERMAL SHADOW

OCT

DERMIS

✓ Hyporeflexive homogeneous band

"Hyporeflexive homogeneous band in dermis parallel to epidermis close to DEJ, preserving the hyperreflexive collagen underneath"

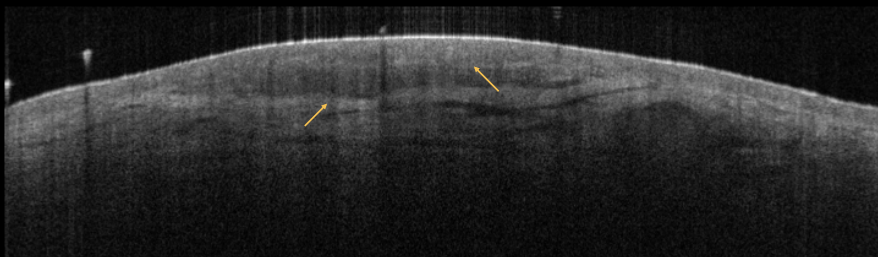


OCT

DERMIS

- ✓ Hyporeflective homogeneous band

"Hyporeflective homogeneous band in dermis parallel to epidermis close to DEJ, preserving the hyperreflective collagen underneath"



OCT

EPIDERMIS

DEJ

DERMIS

COLLAGEN

HYPOREFLECTIVE BAND

ICICLE-LIKE STRUCTURES

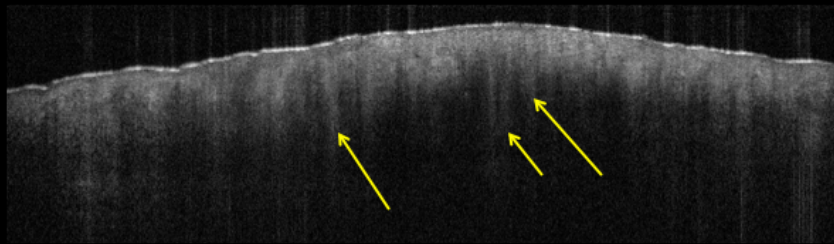
DERMAL SHADOW

OCT

DERMIS

✓ Icicle-like structures

"Structure previously described as hyperreflexive peaks reaching the reticular dermis"



OCT

EPIDERMIS

COLLAGEN

DEJ

HYPOREFLECTIVE BAND

ICICLE LIKE STRUCTURES

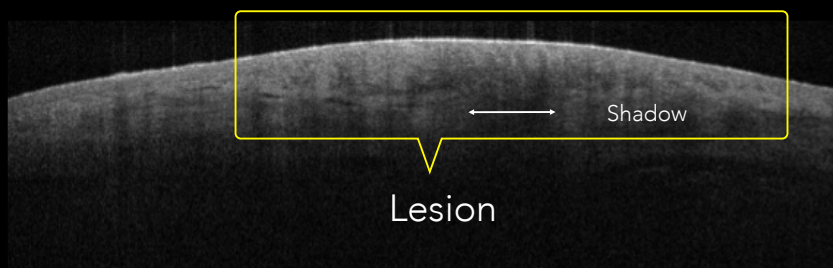
DERMIS

DERMAL SHADOW

OCT

DERMIS

- ✓ Focal dermal shadow
- "Areas in DEJ and dermis with focal loss of reflectivity"



FEATURES TABLE

FEATURES TABLE

Workbook7

100%

Home Layout Tables Charts SmartArt Formulas Data Review

Font: Calibri (Body), 12, A, A

Alignment: abc, Wrap Text

Number: General

Conditional Formatting

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	ID	Rete ridges	Dermal-epidermal index	elongated rete pegs	enlargement	fusion	epidermis rectification	icicle-like structures	shadow	junctional nests	Collagen - well visualized	Hiporeflexive band
2	2	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0
3	3	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0
4	4	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0
5	5	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0
6	6	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
7	7											
8	8											
9	9											
10	10											
11	11											
12	12											
13	13											
14	14											
15	15											
16	16											
17	17											
18	18											
19	19											
20	20											
21	21											
22	22											
23	23											
24	24											
25	25											
26	26											
27	27											
28	28											
29	29											
30	30											
31	31											
32	32											
33	33											

FEATURE IS VISUALIZED
NUMBER "1"

FEATURE IS NOT PRESENT
NUMBER "0"

Funding sources: None.

Conflicts of interest: None declared.

Presented as a poster at the American Society of Dermatopathology Annual Meeting in Chicago, Illinois, on November 6-9, 2014.

Correspondence to: Catherine G. Chung, MD, Department of Dermatology, HU17, Penn State Hershey Medical Center, 500 University Dr, PO Box 850, Hershey, PA 17033

E-mail: ccbung1@hmc.psu.edu

REFERENCES

1. Sellheyer K, Nelson P, Bergfeld WF. Nonspecific histopathological diagnoses: the impact of partial biopsy and the need for a consensus guideline. *JAMA Dermatol.* 2014;150(1):11-12.
2. Phelps RG, Lebwohl MG. Biopsy techniques: shave, punch, or excision? *JAMA Dermatol.* 2014;150(1):12-13.
3. Fernandez EM, Helm T, Ioffreda MD, Helm KF. The vanishing biopsy: the trend toward smaller specimens. *Cutis.* 2005;76:335-339.
4. Carag HR, Prieto VG, Yballe LS, Shea CR. Utility of step sections: demonstration of additional pathological findings in biopsy samples initially diagnosed as actinic keratosis. *Arch Dermatol.* 2000;136:471-475.
5. Ya-Xian Z, Suetake T, Tagami H. Number of cell layers of the stratum corneum in normal skin—relationship to the anatomical location on the body, age, sex, and physical parameters. *Arch Dermatol Res.* 1999;291:555-559.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2015.04.022>

Optical coherence tomography (OCT) features of nevi and melanomas and their association with intraepidermal or dermal involvement: A pilot study

To the Editor: Optical coherence tomography (OCT) was shown to be an useful tool for the fast evaluation of nonmelanocytic tumors of the skin.¹ There are few reports in the literature studying melanocytic lesions with OCT, with variable and sometimes contrasting results.^{2,3} A constant need for reducing costs and cosmetic concerns of unnecessary excisions of suspicious melanocytic lesions lead us to further investigate this new technology.⁴

We used OCT (Vivosight OCT Scanner, Michelson Diagnostics Ltd, Orpington, Kent, United Kingdom) to evaluate a total of 39 lesions: 19 melanomas (10 in situ and 9 invasive, with Breslow thickness <1 mm), 15 compound nevi, and 5 junctional nevi. No lesions from palms, soles, and mucosal areas were included because of the peculiarity of skin anatomy in these areas. Our first goal was to design a pattern of findings in melanocytic lesions on OCT. Secondly,

we aimed to explore the correlation between histopathology and OCT features through the evaluation of skin compartments, and to assess its significance in the diagnosis of melanoma.

One image sequence (60 per lesion) belonging to each case was selected for assessment. Two evaluators, an experienced dermatologist in imaging in dermatology (T. C. M. P. B.) and a radiologist (M. P. C.), independently analyzed the lesions regarding the OCT features. Eleven features present in the epidermis, dermoepidermal junction, and dermis were separately evaluated, including criteria previously identified in the literature for melanocytic lesions, and newly described features (Figs 1 and 2).^{3,5} Findings were finally analyzed by both evaluators for all lesions and binarized as present or absent in agreement.

The histopathology study first categorized melanocytic lesions as melanoma in situ, invasive melanoma, junctional nevus, or compound nevus. Anatomical compartment of tumor proliferation was reported as intraepidermal (for in situ melanoma and junctional nevi), and within the dermis (for invasive melanomas and compound nevi). Statistical analysis was carried out using software (SPSS, Release 20.0.0, IBM Corp, Armonk, NY). Absolute and relative frequencies were calculated. Fisher's exact test was used to evaluate the differences in OCT features between nevi and melanoma. The significance level was set at 5% ($P < .05$) (Table I).

The presence of shadows correlated significantly with in situ melanoma (8 in 10 cases, $P = .007$). Shadows and loss of bright collagen correlated with invasive melanoma, compared with compound nevi ($P = .002$ and $P < .001$). Hyporeflexive band was associated with compound nevi (80%), and less frequently found in melanomas (31.5%, $P = .007$).

Concerning the distinction between melanomas and nevi, the presence of dermal shadows and absence of bright collagen were the most relevant parameters to suggest malignancy. The lack of hyporeflexive bands on invasive melanomas represented a distinguishing feature from compound nevi.

To understand the value of OCT in the diagnosis of melanoma a larger population should be tested. We can hypothesize that OCT may help to define the tumor burden and eventual dermal infiltration of melanocytic tumors, which could influence the choice of surgical procedure between shaving or complete excision of clinically suspicious lesions. The study was approved by the institutional review board (Committee of Ethics in Research,

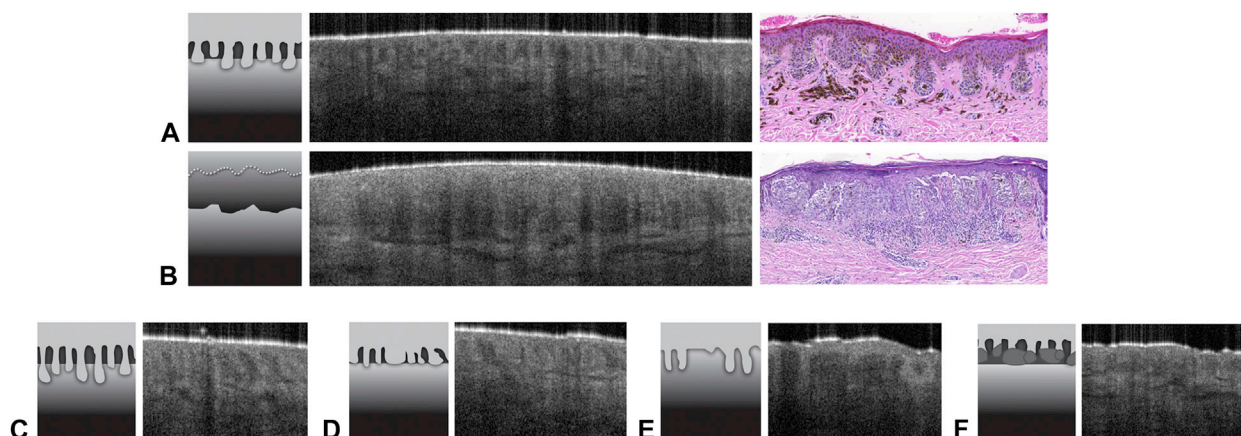


Fig 1. Optical coherence tomography (OCT) images, histopathology, and corresponding schematic images of the previously reported and new structures observed in the epidermis. **A**, Epidermis: junctional nevus with rete ridges pattern (finger-shaped appearance visualized within the dermoepidermal junction [DEJ]), histopathology (hematoxylin-eosin stain) corresponding to the OCT image. **B**, Melanoma in situ with absence of rete ridges pattern (not possible to visualize the papillae contour), histopathology (hematoxylin-eosin stain) of correspondent OCT image. Different aspects in rete ridges pattern: elongation (rete tips >2 times the epidermis thickness) (**C**) and enlargement (increase in size of epidermal tips >3 times the usual size) (**D**). **E**, Rectification (flattening of the epidermis followed by a hyporeflective area underneath). **F**, Fusion of rete pegs (fusion of epidermal tips characterized by circular or oval hyporeflective area at the DEJ). **A-D** and **F** are previously described features in the literature.^{3,5}

