

**AVALIAÇÃO DAS LESÕES PIGMENTADAS E ISOLADAS
DA FACE POR MICROSCOPIA CONFOCAL:
DESENVOLVIMENTO DE UM NOMOGRAMA PREDITIVO
DE MELANOMA**

FERNANDA BERTI ROCHA MENDES

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

Área de concentração: Oncologia

**Orientadora: Dra. Juliana Casagrande Tavoloni
Braga**

Co-Orientador: Dr. Clóvis Antônio Lopes Pinto

São Paulo

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da Fundação Antônio Prudente

Mendes, Fernanda Berti Rocha

Avaliação das lesões pigmentadas e isoladas da face por microscopia confocal: desenvolvimento de um nomograma preditivo de melanoma / Fernanda Berti Rocha Mendes - São Paulo, 2019.

115p.

Tese (Doutorado)-Fundação Antônio Prudente.

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

Orientadora: Juliana Casagrande Tavoloni Braga

Descritores: 1. Melanoma/Melanoma. 2. Nomograma/Nomograms. 3. Microscopia Confocal/Microscopy, Confocal. 4. Pigmentação da Pele/Skin Pigmentation. 5. Estudos Prospectivos/Prospective Studies. 6. Estudos Retrospectivos/Retrospective Studies

DEDICATÓRIA

Aos meus filhos, Leonardo e Mariana, que nasceram na trajetória deste trabalho, vocês são a razão e emoção da minha vida.

Ao meu esposo Maurício, pelo apoio constante e suporte para a conclusão deste projeto.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por permanecer ao meu lado.

Ao meu esposo Maurício, que permitiu a realização deste desafio. Adiou o seu título pelo meu e, ainda assim, concluiu-o antes. Obrigada por ter assumido os nossos filhos quando me ausentei pela tese. Sem você isso não seria possível.

Aos meus pais, Eugênio e Bete, pelo incentivo, suporte e disponibilidade com os meus filhos que me ajudaram a concluir esta etapa.

À minha irmã Renata por abrir mão dos próprios compromissos para me auxiliar e atender-me de prontidão.

À minha irmã Daniela pelo incentivo e apoio.

À Dra. Gisele, que exibe um admirável brilho no olhar pela pesquisa, por acreditar em mim e dar-me a oportunidade deste crescimento profissional.

À Dra. Juliana Casagrande, que me recebeu com otimismo, compreendeu a minha licença maternidade e orientou-me com disponibilidade.

Às amigas de profissão, Dra. Raquel e Dra. Juliana Areas, por compartilharem os bons momentos e desabafos na trajetória desta tese.

Aos meus familiares pela torcida e orações.

À equipe de oncologia cutânea do A.C.Camargo Cancer Center: Dr. João Duprat, Dr. Marco Antônio, Dra Raquel, Dra Juliana Areas, Dra Juliana Caasagrande, Dra. Tania, Dra. Tatiana, Dra Adriana, Dra. Bianca, Dra.

Ivana, Dra. Ana Flavia, Dra. Ana Carolina, Dra. Joyce, Dra. Mariane, Dr. Fernando, Dr. Ivan, Dr. Eduard, Dr. André, Dr. Eduardo, Dra Andréa e Luciana Facure. É um orgulho fazer parte deste time.

Ao Dr. Clóvis e à Dra. Mariana Petaccia pela participação na patologia, por estarem prontamente disponíveis.

À Ana Urvanegia pelo auxílio e solicitude.

À Suely Francisco pela atenção e ajuda na formatação desta tese.

Aos pacientes que participaram do presente estudo, vocês são a principal razão pela busca constante do conhecimento e de melhorias para o diagnóstico precoce da doença.

Pelas pessoas que direta ou indiretamente fizeram parte deste trabalho.

E, por fim, aos meus queridos filhos, Leonardo e Mariana, quero desculpar-me pela ausência, pelas vezes que precisei estudar ao invés de brincar ou dar-lhes a atenção que eu gostaria. Obrigada por vocês me ensinarem o significado de amor incondicional.

RESUMO

Mende FBR. **Avaliação das lesões pigmentadas e isoladas da face por microscopia confocal: desenvolvimento de um nomograma preditivo de melanoma.** São Paulo; 2019. [Tese de Doutorado-Fundação Antônio Prudente]