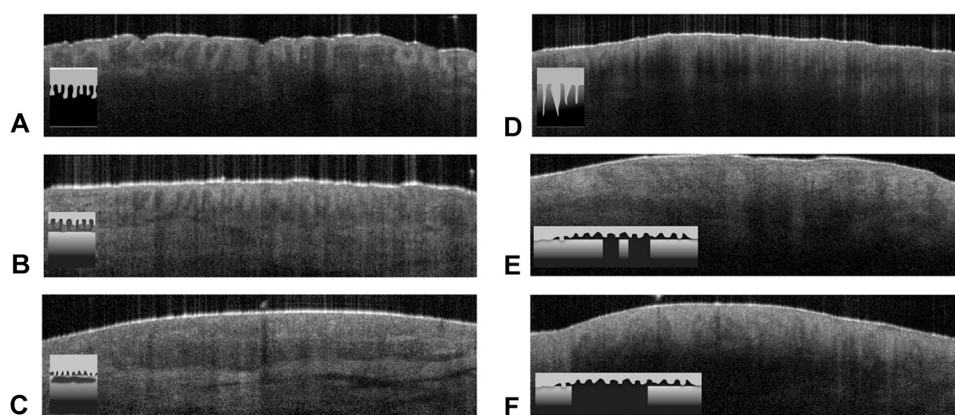


Fig 2. Optical coherence tomography images and corresponding schematic images of the previously reported and new structures observed in the dermoepidermal junction (DEJ) and dermis. **A**, DEJ, melanoma in situ: loss of normal dermoepidermal index (inversion of normal reflective properties of the skin with epidermis hyporeflective/dermis hyperreflective). **B**, Junctional nevus: clear visualization of junctional nests (hyporeflective rounded areas well demarcated localized in the apical areas of rete ridges). **C**, Dermis, compound nevus: hyporeflective band (hyporeflective homogeneous band in dermis parallel to epidermis close to DEJ, preserving the hyperreflective collagen underneath). **D**, Invasive melanoma: icicle-shaped structures (hyperreflective large vertical icicle-shaped structures reaching the reticular dermis with their peak aspect). **E** and **F**, Melanoma in situ and invasive melanoma: shadows (focal areas with complete loss of visualization of dermis). Collagen (dermis with its normal hyperreflectivity bundles between linear hyporeflective structures) can be observed clearly (**B** and **C**). **B** and **D** are already described features in literature.^{3,5}

Table I. Optical coherence tomography features in the different compartments of the skin and their distribution in melanomas and nevi

OCT feature	Melanomas (n = 19)		Nevi (n = 20)		P value*		
	In situ melanomas 10 (100%)	Invasive melanomas 9 (100%)	Junctional nevi 5 (100%)	Compound nevi 15 (100%)	Melanoma vs compound nevi	Invasive melanoma vs compound nevi	Junctional vs compound nevi
Epidermis							
Rete ridges	6 (60)	2 (22)	5 (100)	3 (20)	.271	1	.002 [†]
Elongation	7 (70)	4 (44)	3 (60)	3 (20)	.038 [†]	.356	.045 [†]
Fusion	5 (50)	4 (44)	3 (60)	4 (27)	.296	.412	.318
Enlargement	7 (70)	4 (44)	3 (60)	5 (33)	.185	.678	.105
Rectification	1 (10)	2 (22)	0 (0)	0 (0)	.238	.130	1
Dermoepidermal junction							
Loss of normal dermoepidermal index	4 (40)	6 (67)	0 (0)	7 (47)	1	.423	.112
Junctional nests	7 (70)	6 (67)	5 (100)	12 (80)	.697	.635	1
Dermis							
Shadows	8 (80)	8 (89)	0 (0)	3 (20)	<.001 [†]	.002 [†]	.748
Collagen	5 (50)	1 (11)	5 (100)	13 (87)	.002 [†]	<.001 [†]	.740
Hyporeflective band	3 (30)	3 (33)	0 (0)	12 (80)	.007 [†]	.036 [†]	.019 [†]
Icicle-shaped structures	0 (0)	3 (33)	0 (0)	2 (13)	1	.326	.136

OCT, Optical coherence tomography.

*For Fisher's exact test.

[†]Statistical significance.

AC Camargo Cancer Center) in September 2013 (registration number: 1767/13B).

Tatiana Cristina Moraes Pinto Blumetti, MD,^a Marcela Pecora Cohen, PhD,^b Elimar Elias Gomes, MD,^a Mariana Petaccia de Macedo, PhD,^c Maria Dirlei Ferreira de Souza Begnami, PhD,^c José Humberto Tavares Guerreiro Fregnani, PhD,^d João Pedreira Duprat, PhD,^a Giovanni Pellacani, MD,^e and Gisele Gargantini Rezze, PhD^a

Cutaneous Oncology,^a Imaging Diagnosis,^b and Pathology^c Departments, AC Camargo Cancer Center, São Paulo, Brazil; Barretos Cancer Hospital, Research and Teaching Institute, Brazil^d; and Dermatology Department, University of Modena and Reggio Emilia, Modena, Italy^e

Supported in part by Fundo de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo, SP, Brazil—grant 2011/19991-1. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Conflicts of interest: None declared.

Correspondence to: Tatiana Cristina Moraes Pinto Blumetti, MD, AC Camargo Cancer Center, Rua Professor Antonio Prudente, 211, São Paulo, Brazil 01509-900

E-mail: tatianadermato@gmail.com

REFERENCES

1. Welzel J. Optical coherence tomography in dermatology: a review. *Skin Res Technol*. 2001;7(1):1-9.
2. Gambichler T, Jaedicke V, Terras S. Optical coherence tomography in dermatology: technical and clinical aspects. *Arch Dermatol Res*. 2011;303(7):457-473.
3. Boone MA, Norrenberg S, Jemec GB, Del Marmol V. High-definition optical coherence tomography imaging of melanocytic lesions: a pilot study. *Arch Dermatol Res*. 2013;306(1):11-26.
4. Pellacani G, Pepe P, Casari A, Longo C. Reflectance confocal microscopy as a second-level examination in skin oncology improves diagnostic accuracy and saves unnecessary excisions: a longitudinal prospective study. *Br J Dermatol*. 2014;171(5):1044-1051.
5. Gambichler T, Regeniter P, Bechara FG, et al. Characterization of benign and malignant melanocytic skin lesions using optical coherence tomography in vivo. *J Am Acad Dermatol*. 2007;57(4):629-637.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2015.05.009>

The diagnostic accuracy of in vivo confocal microscopy in clinical practice

To the Editor: Since 2008, reflectance confocal microscopy (RCM) has been FDA approved “for review by physicians to assist in forming a clinical judgment.”¹ Even so, RCM has not been adopted for routine diagnosis in the United States, and its role in diagnosis has been mostly limited to a clinical research device. Barriers to its use include expense, lack of expertise in reading RCM images, and lack of

Apêndice 4 - Artigo 2 (carta de aceite)

From: British Journal of Dermatology

[<onbehalf+bjd+bad.org.uk@manuscriptcentral.com>](mailto:onbehalf+bjd+bad.org.uk@manuscriptcentral.com)

Date: 17 October 2016 at 9:00:27 PM AEDT

To: nigelgmaher@gmail.com

Subject: Accept - BJD-2016-1096.R2

Reply-To: bjd@bad.org.uk

Re: Melanoma diagnosis may be a pitfall for optical coherence tomography assessment of equivocal amelanotic or hypomelanotic skin lesions BJD-2016-1096.R2

Dear Dr Maher,

Thank you for submitting this paper to the British Journal of Dermatology. We are delighted to accept it for publication as Research Letter. There may still be some minor changes to make to your manuscript, should this be the case our technical team will liaise directly with you. After the final amendments are made we will send your paper to the publishers and you will then receive page proofs.

The unedited version of the accepted manuscript will shortly be published online in the 'Accepted Articles' section of our online library. 'Accepted Articles' are publicly available, citable by their Digital Object Identifier and indexed by PubMed. The 'Accepted Article' will be replaced by the definitive version of the paper further to technical editing, typesetting and proof correction. If for any reason you would prefer your paper not to be made available in unedited form, please contact John Caulfield (john@bad.org.uk) at the Editorial Office.

Yours sincerely,

Professor Alex Anstey

Editor

British Journal of Dermatology

British Journal of Dermatology

BAD House

4 Fitzroy Square

London

W1T 5HQ

Media Guidelines

If you are considering notifying the media of your research, we would appreciate it if you could adhere to the journal's media guidelines:

Title: *Melanoma diagnosis may be a pitfall for optical coherence tomography assessment of equivocal amelanotic or hypomelanotic skin lesions.*

Word Count: 1095 **Table Count:** 1

Figure Count: 1

Supporting Information: Tables S1-S2, Figs S1-S3.

Authors:

N.G. Maher ^{1, 2}

T.P. Blumetti ³

E.E. Gomes ³

H.M. Cheng ^{1, 2}

L. Satgunaseelan ^{1, 4}

S. Lo ^{1, 2}

G.G. Rezza ³

R.A. Scolyer ^{1, 2, 4}

P. Guitera ^{1, 2, 5}

Affiliations where work conducted:

1. Melanoma Institute Australia, Sydney, Australia

2. The University of Sydney, Sydney, Australia

3. A.C.Camargo Cancer Center, Cutaneous Oncology Department, São Paulo, SP, Brazil

4. Tissue Pathology and Diagnostic Oncology, Royal Prince Alfred Hospital, Sydney, Australia

5. Sydney Melanoma Diagnostic Centre, Royal Prince Alfred Hospital, Sydney, Australia

Conflicts of Interest: None declared.

Funding Sources: Dr Nigel G. Maher received an Australian Post-graduate Award from the University of Sydney for his Master of Philosophy degree, which helped in completing this research.

Corresponding author:

Associate Professor Pascale Guitera, Department of Dermatology, Sydney

Melanoma Diagnostic Centre, Royal Prince Alfred Hospital, University of

Sydney, Missenden Road, Camperdown, Sydney, New South Wales 2050,

Australia. E-mail: pascale.guitera@melanoma.org.au. Fax: +61 2 9954 9418 Phone: +61 2

99117200

Research Letter

Dear Editor, Amelanotic and hypomelanotic skin lesions can be difficult to diagnose clinically and dermoscopically.¹⁻³ Evidence is emerging that optical coherence tomography (OCT) can detect superficial basal cell carcinoma (sBCC) with good sensitivity (79-95.7%) and specificity (75.3-96%).⁴ Given that sBCC is a common problem⁴, and that it may be treated noninvasively⁵, the potential benefits from using OCT as an adjunct to clinical diagnosis are high. However, if OCT is used without histopathological confirmation in this setting, there is a risk that more clinically aggressive malignant pathology, such as amelanotic /hypomelanotic melanoma (AHM), may be misdiagnosed and left to progress if it is inadequately treated. Indeed, this research was prompted after experiencing a clinical case where a lesion had typical clinical-dermoscopic and OCT features for sBCC, but histopathology revealed an amelanotic melanoma.⁶

This study sought to determine whether there are OCT features that can help distinguish AHM from its other common, and often equivocal, clinical differential diagnoses.

We conducted a cross-sectional study of 88 patients who had an equivocal amelanotic or hypomelanotic skin lesion (pigmentation status defined by Menzies et al.¹), with a clinical differential diagnosis of AHM, and where the clinical probability of sBCC was considered ≤50%. The confidence value was determined by one experienced dermatologist (P.G.) using the dermoscopic features for sBCC described by Lallas et al.⁷ Patients were recruited between May 2014 and December 2015 from two dermatology skin cancer clinics located at the Melanoma Institute Australia, Sydney, Australia and AC Carmargo Cancer Center, São Paulo, Brazil. The research was conducted with Human Research Ethics Committee approval (St Vincents Hospital, Sydney, SVH14/134, SVH14/025; AC Carmargo Cancer Center, São Paulo, Ref:1767/13B).

Lesions were imaged with photography (Nikon DS300 – Australian site; Sony® Cyber Shot DSC-W290 – Brazilian site), polarized or non-polarized dermoscopy (Heine Delta 20 and Heine Delta 20 Plus, Heine Optotechnik, Herrsching, Germany – Australian site; DermLite®II Pro HR, 3Gen, LLC, Dana Point, CA, USA – Brazilian site) and OCT (VivoSight® OCT scanner, Michelson Diagnostics Ltd, Orpington, Kent, United Kingdom). In certain cases, more than one OCT image sequence was required to capture the entire lesion.

Following imaging, a biopsy or wide excision of the lesion, according to the standard of care, was taken for histopathological correlation.

OCT features, as described in Table S1 and Figure S1 (see Supporting Information), were blindly evaluated as either present or absent.

For analysis, histopathology diagnoses were grouped into 6 categories: benign melanocytic; AHM; basal cell carcinoma (BCC); actinic keratosis/Bowen's disease; squamous cell carcinoma; and inflammatory or other benign diagnoses. Statistical analysis was performed

using SPSS® software (IBM SPSS statistics for Windows, release 22.0.0, IBM Corp, Armonk, NY).

Univariate and multivariate forward stepwise (p value for entry to the model, 0.05) binomial logistic regression analyses of the OCT features, determined by a majority consensus between the three observers, was used to compare the OCT features of AHM to all other lesions.

The study population consisted of 47 males and 28 females, with mean patient age 63years (SD=12.4). The distribution of lesion sites included trunk ($n=36$), lower limb ($n=16$), upper limb ($n=18$) and head and neck ($n=18$). There were 13 AHMs, which included 7 with a Breslow thickness $<1\text{mm}$ (2 in-situ), and 6 with a Breslow thickness $\geq 1\text{mm}$. Table S2 (see Supporting Information) shows the histopathology categories according to lesion pigmentation.

All lesions had scores ≥ 0 using the high sensitivity-dermoscopic model for distinguishing malignant from nonmalignant lesions lacking significant pigment produced by Menzies et al.¹, which classed them as malignant.

The OCT features of icicles (OR 5.33) and dermal ovoid structures with dark borders (OR 0.11) were both significant ($p<0.05$) after univariate analysis for the diagnosis of AHM compared to other study lesions, with only the latter significant on multivariate analysis (OR 0.11). While DEJ disruption was commonly seen in AHM on OCT (10 out of 13 cases), it was also commonly seen in other non-melanoma skin lesions, and therefore lacked specificity.

The limited number of significant OCT features to help identify AHM was disappointing but expected, given that OCT only provides an architectural, superficial view of a skin lesion, but does not offer cellular resolution (which means its role alone in the diagnosis of melanoma is not suitable, as opposed to BCC).

Table 1. Kappa statistics showing interrater agreements (Cohen kappa) and combined interrater agreements (Fleiss kappa) of the optical coherence tomography (OCT) variables evaluated in the study population. Raters 1 and 2 were experienced OCT raters, while Rater 3 was a trained OCT rater.

Variable	Rater 1-2	Rater 1-3	Rater 2-3	Combined (95% CI)
Epid thick DB	0.52	0.75	0.69	0.64 (0.52, 0.76)
Dermal ovoid DB	0.64	0.67	0.49	0.59 (0.47, 0.71)
RR fusion	0.39	0.66	0.66	0.56 (0.44, 0.68)
Black area	0.63	0.52	0.45	0.54 (0.42, 0.66)
RR	0.71	0.40	0.36	0.45 (0.33, 0.57)
Surface disrupt	0.37	0.47	0.39	0.41 (0.29, 0.53)
RR elongation	0.49	0.55	-0.02	0.36 (0.24, 0.48)
Icicles	0.51	0.19	0.29	0.33 (0.21, 0.45)
Junctional nests	0.73	0.16	0.20	0.32 (0.20, 0.44)
RR enlargement	0.39	0.31	-0.02	0.27 (0.15, 0.39)
Dermal ovoid	0.56	0.22	0.17	0.24 (0.12, 0.36)
Peritumor bright	0.52	0.14	0.12	0.24 (0.12, 0.36)
Hyperkeratosis	0.21	0.15	0.30	0.19 (0.07, 0.31)
Epid thickening	0.33	0.14	0.11	0.18 (0.06, 0.30)
Vessels	0.19	0.09	0.31	0.15 (0.03, 0.27)
Hypo band derm	0.49	-0.03	-0.02	0.15 (0.03, 0.27)
Derm shadows	0.21	-0.09	0.22	0.13 (0.01, 0.25)
DEJ disrupt	0.26	0.21	0.11	0.08 (-0.05, 0.20)
Fish shoal	0.06	0.15	0.32	0.07 (-0.05, 0.19)
Loss DEJ ind	-0.02	0.27	-0.07	0.04 (-0.08, 0.16)
Collagen	0.11	0.05	0.32	0.02 (-0.10, 0.14)
Irreg budding	-0.02	-0.02	0.13	0.02 (-0.10, 0.14)
RR effacement	\$	\$	#	0.00 (-0.12, 0.12)

Study variable abbreviations defined in Table S1. Notes:

Complete agreement (but statistic not computed as feature not present in any cases); \$ Statistic not computed as feature not present in any cases by a rater.

Table 1 shows the estimated inter-observer agreements for each of the OCT variables evaluated. More than one half of the features evaluated demonstrated weak or poor inter-rater agreement between the combined rater assessments (17 features), and between the experienced raters (12 features) ($\kappa \leq 0.40$). This could indicate that either more training was required prior to assessments, certain variables are ambiguous to interpret, the subjectivity of dichotomous assessment of variables over a large sequence of images, and

discrepancies between the 6mm diameter scanned area of the VivoSight® OCT scanner and lesions smaller than this size, where uninvolved skin was also included in the image.

Given the significance of inferior dark borders to hyporeflective structures on OCT for sBCC diagnosis⁶, we also reviewed the OCT images of all AHM unblinded, and found 3 AHM cases with prominent dark borders at the dermo-epidermal junction (DEJ) with or without epidermal hyporeflective thickening (Fig. 1A-1H), not withstanding that after blinded interrater consensus there was only 1 AHM that had both of these features. In each of these 3 cases, the dark borders were present in 3 or more consecutive OCT images, however were not as well defined as the dark borders often are in BCC, or broadly linked over multiple images as they often are in sBCC (Fig. S2; see Supporting Information).

We also found black (areflective) streaks in another AHM case (Fig. 1I-1J), which may resemble bullous diseases on OCT.⁸

We were able to retrieve the histopathology slides of 12 of the 13 AHM cases for correlation. From the cases with prominent dark borders at the DEJ, these showed patchy areas of dermal fibrosis and associated inflammation, which may represent the histological correlate of the OCT feature of prominent dark borders along the DEJ, but this was not certain. From the case with black streaks in the epidermis and DEJ region, this correlated with clefting on histology.

In conclusion, while OCT has been useful in diagnosing BCC, this study highlights that clinicians must remain cautious about using OCT to assist noninvasive diagnosis of clinically uncertain amelanotic or hypomelanotic skin lesions because some OCT features are non-specific, and overlap with AHM. A biopsy should strongly be considered for all lesions where the clinical-dermoscopy confidence for a sBCC is $\leq 50\%$, even in the presence of reassuring OCT features for BCC. However, further studies with larger numbers of AHM are required, before this conclusion can strongly be made.

Acknowledgments

We are indebted to Michelle Avramidis for her assistance with photography used in this study.

References⁹⁻¹⁵

1. Menzies S, Kreusch J, Byth K, et al. Dermoscopic evaluation of amelanotic and hypomelanotic melanoma. *Arch Dermatol*. 2008;**144**:1120-7.
2. Pizzichetta M, Talamini R, Stanganelli I, et al. Amelanotic/hypomelanotic melanoma: clinical and dermoscopic features. *Br J Dermatol*. 2004;**150**:1117-24.
3. Jaimes N, Braun R, Thomas L, et al. Clinical and dermoscopic characteristics of amelanotic melanomas that are not of the nodular subtype. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2012;**26**:591-6.