INTRODUÇÃO: O lentigo maligno (LM) é o subtipo do melanoma mais comum da face. O LM apresenta-se clinicamente como uma mácula acastanhada na sua fase inicial, sendo difícil sua diferenciação com lesões pigmentadas benignas da face ao exame clínico. A face, por apresentar particularidades anatômicas e histológicas, pode dificultar o diagnóstico do LM ao diferenciá-lo dos seus simuladores (ceratose actínica pigmentada, ceratose líquen plano-like, lentigo solar, ceratose seborreica). A microscopia confocal *in vivo* (MC) auxilia no diagnóstico das lesões dermatológicas em que a dermatoscopia possui limitação, permitindo assim, aumentar a acurácia diagnóstica e evitar procedimentos invasivos em lesões benignas, de maneira desnecessária. **OBJETIVOS:** Descrever as alterações celulares e arquiteturais significativas no exame de MC nas lesões isoladas da face para o diagnóstico de melanoma. Elaborar um método diagnóstico acurado utilizando os critérios da microscopia confocal. **MÉTODOS:** Estudo prospectivo e retrospectivo com amostragem não aleatória consecutiva no qual foram incluídos 105 pacientes com lesões pigmentadas solitárias da face provenientes do Núcleo de Câncer de Pele A.C.Camargo Cancer Center. Critérios avaliados na MC: padrão em "favo de mel" típico ou atípico; células dendríticas; células nucleadas redondas; disseminação pagetóide, *Sheets of cells*; ninhos celulares densos e homogêneos (típico) ou denso e esparsos, com atipias (atípico); célula nucleada redonda ou dendrítica na junção dermo-epidérmica; células dendríticas foliculares (célula dendrítica no epitélio folicular) e *cords* ou projeções bulbosas; ilhas tumorais e fendas. O teste Exato de Qui Quadrado foi aplicado aos critérios da MC. Regressão

Logística Univariada foi realizada através de estimativas de risco pelo *Odds Ratio*. Foi realizado a Regressão Logística Múltipla, resultando em um Nomograma para quantificar, em porcentagem, a chance de ter o diagnóstico de melanoma de acordo com a presença, singular ou concomitante, dos critérios da microscopia confocal supracitados.

RESULTADOS: Os critérios da MC célula redonda atípica nucleada na epiderme, célula dendrítica nucleada na epiderme, disseminação pagetóide, célula atípica na JDE, ninhos juncionais atípicos, célula dendrítica folicular, *sheets of cells* e ilhas tumorais ou silhuetas escuras apresentaram significância estatística ($p < 0,05$). Enquanto que os critérios *CORDS* ou projeções bulbosas e padrão em favo de mel atípico não tiveram significância. O único critério que apresentou-se como fator protetor pelo *odds ratio* foi a presença de ilhas tumorais ou silhuetas escuras. A Regressão Logística Múltipla resultou em 3 critérios: célula redonda nucleada na epiderme, disseminação pagetóide e célula dendrítica folicular. A partir destes dados, foi realizado o nomograma para definir a chance, em percentual, de ter o diagnóstico de melanoma de acordo com a presença ou ausência das alterações celulares encontradas na microscopia confocal. A presença destes 3 critérios concomitantes expressa 98% de probabilidade da lesão ser melanoma.

CONCLUSÃO: Este estudo viabilizou uma estimativa de probabilidade por intermédio de um percentual executável para o referido diagnóstico de melanoma da face, de acordo com a presença, ausência e concomitância destes critérios, de maneira prática e factível à aplicação no cotidiano do consultório.

Descritores: Lentigo Maligno. Melanoma. Nomograma. Microscopia Confocal. Pigmentação da Pele. Estudos Prospectivos. Estudos Retrospectivos.

SUMMARY

Mende FBR. **[Reflectance confocal microscopy of pigmented and isolated face lesions: a predictive nomogram for melanoma]**. São Paulo; 2019. [Tese de Doutorado-Fundação Antônio Prudente]

INTRODUCTION: Lentigo maligna (LM) is the most common subtype of facial melanoma. LM presents clinically as a brownish macule in its initial phase, and it is a challenge to differentiate from others facial benign pigmented lesions. Anatomical and histological face's features may make difficult to diagnose LM and to distinguish it from its simulators (actinic keratosis, lichen planus-like queratosis, solar lentigo, seborrheic keratosis). *In vivo* reflectance confocal microscopy (RCM) assists in the diagnosis of dermatological lesions in which dermatoscopy is limited, allowing to increase diagnostic accuracy and avoid invasive procedures in benign lesions, unnecessarily. **OBJECTIVES:** Describe cellular and architectural characteristics that were significant in the RCM examination in lesions face for the diagnosis of melanoma. Also elaborate an accurate diagnostic method using the criterias of RCM. **METHODS:** A prospective and retrospective study with consecutive non-random sampling with 105 patients presenting solitary pigmented facial lesions from the A.C.Camargo Cancer Center Skin Center. RCM criteria: typical or atypical honeycomb; dendritic cells; round nucleated cells; pagethoid spread, Sheets of cells; nests dense and homogeneous (typical) or dense and sparse (atypical); round or dendritic nucleated cell at the dermo-epidermal junction; follicular dendritic cells (dendritic cell in the follicular epithelium) and bulbous cords or projections; tumor islands and dark silluets. The exact test of Chi Square was applied to the criteria of RCM. Univariate Logistic Regression was performed through risk estimates by the Odds Ratio. Multiple Logistic Regression model was performed, resulting in a Nomogram to quantify, in percentage, the chance of having the diagnosis of melanoma according to the singular or concomitant