4. Cheng H, Guitera P. Systematic review of optical coherence tomography usage in the diagnosis and management of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol*. 2015;**173**:1371-80.
5. Geisse J, Caro I, Lindholm J, et al. Imiquimod 5% cream for the treatment of superficial basal cell carcinoma: results from two phase III, randomized, vehicle-controlled studies. *J Am Acad Dermatol*. 2004;**50**:722-33.
6. Cheng H, Lo S, Scolyer R, et al. Accuracy of optical coherence tomography for the diagnosis of superficial basal cell carcinoma - a prospective, consecutive, cohort study of 168 cases. *Br J Dermatol*. 2016. Epub May 5. doi: 10.1111/bjd.14714.
7. Lallas A, Tzellos T, Kyrgidis A, et al. Accuracy of dermoscopic criteria for discriminating superficial from other subtypes of basal cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*. 2014;**70**:303-11.
8. Mogensen M, Morsy H, Numberg B, et al. Optical coherence tomography imaging of bullous diseases. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2008;**22**:1458-64.
9. Moraes Pinto Blumetti T, Cohen M, Gomes E, et al. Optical coherence tomography (OCT) features of nevi and melanomas and their association with intraepidermal or dermal involvement: A pilot study. *J Am Acad Dermatol*. 2015;**73**:315-7.
10. Ulrich M, von Braunmuehl T, Kurzen H, et al. The sensitivity and specificity of optical coherence tomography for the assisted diagnosis of nonpigmented basal cell carcinoma: an observational study. *Br J Dermatol*. 2015;**173**:428-35.
11. Wahrlich C, Alawi S, Batz S, et al. Assessment of a scoring system for Basal Cell Carcinoma with multi-beam optical coherence tomography. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015;**29**:1562-9.
12. Gambichler T, Orlikov A, Vasa R, et al. In vivo optical coherence tomography of basal cell carcinoma. *J Dermatol Sci*. 2007;**45**:167-73.
13. Meekings A, Mckenzie G, Michelson Diagnostics. Vivosight ® OCT Education Centre. 2015; Available from: <http://www.vivosightatlas.com/> (Accessed 14 October 2015).
14. Boone M, Marneffe A, Suppa M, et al. High-definition optical coherence tomography algorithm for the discrimination of actinic keratosis from normal skin and from squamous cell carcinoma. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015;**29**:1606-15.
15. Picard A, Long-Mira E, Chuah S, et al. Interest of high-definition optical coherent tomography (HD-OCT) for non-invasive imaging of dermatofibroma: a pilot study. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016;**30**:485-7.

Supporting Information

Figure Legends

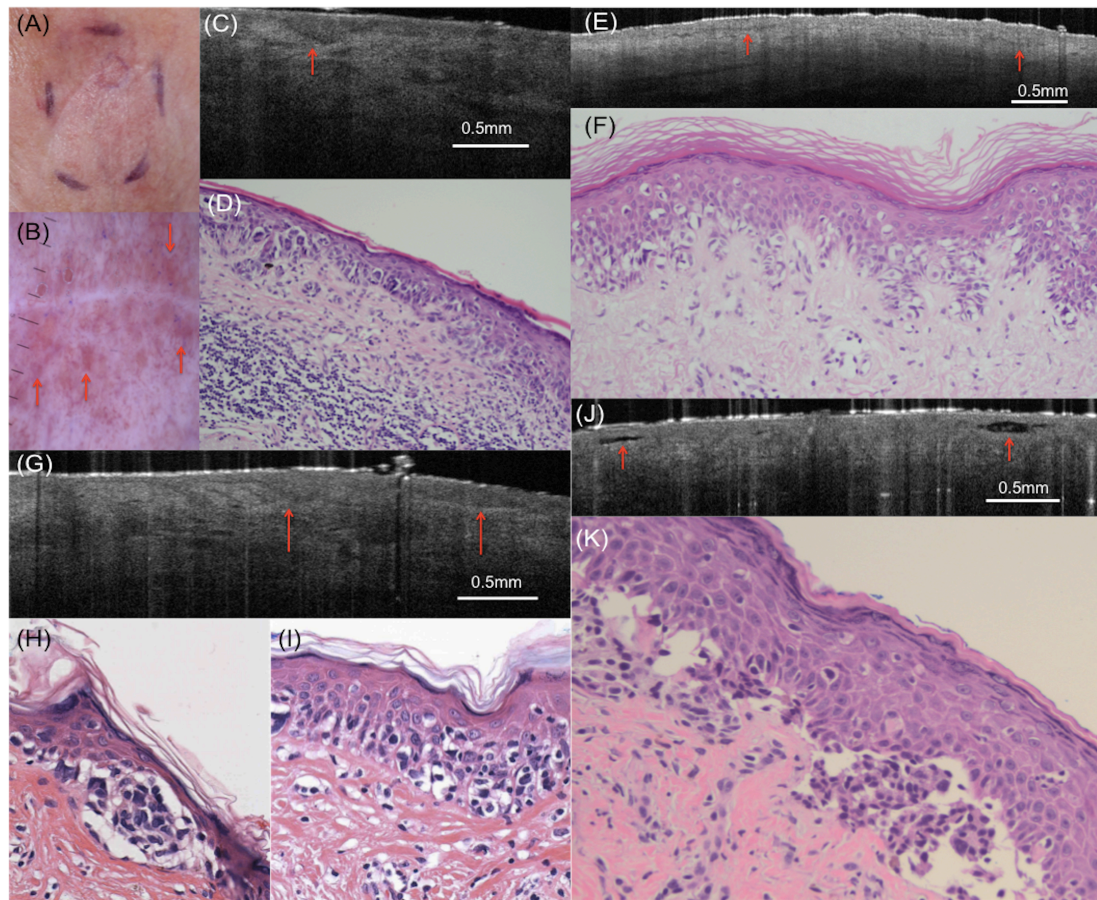


Figure 1. Case 1 (A) Clinical image of a scar site in the region of a previously surgically treated melanoma on the cheek of a 76-year-old female, with pen marks delineating the area of recurrence. (B) A polarized dermoscopy image (Heine Delta 20 Plus, Heine Optotechnik, Herrsching, Germany) reveals a central scar with linear irregular vessels and milky red pink areas (red arrows). (C) OCT image demonstrating epidermal hyporeflexive thickening with a dark border on the inferior margin (red arrow). (D) Histopathology (haematoxylin and eosin stain, x200 original magnification) revealed a 0.45mm lentigo maligna melanoma. Case 2 (E) An amelanotic melanoma with some prominent dark borders at the dermo-epidermal junction (DEJ) on OCT (red arrows). (F) Histopathology (haematoxylin and eosin stain, x200 original magnification) revealed an in-situ melanoma, with florid lentiginous proliferation of atypical melanocytes along the DEJ. Case 3 (G) A partially pigmented (<25%) melanoma with some epidermal thickening and prominent dark borders at the DEJ on OCT (red arrows). (H and I) Histopathology (haematoxylin and eosin stain, x400 original magnification) revealed an in-situ melanoma. Case 4 (J) An amelanotic melanoma with areflective (black) streaks through the epidermis and dermo-epidermal junction on OCT (red arrows). (K) Histopathology (haematoxylin and eosin stain, x200 original magnification) revealed a Breslow thickness 0.6mm superficial spreading melanoma with clefting.

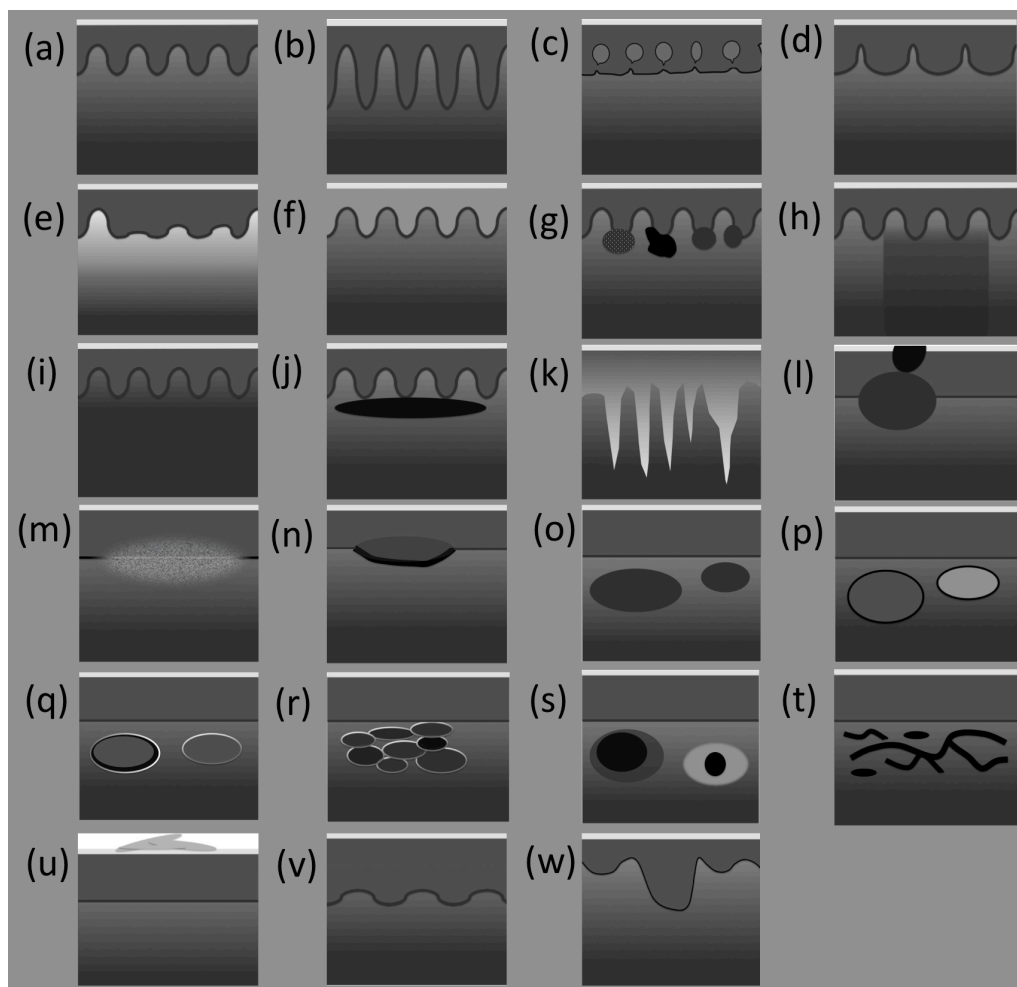


Figure S1. Schematic illustration of the OCT features used in this study (a-w). Detailed description of these features is found in Table S1.

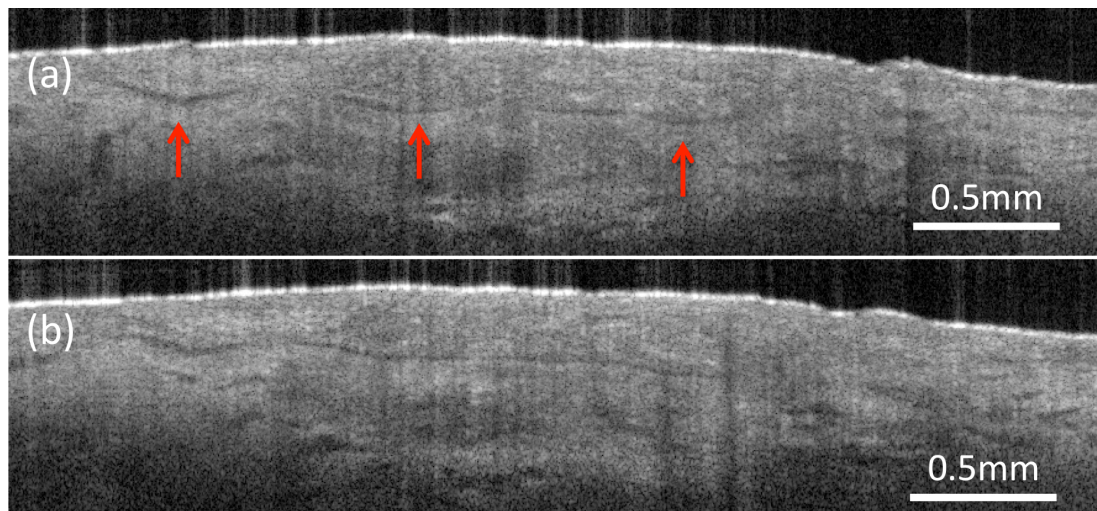


Figure S2. (a) A superficial basal cell carcinoma showing multiple, well defined, curvilinear dark borders (red arrows) inferior to hyporeflective epidermal thickening on OCT, with the consecutive OCT image in the sequence (b) showing the dark borders broadly linked.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Supplementary tables

Table S1. Optical coherence tomography characteristics evaluated in the study. Bolded features were the melanocytic features considered, and italicized features were the basal cell carcinoma features considered. OCT analysis was based on the OCT features described for melanocytic lesions by Blumetti *et al.*⁹ (bolded), and for BCC in several studies¹⁰⁻¹² (italicized). Other features described for AK, SCC, and dermatofibroma were based on the Vivosight® Education Centre descriptions¹³, and also on characteristics described for these lesions from high definition OCT studies^{14, 15} when it was thought they could be detected with the VivoSight® OCT scanner (Michelson Diagnostics Ltd, Orpington, Kent, United Kingdom) used in this study.

OCT Variable (Abbreviation)	Description	Illustration
1. Rete ridges (RR)	Rete ridge pattern clearly seen	Figure 1a
2. Rete ridge elongation (RR elongation)	Rete ridges >2 times the size of the epidermal thickness	Figure 1b
3. Rete ridge fusion (RR fusion)	Fusion of epidermal tips characterized by a circular or oval hyporeflective area at the DEJ	Figure 1c
4. Rete ridge enlargement (RR enlargement)	Rete ridge width >3 times the usual size	Figure 1d
5. Rete ridge effacement (RR effacement)	Flattening of the epidermis with a hyporeflective area underneath	Figure 1e
6. Loss of normal DEJ index (Loss DEJ ind)	Inversion of normal index, with normal having an epidermis hyporeflective compared to the dermis	Figure 1f
7. Junctional nests (Junctional nests)	Small hyporeflective well demarcated round structures located at the apical areas of the rete ridges	Figure 1g
8. Dermal shadows (Derm shadows)	Focal areas of complete loss of dermal reflectivity in 3 consecutive images	Figure 1h
9. Collagen hyperreflective (Collagen)	Hyperreflective bundles between linear hyporeflective structures	Figure 1i
10. Hyporeflective band in dermis (Hypo band dermis)	Hyporeflective homogenous band in the upper dermis close to DEJ, preserving hyperreflective collagen underneath.	Figure 1j
11. Icicle-shaped structures (Icicles)	Large vertical icicle-shaped structures reaching the reticular dermis at their peak aspect	Figure 1k
12. <i>Epidermal surface disruption in the area of hyporeflective structures</i> (Surface disrupt)	Change in the epidermal surface contour with hyporeflective area underneath	Figure 1l
13. <i>DEJ disruption</i> (DEJ disrupt)	Loss of DEJ visualization in 3 consecutive images	Figure 1m
14. <i>Epidermal hyporeflective thickening with dark borders on inferior margin</i> (Epid thick DB)	Epidermal lobular thickening with dark borders/clefting focused on inferior aspect	Figure 1n
15. <i>Dermal ovoid structures</i> (Dermal ovoid)	Ovoid hyporeflective areas, either poor or well-defined in the dermis, without connection to the epidermis. May have bright centres	Figure 1o
16. <i>Dermal ovoid structures with dark borders</i> (Dermal ovoid DB)	Same as dermal ovoid structures, but also with dark borders – either completely or partially	Figure 1p
17. <i>Peritumoral bright stroma</i> (Peritumor bright)	Strong hyperreflective outline surrounding dermal ovoid structures	Figure 1q
18. <i>Fish shoal/Bunch of grapes</i> (Fish shoal)	Small aggregates of hyporeflective round-ovoid areas in the dermis, which may be in a hyperreflective stroma, or connected by hyperreflective bands	Figure 1r

19. <i>Black area or cyst appearance</i> (Black area)	Well demarcated black areas within hyporeflective/ovoid structures	Figure 1s
20. <i>Atypical arching or increased frequency of prominent vessels in dermis</i> (Vessels)	Vessels with atypical morphology, increased number or prominent dilatation	Figure 1t
21. Hyperkeratosis (Hyperkeratosis)	Focal or diffuse hyperreflective layering in excess of the normal thin hyperreflective stratum corneum	Figure 1u
22. Atypical epidermal thickening (Epid thickening)	Atypical area of heterogeneous textured epidermal thickening, constrained by the basement membrane	Figure 1v
23. Irregular budding of epithelium into dermis (Irreg budding)	Bulges of epidermis into the dermis, out of context to the normal DEJ undulation	Figure 1w

Table S2. Lesion histopathology according to lesion pigmentation appearance. The group of pathologies labeled ‘inflammatory/other benign’ included dermatofibromas (n=6), lichenoid inflammation or lichen planus-like keratoses (n=4), other inflammation (n=3), scar (n=1), foreign body reaction (n=1), and haemangioma (n=1).

Histopathology	Amelanotic	<25% Pigmented	Hypopig- mented	Total (%)
Naevi/Lentigo	3	1	2	6 (7)
Melanoma	7	4	2	13 (15)
Superficial BCC	17	5	2	24 (27)
Other BCC	12	5	3	20 (23)
Inflammatory/Other Benign	12	2	2	16 (18)
AK/Bowen's	8	0	0	8 (9)
SCC	1	0	0	1 (1)
TOTALS	60	17	11	88 (100)

Abbreviations: BCC, basal cell carcinoma; AK, actinic keratosis; SCC, squamous cell carcinoma.

Apêndice 5 - Figuras descritivas de estruturas observadas na Tomografia de coerência óptica

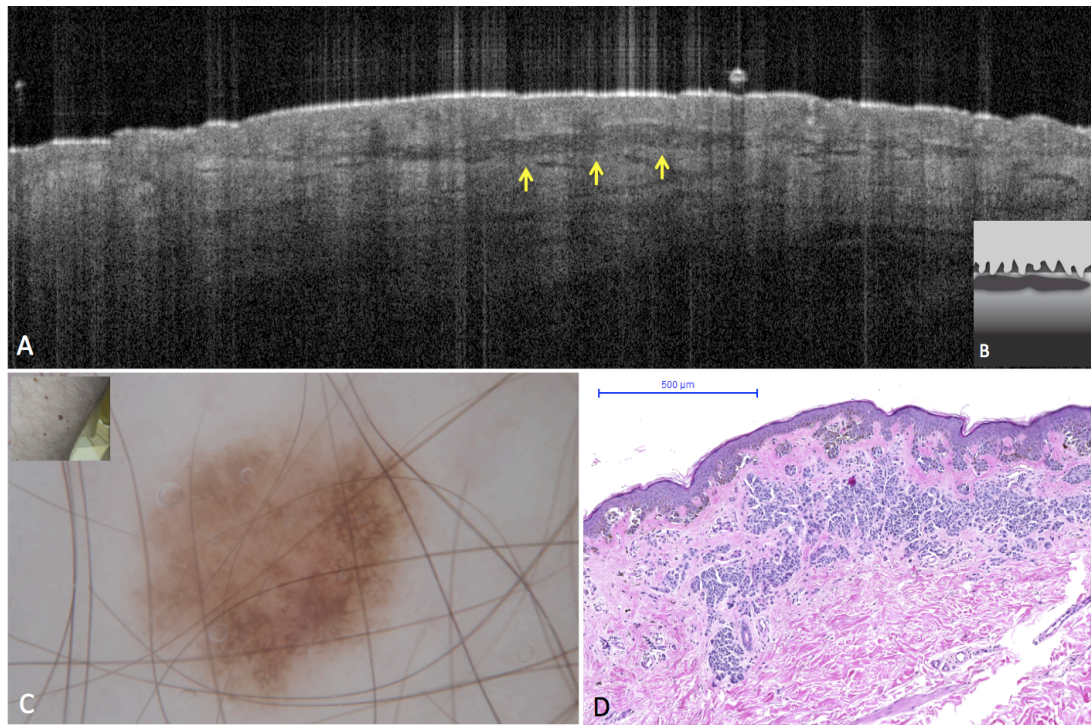


Figura: Nevo composto displásico. A. Imagem de tomografia de coerência óptica de lesão melanocítica pigmentada na coxa direita. Nota-se na seta amarela a presença de uma faixa hiporreflexa na derme que corresponde a Banda Hiporreflexa (desenho esquemático em “B”). C. Foto da dermatoscopia e lesão clínica. D. Imagem panorâmica de histopatologia da lesão (H&E 40x) mostrando aglomerado de células névicas na derme.