presence of the above mentioned RCM criteria. **RESULTS:** RCM criteria atypical round cell nucleated in the epidermis, nucleated dendritic cell in the epidermis, pagethoid spread, atypical cell in the JDE, atypical junctional nodes, follicular dendritic cell, sheets of cells and tumor islands or dark silhouettes presented statistical significance ($p < 0.05$). While the criteria cords or projections bulbous and standard in atypical honeycomb had no significance. The only criterion that presented itself as a protective factor by odds ratio was tumor islands or dark silhouettes. The Multiple Logistic Regression resulted in 3 criteria: nucleated round cell in the epidermis, pagetoid spread and follicular dendritic cell. From these data, the nomogram was used to define the percentage chance of having the diagnosis of melanoma according to the presence or absence of cellular alterations found in RCM. The presence of these 3 concomitant criteria expresses 98% probability of the lesion being a melanoma. **CONCLUSION:** This study enabled estimate probability for the diagnosis of facial melanoma, according to the presence, absence and concomitance of RCM criteria, in a practical and feasible way to the daily medical practice.

Key words: Lentigo Maligna. Melanoma. Nomogram. Reflectance Confocal Microscopy. Skin Pigmentation. Prospective Studies. Retrospective Studies

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Imagens clínica e dermatoscópica de lesão pigmentada e isolada da face.	5
Figura 2	Dermatoscópios	8
Figura 3	Anatomopatológico da pele.....	9
Figura 4	Modelo de progressão do Lentigo Maligno na dermatoscopia..	10
Figura 5	Imagens das características dermatoscópicas do lentigo maligno da face	11
Figura 6	Imagem do aparelho de microscopia confocal <i>Vivascope®</i> 1500.....	15
Figura 7	Ilustração esquemática dos princípios físicos do microscópio confocal	16
Figura 8	Preparo para realização do exame de microscopia confocal	18
Figura 9	Imagens da pele normal na microscopia confocal (0.5 x 0.5 mm)	20

Figura 10	Comparação entre MC e histopatologia (cortes histológicos transversais) na pele normal.....	21
Figura 11	Alterações do LM/LMM na MC.....	23
Figura 12	Alterações da QAP na MC.....	26
Figura 13	Imagens MC da ceratose seborreica.....	27
Figura 14	Imagens individuais na microscopia confocal (500µm).....	28
Figura 15	Caso clínico 1.....	46
Figura 16	Caso clínico 2.....	47
Figura 17	Caso clínico 3.....	48
Figura 18	Caso clínico 4.....	49
Figura 19	Nomograma.....	53
Figura 20	Frequência dos critérios da microscopia confocal em lesões de melanoma e lesões não melanoma.....	54

Figura 21	Caso clínico 5.....	63
Figura 22	Caso clínico 6.....	65
Figura 23	Caso clínico 7.....	67
Figura 24	Caso clínico 8.....	68
Figura 25	Caso clínico 9.....	69
Figura 26	Caso clínico 10.....	70
Figura 27	Caso clínico 11.....	71
Figura 28	Caso clínico 12.....	72
Figura 29	Caso clínico 13.....	73
Figura 30	Caso clínico 14.....	74
Figura 31	Caso clínico 15.....	75
Figura 32	Caso clínico 16.....	76

Figura 33	Caso clínico 17.....	77
Figura 34	Caso clínico 18.....	78
Figura 35	Caso clínico 19.....	80
Figura 36	Caso clínico 20.....	82
Figura 37	Caso clínico 21.....	84
Figura 38	Caso clínico 22.....	86
Figura 39	Caso clínico 23.....	88
Figura 40	Caso clínico 24.....	89

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Achados do LM na microscopia confocal.....	24
Quadro 2	Escore para Lentigo Maligno.....	25
Quadro 3	Avaliação anatomopatológica à coloração Hematoxilina-Eosina.....	58
Quadro 4	Avaliação da imunoistoquímica: Melan-A e CD 1 A.....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Frequência de diagnósticos	41
Tabela 2	Variação da idade da população.....	42
Tabela 3	Epidemiologia e dados clínicos	43
Tabela 4	Dados clínicos e epidemiológicos dos pacientes com melanoma.....	44
Tabela 5	Frequência dos critérios de microscopia confocal observados nas lesões de melanoma e não melanoma	45
Tabela 6	Critérios da microscopia confocal: odds ratio e qui quadrado ..	51
Tabela 7	Regressão logística múltipla	52
Tabela 8	Regressão logística múltipla (critérios não significativos)	52
Tabela 9	Probabilidade do diagnóstico de melanoma	53
Tabela 10	Critérios da microscopia confocal em melanomas e não-melanomas nos trabalhos	55