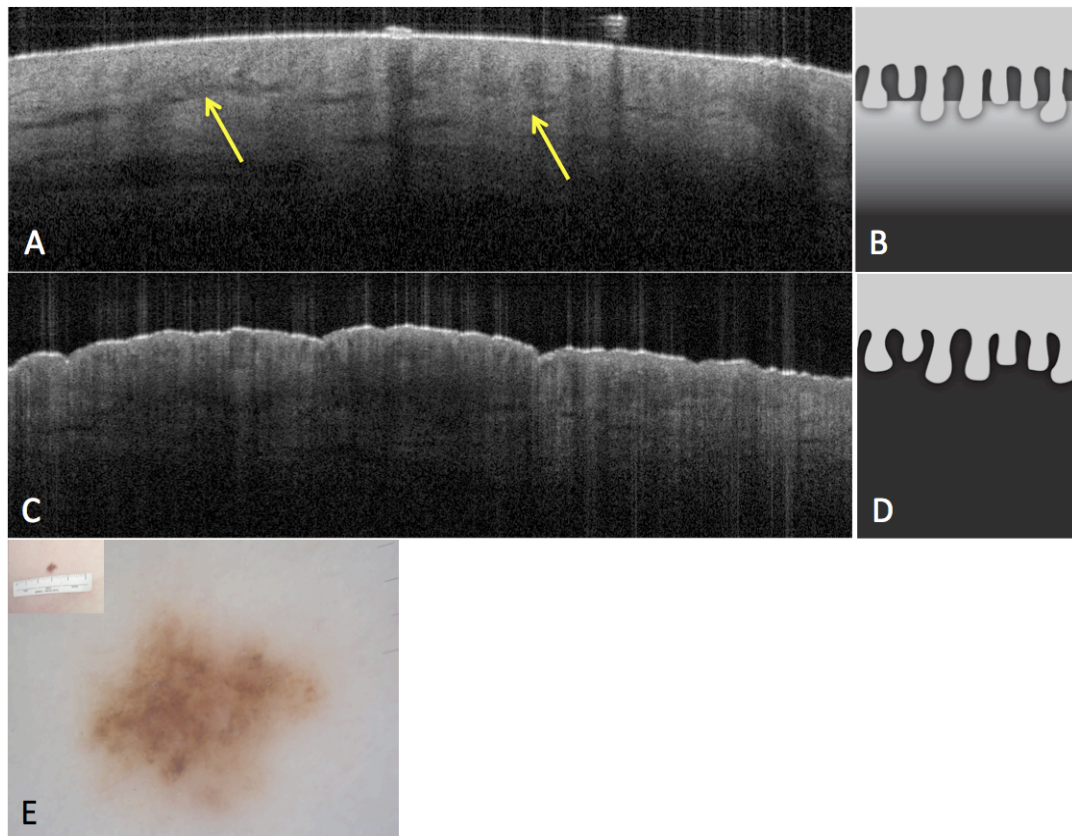


Figura: Nevo composto. Lesão melanocítica pigmentada no torax lateral. A. Imagem da tomografia de coerência óptica: seta amarela ilustra imagem das cristas epidérmicas. C. Imagem da tomografia de coerência óptica indica exemplo de inversão dermo-epidérmica. B. Desenho esquemático de cristas epidérmicas evidentes pela OCT. D. Desenho esquemático de inversão dermo-epidérmica pela OCT. E. Imagem de dermatoscopia e clínica da lesão estudada.

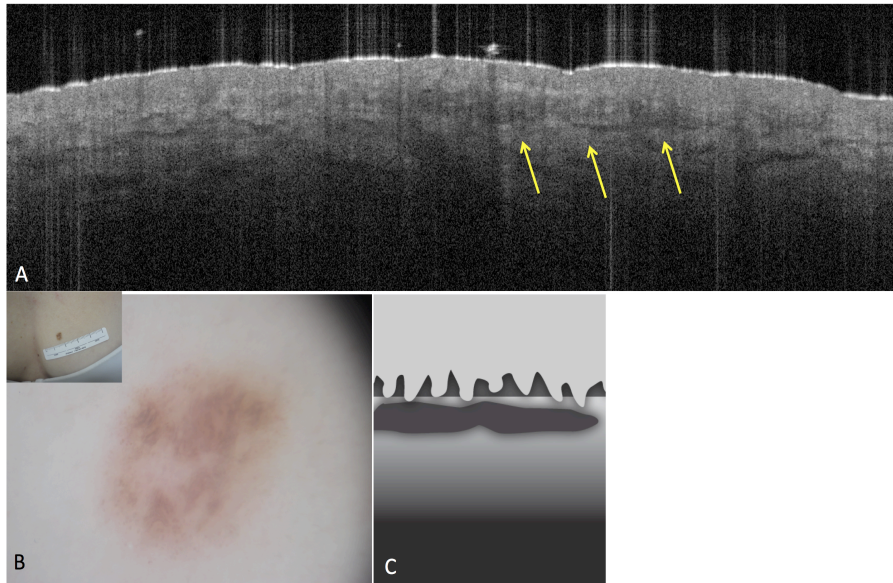


Figura: Tomografia de coerência óptica de nevo composto na mama esquerda. A. Imagem de OCT ilustrando banda hiporreflexa estendendo-se por toda a lesão documentada (desenho esquemático em “C”). B ilustra imagem clínica e dermatoscopia digital.

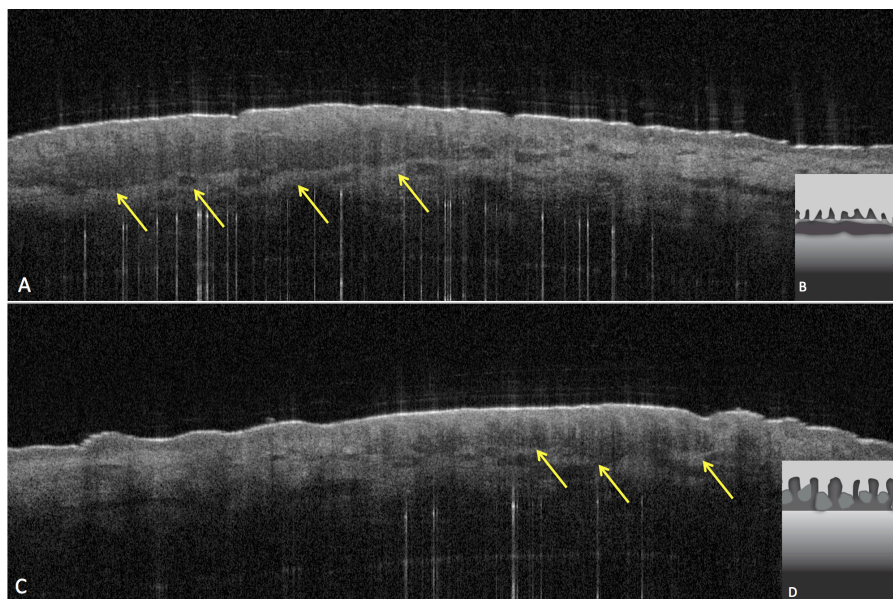


Figura: Exemplos de estruturas observadas em lesões melanocíticas benignas. “A” corresponde à um nevo composto aonde a banda hiporreflexa (faixa escura abaixo da epiderme (setas amarelas). “C” corresponde à um nevo juncional e ilustra ninhos na junção dermo-epidérmica observados à OCT como estruturas arredondadas hiporreflexas na junção dermo-epidérmica. B e D correspondem à desenhos esquemáticos das lesões documentadas.

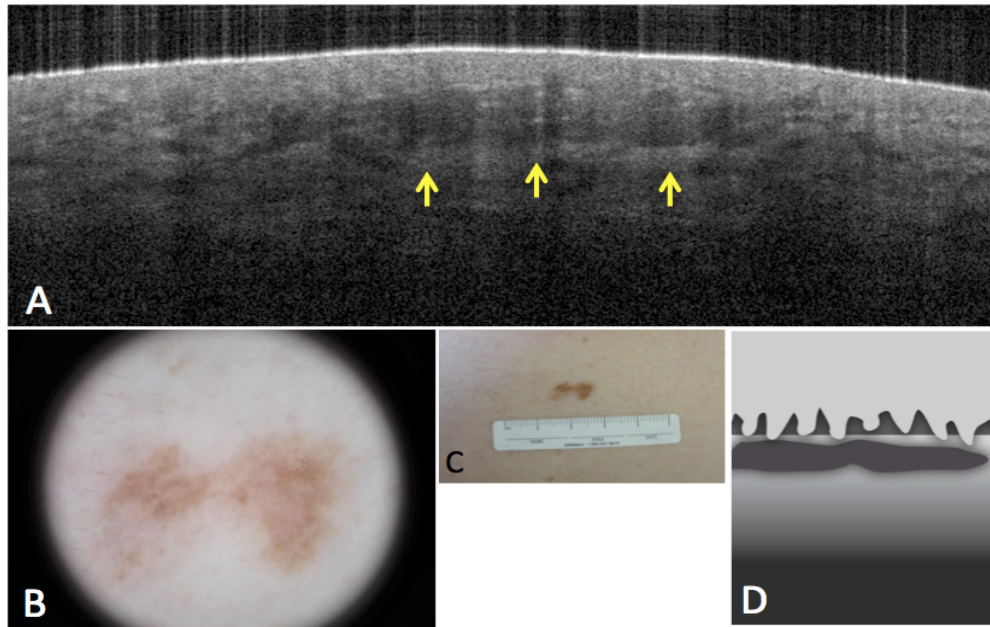


Figura: Melanoma *in situ* sobre nevo lombar. A. Imagem da tomografia de coerência óptica: setas amarelas ilustram faixa hiporreflexa na derme compatível com ninhos de células névicas na derme (desenho esquemático em “D”) B. E C. Imagem clínica e dermatoscopia da lesão estudada.

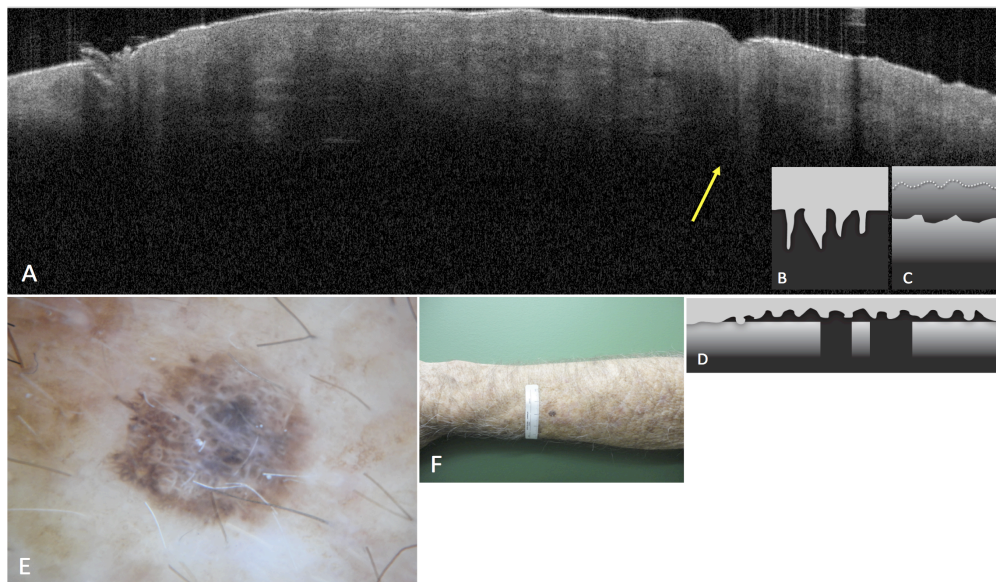


Figura: Tomografia de coerência óptica de melanoma *in situ* no antebraço direito. A. Imagem de OCT ilustrando “icicles” à esquerda (desenho esquemático em “B”), perda da visualização das cristas epidérmicas (desenho em “C”) e sombras (desenho em ‘D’). E e F ilustram respectivamente imagem de dermatoscopia digital e foto clínica.