Tabela 11	Subtipos do melanoma.....	56
Tabela 12	Análise anatomopatológica à Hematoxilina-Eosina dos 10 casos selecionados	62
Tabela 13	Análise anatomopatológica da imunohistoquímica (Melan-A, MITIF – p63 e CD 1 A) dos 10 casos selecionados	62

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACS	American Cancer Society
CBC	carcinoma basocelular
CEC	carcinoma espinocelular
CL	célula de Langerhans
H&E	Hematoxilina e Eosina
HMA	Hiperproliferação melanocítica atípica
INCA	Instituto Nacional de Câncer
JDE	Junção dermo-epidérmica
LM	Lentigo Maligno
LMM	lentigo maligno melanoma
LPLK	Líquen-plano- <i>like</i> -queratose
LS	Lentigo solar
MC	Microscopia confocal
OR	<i>odds ratio</i>
QA	Queratose actínica
QAP	Queratose actínica pigmentada
QS	Queratose seborreica

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Melanoma na Face	2
1.1.1	Características das Lesões Pigmentadas da Face não Melanoma	4
1.2	Dermatoscopia	6
1.2.1	Dermatoscopia da face	8
1.3	Microscopia Confocal	13
1.3.1	Realização do Exame de Microscopia Confocal	17
1.3.2	Análise da microscopia confocal: pele normal	18
1.3.3	Análise da microscopia confocal: lentigo maligno	21
1.3.4	Análise da microscopia confocal: principais diagnósticos diferenciais	25
1.4	Histopatologia e Imunoistoquímica do Lentigo Maligno da Face e seus diferenciais	28
2	JUSTIFICATIVA	32
3	OBJETIVO	33
4	MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1	Delineamento	34
4.2	População	34
4.2.1	Critérios de Inclusão	34
4.2.2	Critérios de Exclusão	35
4.3	Métodos	35
4.4	Documentação Clínica e Dermatoscópica	35
4.5	Microscopia Confocal <i>in vivo</i>	36
4.6	Exame Histopatológico e Estudo Imunoistoquímico	37
4.6.1	Reações Imunoistoquímicas	38
4.7	Análise Estatística	39

5	RESULTADOS	41
5.1	Casos Clínicos.....	67
5.1.1	Casos de lentigo maligno e lentigo maligno melanoma.....	67
5.1.2	Demais casos clínicos com imunoistoquímica.....	77
6	DISCUSSÃO	91
7	CONCLUSÃO	103
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	104

ANEXO

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

APÊNDICE

Apêndice 1 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido-TCLE

Apêndice 2 Resultados da dermatoscopia (Tabelas 14 e 15)

1 INTRODUÇÃO

O melanoma origina-se da célula responsável pela pigmentação cutânea, o melanócito, e corresponde a 1% - 5% dos cânceres de pele (WONG e ZON 2010). Apresenta a maior letalidade dentre todos os cânceres cutâneos, com taxa de mortalidade de 2,9 mortes/100.000 habitantes, sendo maior em indivíduos brancos, acima de 60 anos (WATSON et al. 2011, American Cancer Society-ACS 2018; DIMITRIOU et al. 2018). A mortalidade do melanoma corresponde a 3 vezes o número de mortes ocasionadas por todas as outras malignidades cutâneas (GELLER e ANNAS 2003, JEMAL et al. 2010). No Brasil, em 2015, ocorreram 1.012 óbitos por melanoma em homens e 782 em mulheres (Ministério da Saúde 2018).

A incidência global do melanoma cutâneo tem aumentado nos últimos 30 anos. A ACS estimou para 2018 91.279 casos novos de melanoma nos Estados Unidos (55.150 em homens e 36.120 em mulheres) e o *Centers for Disease Control and Prevent* (CDC) estima 112.000 casos novos para 2030. Dentre os casos novos em 2018, 9.320 pessoas iriam à óbito por melanoma (ACS 2018). No mundo, para 2012, foram estimados 232.130 casos novos de melanoma e 351.880 casos novos para 2015. A incidência estimada do melanoma é de 3 por 100.000 habitantes, podendo variar de acordo com a população estudada, e ocupa o 12º lugar na frequência mundial dos cânceres (DIMITRIOU et al. 2018).

Dados recentes mostram que a incidência na Austrália é de 54,1 por 100.000 habitantes, nos Estados Unidos de 21 por 100.000 habitantes e na Europa ocidental de 15,6 por 100.000 habitantes. É esperado um aumento destes números nos próximos anos (GHAZAWI et al. 2019).

O risco estimado de desenvolver melanoma ao longo da vida de um indivíduo da raça branca é de 2,5% (1 em 40) e na raça negra de 0,1% (1 em 1.000) (ACS 2018).