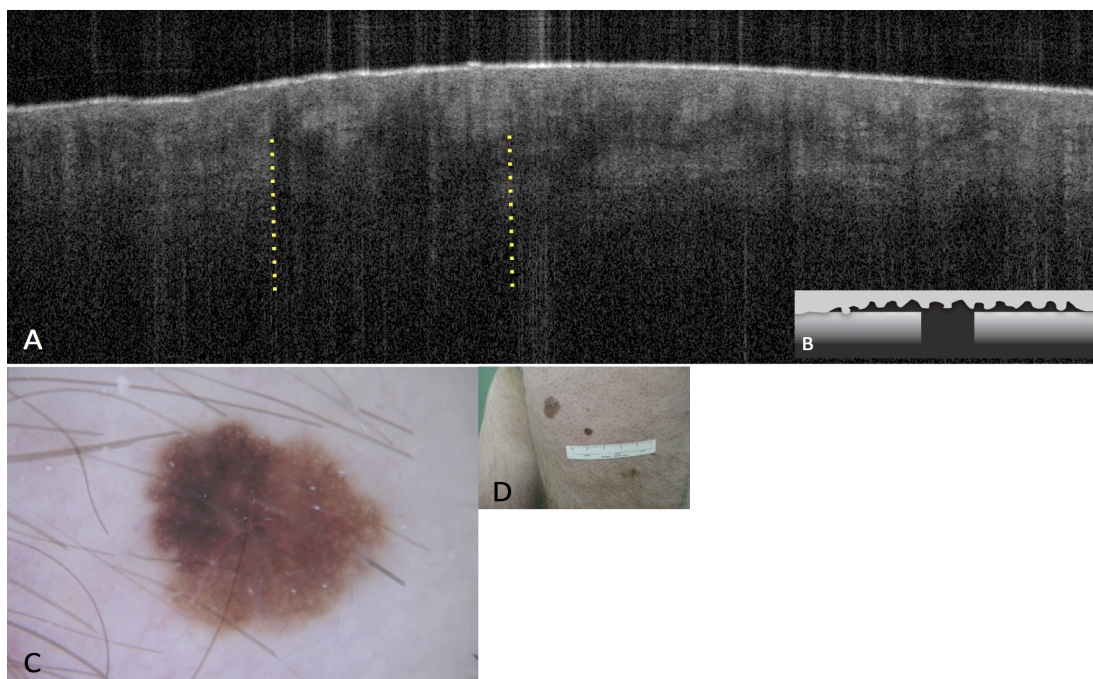


Figura: Tomografia de coerência óptica de melanoma *in situ* na coxa esquerda. A. Imagem de OCT ilustrando sombra (entre linhas pontilhadas) (desenho esquemático em “B”). C e D ilustram respectivamente imagem de dermatoscopia digital e foto clínica.

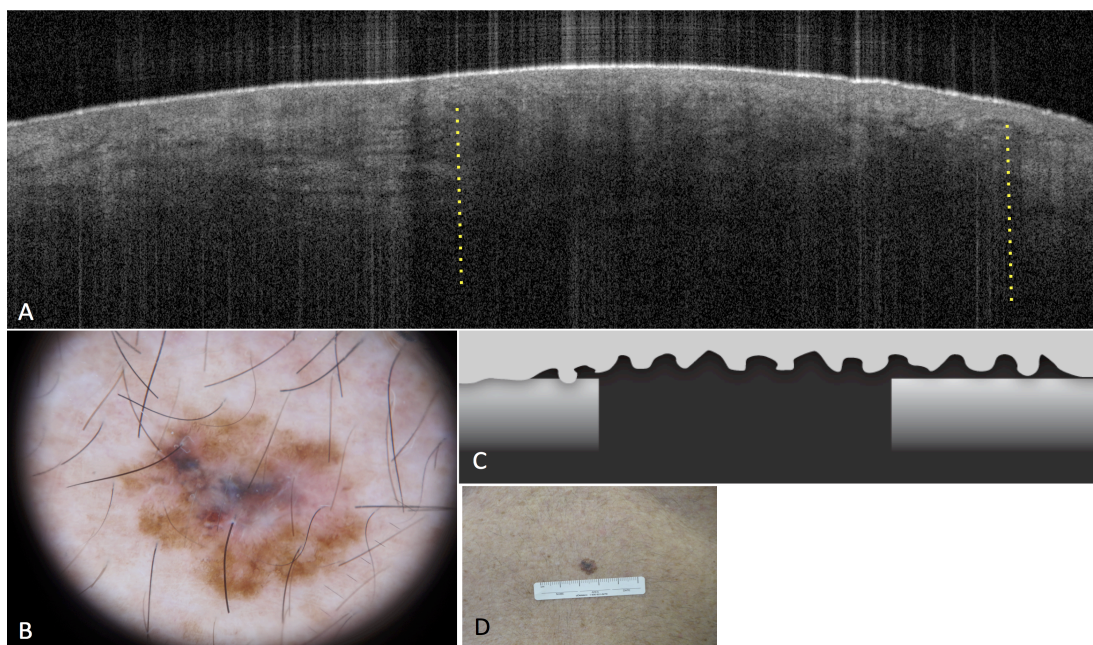


Figura: Tomografia de coerência óptica de melanoma no abdome superior. A. Imagem de OCT ilustrando área de sombra (entre linhas pontilhadas) associada a perda da visualização de cristas epidérmicas (desenho esquemático em “C”). B e D ilustram imagem dermatoscopia digital e clínica respectivamente.

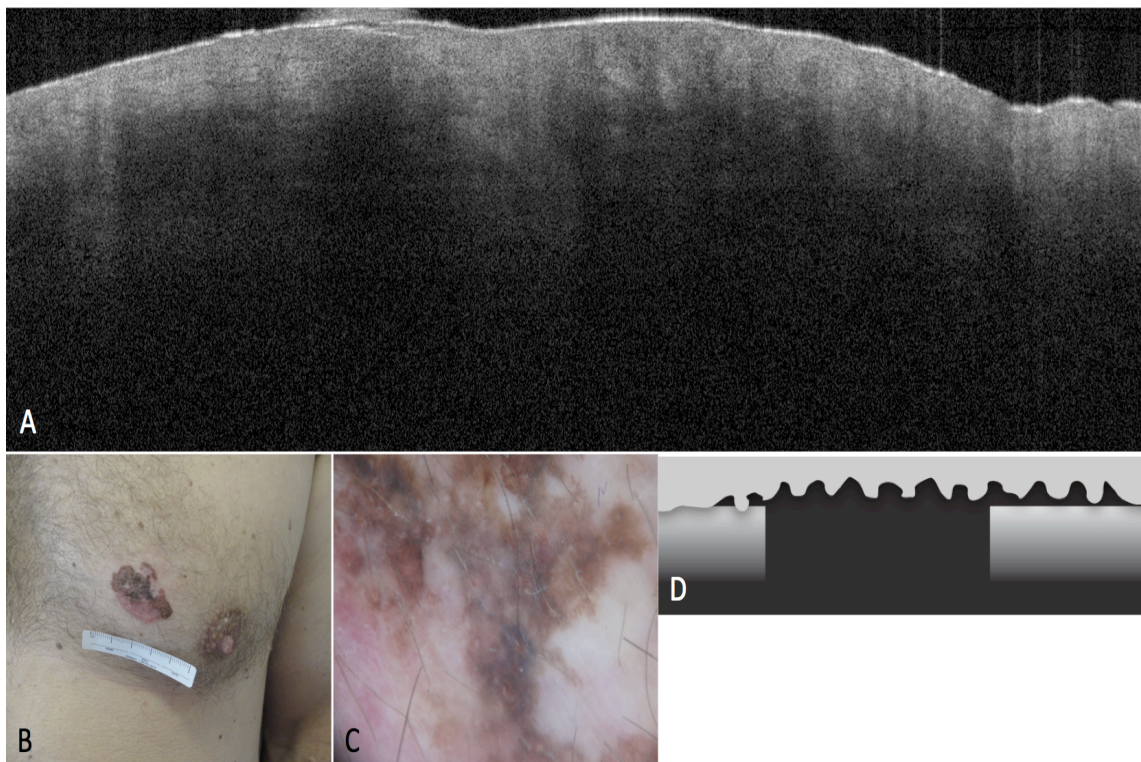


Figura: Tomografia de coerência óptica de melanoma extensivo superficial, B0,62mm. A. Imagem de OCT ilustrando sombra extendendo-se por toda a lesão documentada (desenho esquemático em “D”). B e C ilustram respectivamente imagem clínica e dermatoscopia digital.