Dados do INCA mostram que a estimativa para o ano de 2018 no Brasil é que o melanoma corresponda a 1,4% (2.920) de todos os cânceres em homens e 1,7% (3.340) em mulheres. O estado de Santa Catarina apresenta maior incidência de melanoma, sendo 6,14 casos para cada 100 mil homens e 5,33 casos para cada 100 mil mulheres. (Ministério da Saúde 2018).

Diante da gravidade do melanoma, ressalta-se a importância do diagnóstico precoce, pois quando tratado em estágio inicial possibilita maior chance de cura e menor morbidade ao paciente. Entretanto, o diagnóstico do melanoma permanece um notável desafio na prática clínica, principalmente em topografias especiais como face, couro cabeludo e extremidades (PRALONG et al. 2012; MICANTONIO et al. 2018).

1.1 MELANOMA NA FACE

O lentigo maligno (LM) é o subtipo do melanoma mais comum em área fotoexposta cronicamente. Recebe esta denominação de lentigo

maligno quando se encontra na sua fase mais inicial, restrito à epiderme, ou seja, *in situ*. Quando o tumor se aprofunda na pele, ultrapassa a camada basal e invade a derme, passa a ser chamado de lentigo maligno melanoma (PRALONG et al. 2012; CHARIFA et al. 2018).

O lentigo maligno é mais frequente na face e pescoço (86%). Representa 75% a 83% de todos os melanomas *in situ* (GREVELING et al. 2016) e 10 a 26% das malignidades em cabeça e pescoço (DUARTE et al. 2018).

Corresponde a 4 - 15% de todos os melanomas, com risco de progressão para melanoma invasivo de 5% a 50% (ELDER et al. 2005, DUARTE et al. 2018). Ele ocorre principalmente em pele com fotodano crônico, por isso, mais prevalente nas sétimas e oitavas décadas de vida (ACKERMAN et al. 1991; PRALONG et al. 2012; DUARTE et al. 2018).

O lentigo maligno evolui com progressão lenta e tem bom prognóstico quando tratado na sua fase inicial. Entretanto quando há proliferação vertical do tumor, com invasão de camadas profundas da pele, o prognóstico do lentigo maligno melanoma se assemelha aos demais subtipos e passa a se comportar como o melanoma extensivo superficial (DUARTE et al. 2018).

O LM apresenta-se clinicamente como uma mácula acastanhada na sua fase inicial, sendo difícil sua diferenciação com lesões pigmentadas benignas da face ao exame clínico com olho nú. (COSTA-SILVA et al. 2018).

Além do lentigo maligno, na face também podem incidir: o melanoma extensivo superficial (é o subtipo mais comum no corpo exceto na área de cabeça e pescoço) (KVASKOFF et al. 2012), o melanoma desmoplásico

(apresenta neurotropismo, é mais frequente na topografia de cabeça e pescoço, sexo masculino e a partir da oitava década de vida) (XIE et al. 2016; NICOLSON e HAN 2018), o melanoma nodular (é mais agressivo e pode ou não ser pigmentado), e, por fim, o melanoma amelanótico (não exibe pigmento) (LEBOIT et al. 2006; DESSINIOTI et al. 2019).

1.1.1 Características das Lesões Pigmentadas da Face não Melanoma

A face pode apresentar, com frequência, lesões pigmentadas melanocíticas e não-melanocíticas decorrentes do fotodano cumulativo ou da predisposição hereditária principalmente após a quinta década de vida. Estas lesões incluem: lentigo solar, ceratose seborreica, nevo melanocítico, carcinoma basocelular pigmentado, carcinoma espinocelular pigmentado, hiperplasia sebácea, melanoma, ceratose actínica pigmentada e ceratose líquen plano-like (LPLK) (GULIA et al. 2010; LALLAS et al. 2014; COSTA-SILVA et al. 2018) (**Figura 1**).

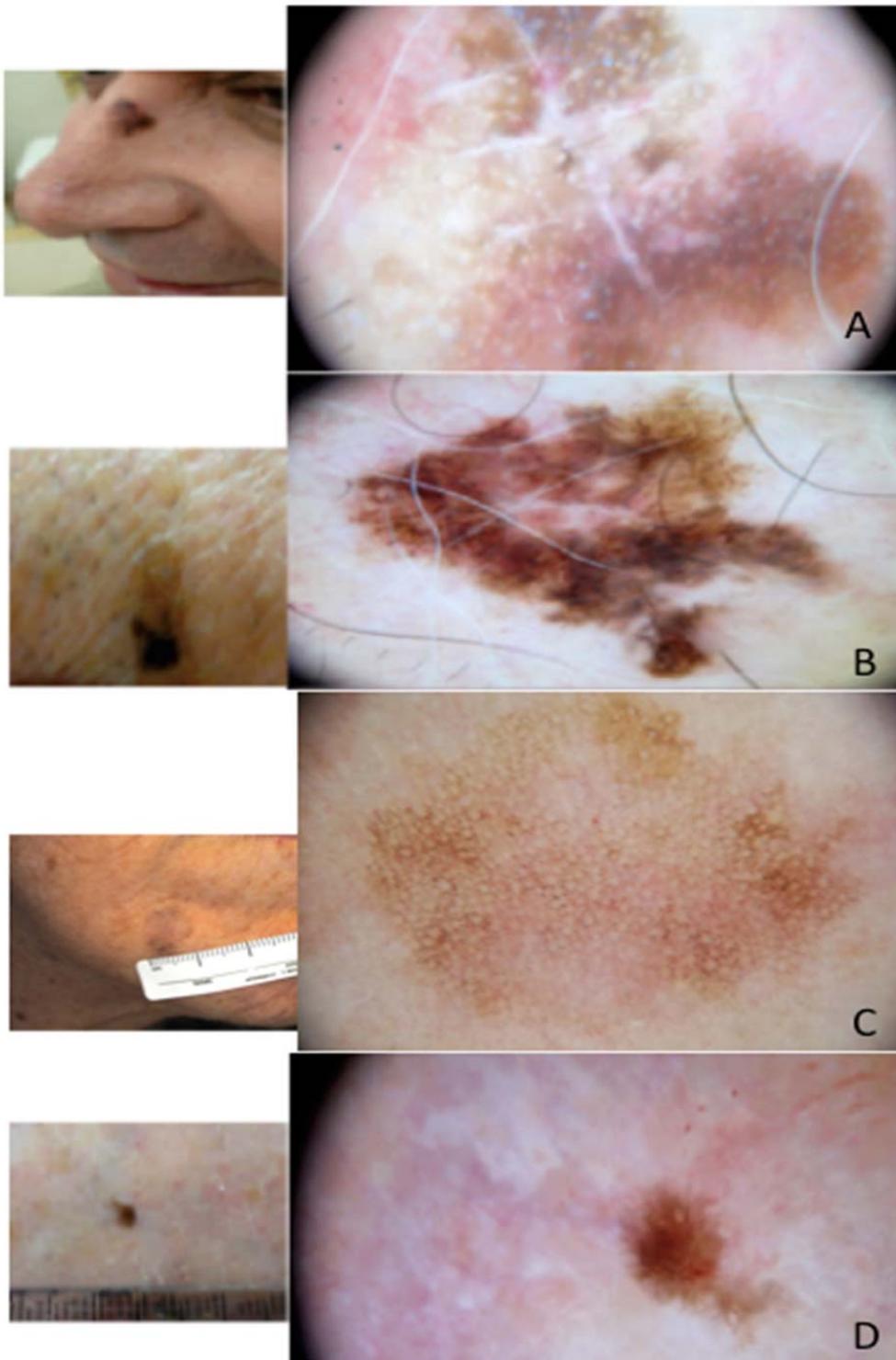


Figura 1 - Imagens clínica e dermatoscópica de lesão pigmentada e isolada da face. A) Lentigo Maligno. B) Ceratose seborreica. C) LPLK. D) Ceratose actínica pigmentada. Imagens: Núcleo do Câncer da Pele e Dermatologia. A.C.Camargo Cancer Center.

Habitualmente as lesões benignas apresentam-se em multiplicidade na face, mantendo as mesmas características entre elas, o que é denominado “sinal da vizinhança”. Esse sinal é um importante achado clínico que auxilia no diagnóstico diferencial do lentigo maligno principalmente com a queratose actínica pigmentada (NASCIMENTO et al. 2014).

Por outro lado, quando o lentigo maligno geralmente se apresenta como uma lesão única em uma região determinada da face, é denominado “lesão isolada da face”. Define-se por lesão isolada da face, a única lesão pigmentada em uma unidade cosmiátrica da face. A face é composta por seis unidades cosmiátricas: frontal, peri-orbital, nasal, malar, peri-oral e mentoniana (GUITERA et al. 2009).

As lesões pigmentadas da face muitas vezes não são diagnosticadas por suas características clínicas, mesmo por um profissional experiente, e critérios adicionais são necessários para o diagnóstico com maior acurácia (SOYER et al. 2001). A acurácia para o diagnóstico clínico do melanoma foi estimada em aproximadamente 65 a 80% dependendo da experiência do examinador (GUITERA et al. 2009).

1.2 DERMATOSCOPIA

Nas últimas duas décadas houve a disseminação de uma técnica de baixo custo e não invasiva cujo principal objetivo é de realizar o diagnóstico precoce do melanoma, a dermatoscopia (PEHAMBERGER et al. 1993).