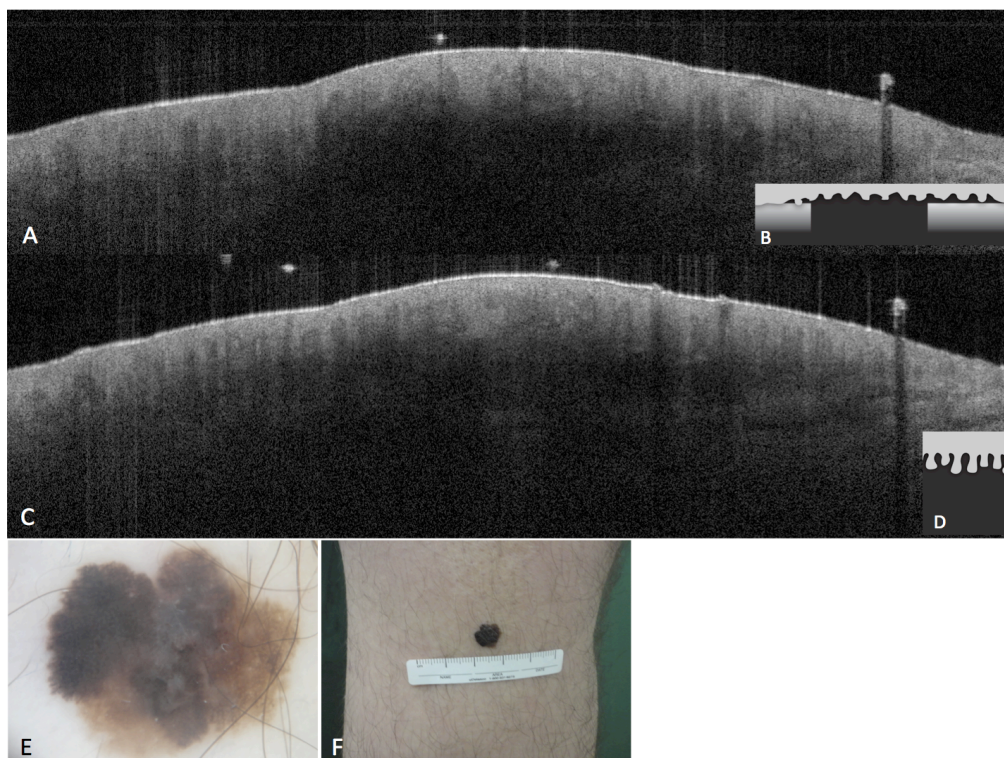


Figura: Melanoma extensivo superficial, B0,8mm na perna esquerda. A imagem ilustrando exemplo de sombra, aonde parte da imagem de OCT apresenta-se com perda de reflexia (desenho esquemático em “B”). C. Imagem da tomografia de coerência óptica que ilustra exemplo de inversão do índice dermo-epidérmico, aonde visualizamos as epiderme e suas cristas hiperreflexas em relação à derme, que encontra-se hiporreflexa (desenho esquemático em “D”). E e F: imagem de dermatoscopia e foto clínica de lesão estudada.

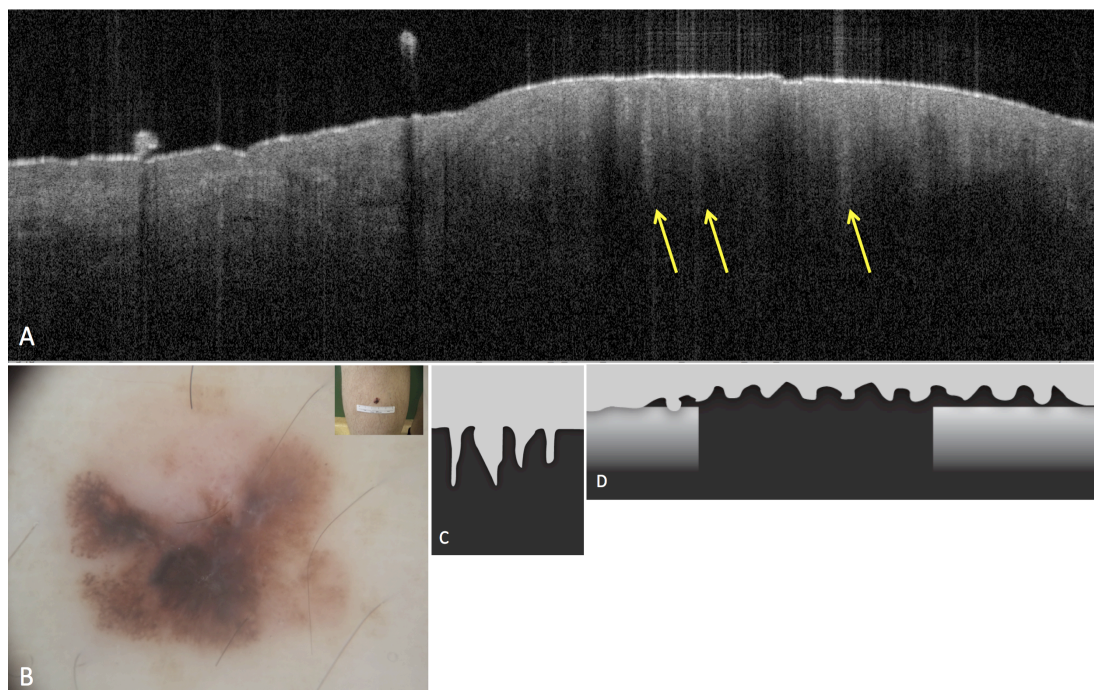


Figura: Tomografia de coerência óptica de melanoma extensivo superficial B0,95mm na perna direita. A. Imagem de OCT ilustra “icicles” na seta amarela (desenho esquemático em “C” e extensa area de sombra (desenho esquemático em “D”). B ilustra imagem clínica e dermatoscopia digital.

Apêndice 6 - Estruturas de OCT

Quadro da descrição das estruturas observadas na tomografia de coerência óptica

Epiderme		
Cristas epidérmicas*		Silhueta denteada visualizada na junção dermo-epidérmica. Este critério deve estar presente em pelo menos 3 imagens sequenciais (Figura 1A)
Alongamento de cristas*		Cristas epidérmicas maiores que duas vezes a espessura da epiderme (Figura 1C)
Fusão de cristas*		Fusão de cristas papilares acompanhadas de áreas hiporreflexas em sua extremidade. (Figura 1F)
Alargamento de cristas*		Cristas epidérmicas alargadas em pelo menos três vezes sua espessura habitual. (Figura 1D)
Retificação de cristas		Achatamento da epiderme com area hiporreflexa inferior. (Figura 1E)
JDE		
Dermoepidermal index (índice dermo-epidérmico)		Perda de normalidade nas propriedades de refletividade na JDE. (epiderme hiporreflexa em relação à derme) (Figura 2A)
Ninhos Juncionais*		Áreas arredondadas hiporreflexas bem delimitadas na extremidade das cristas epidérmicas. (Figura 2B)
Derme		
Sombras		Faixas verticais de "perda de sinal" na derme a partir da junção dermo-epidérmica). (Figura 2E e 2F)
Colageno		Visualização habitual do colágeno na derme hiperreflexivo.
Banda Hiporreflexa		Faixa hiporreflexa na derme paralela à epiderme, preservando a visualização de colágeno abaixo.(Figura 2C)
Icicle-shaped structures (estruturas semelhantes a "iciles")*		Estruturas espiculadas hiperreflexas na derme que alcançam a derme reticular acompanhadas da perda de visualização de colageno na derme.(Figura 2D)

* indica estruturas previamente descritas na literatura.

OCT: Optical Coherence Tomography – Tomografia de Coerência Óptica

JDE: Junção dermo-epidérmica.

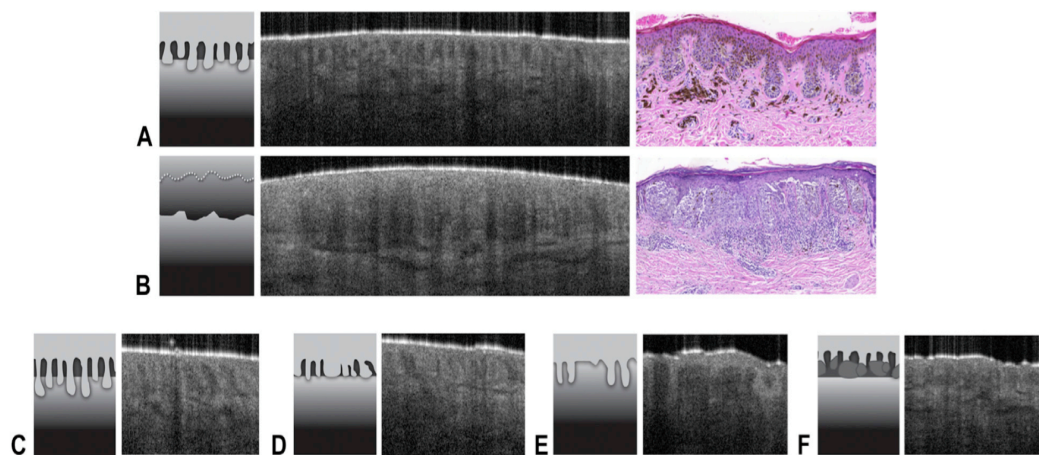


Figura 1 - Imagens da tomografia de coerência óptica, histopatologia e imagens esquemáticas das estruturas observadas. A. Padrão de cristas epidérmicas, histopatologia (hematoxilina e eosina) correspondente à lesão: nevo juncional. B. Imagem ilustrando um exemplo de perda da visualização de cristas epidérmicas, histopatologia; melanoma *in situ*. Deformidades nos padrões de cristas e papilas: C. Alongamento, D. Alargamento, E. Retificação e F. Fusão de cristas. A, B, C, D e F são as estruturas previamente descritas na literatura.

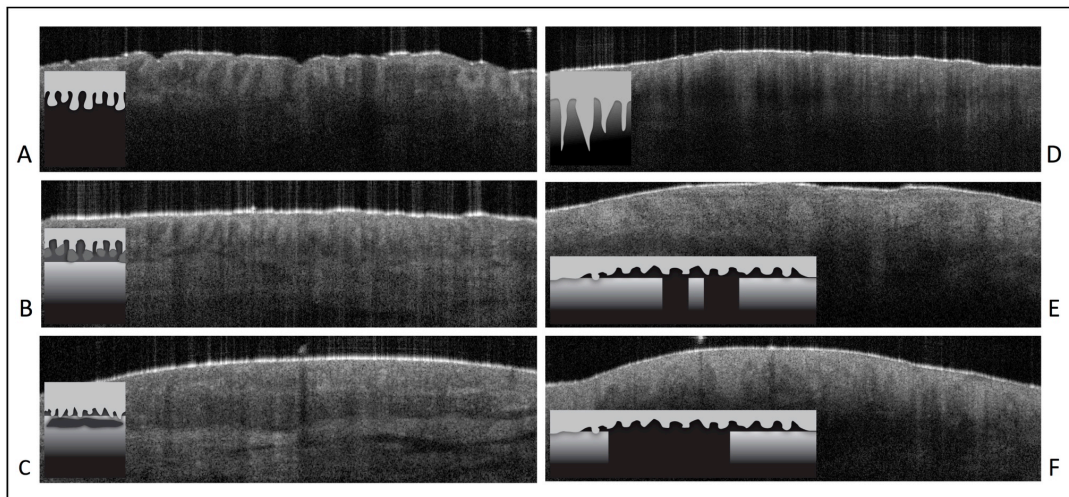


Figura 2 - Imagens da tomografia de coerência óptica e imagens esquemáticas das estruturas observadas: junção dermo-epidérmica e derme

A. Perda do índice dermo-epidérmico. B. Ninhos Juncionais; C. Banda Hiporreflexa; D. Estruturas semelhantes a “Icicles”; E e F. Sombras. A visualização normal do colágeno (hiperreflexo) é possível de ser observado nas imagens B e C. B e D são as estruturas já descritas previamente na literatura.