A dermatoscopia, microscopia de epiluminescência ou microscopia de superfície, é uma técnica de imagem *in vivo*, não invasiva, que permite a visualização macroscópica da superfície e de estruturas de camadas mais profundas da pele (PEHAMBERGER et al. 1993; TROYA-MARTÍN et al. 2008; WURM et al. 2012). Este recurso utiliza uma fonte de luz polarizada, halógena, ou não polarizada com um meio líquido, e exibe um aumento que varia de 10 a 70 vezes (**Figura 2**), direcionando o diagnóstico de lesões pigmentadas e não pigmentadas a uma outra dimensão. A sensibilidade diagnóstica para o melanoma aumentou de 74%, clinicamente, para até 90% com o auxílio do dermatoscópio. A introdução da dermatoscopia na prática clínica aumentou a acurácia diagnóstica no diagnóstico do lentigo maligno em 30%, com sensibilidade de 89% e especificidade de 96% (SCHIFFNER et al. 2000; NAVARRETE-DECHENT et al. 2018), reduzindo o número de exéreses de lesões benignas de maneira desnecessária (KITTLER et al. 2002).

Muitos algoritmos diagnósticos foram criados para auxiliar na diferenciação entre lesão benigna e maligna, tendo como base critérios dermatoscópicos bem definidos (REZZE et al. 2006; PRALONG et al. 2012; NASCIMENTO et al. 2014).



Figura 2 - Dermatoscópios. A) Dermatoscópio portátil de luz polarizada. B) Dermatoscópio portátil de luz não-polarizada

1.2.1 Dermatoscopia da face

A face apresenta particularidades anatômicas devido à retificação histopatológica das cristas interpapilares e presença de grande quantidade de unidades pilossebáceas. Isto dificulta o diagnóstico das lesões pigmentadas, principalmente a diferenciação entre o lentigo maligno e seus simuladores, pois não há formação de rede pigmentar nessa região, uma característica importante na dermatoscopia para definir lesão melanocítica (THOMAS et al. 2013; CHEN et al. 2017).

As lesões pigmentadas da face, em sua maioria, apresentam pseudo-rede pigmentar à dermatoscopia, na qual os “buracos” correspondem às aberturas foliculares e o pigmento encontra-se ao redor dessas estruturas. É uma característica exclusiva desta topografia devido à retificação das cristas interpapilares, portanto não há crista epidérmica profunda para formar rede pigmentar como ocorre na pele glabra (**Figura 3**) (CAMPOS-DO-CARMO e RAMOS-E-SILVA 2008, JAIMES e MARGHOOB 2013).

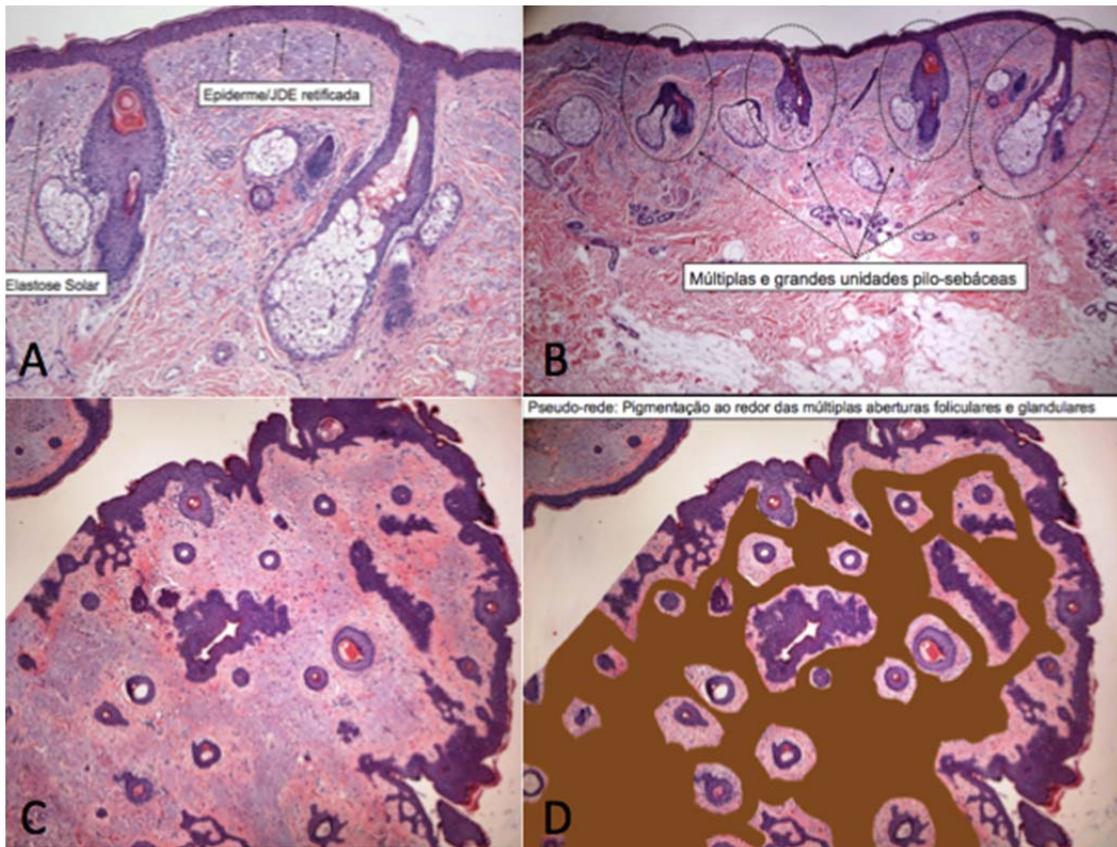
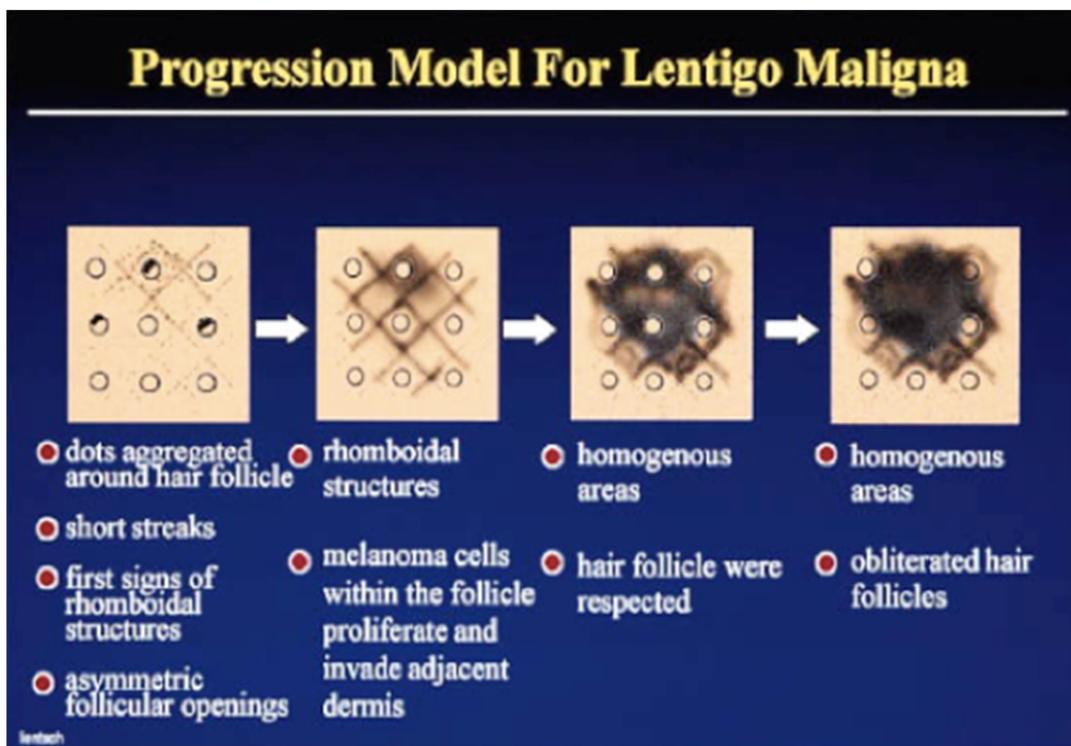


Figura 3 - Anatomopatológico da pele. A e B) Foto anatomopatológica da pele exibindo a epiderme e junção dermo-epidérmica (JDE) retificadas, múltiplas e grandes unidades pilo-sebáceas e elastose solar. C) Corte transversal da pele e seus anexos. D) Pseudo-rede mostrando que o local da pigmentação é ao redor das aberturas foliculares e das glândulas.

SCHIFFNER et al. (2000) e STOLZ et al. (2002) foram os primeiros autores a descreverem as características dermatoscópicas do lentigo maligno da face em um modelo de progressão, o qual inclui: 1) abertura folicular assimetricamente pigmentada. 2) pontos e glóbulos acinzentados dispostos entre as aberturas anexiais, de coloração marrom, cinza ou preta, com padrão anular-granular. 3) estruturas romboidais: linhas interfoliculares em distribuição poligonal, quando envolve toda a abertura folicular apresenta formato de losango. 4) Área escura sem estrutura (borrões escuros ou

blotches): pigmento escuro, com ausência de estrutura, que oclui o óstio folicular (**Figuras 4 e 5**).



Fonte: SCHIFFNER et al. (2000).

Figura 4 - Modelo de progressão do Lentigo Maligno na dermatoscopia.

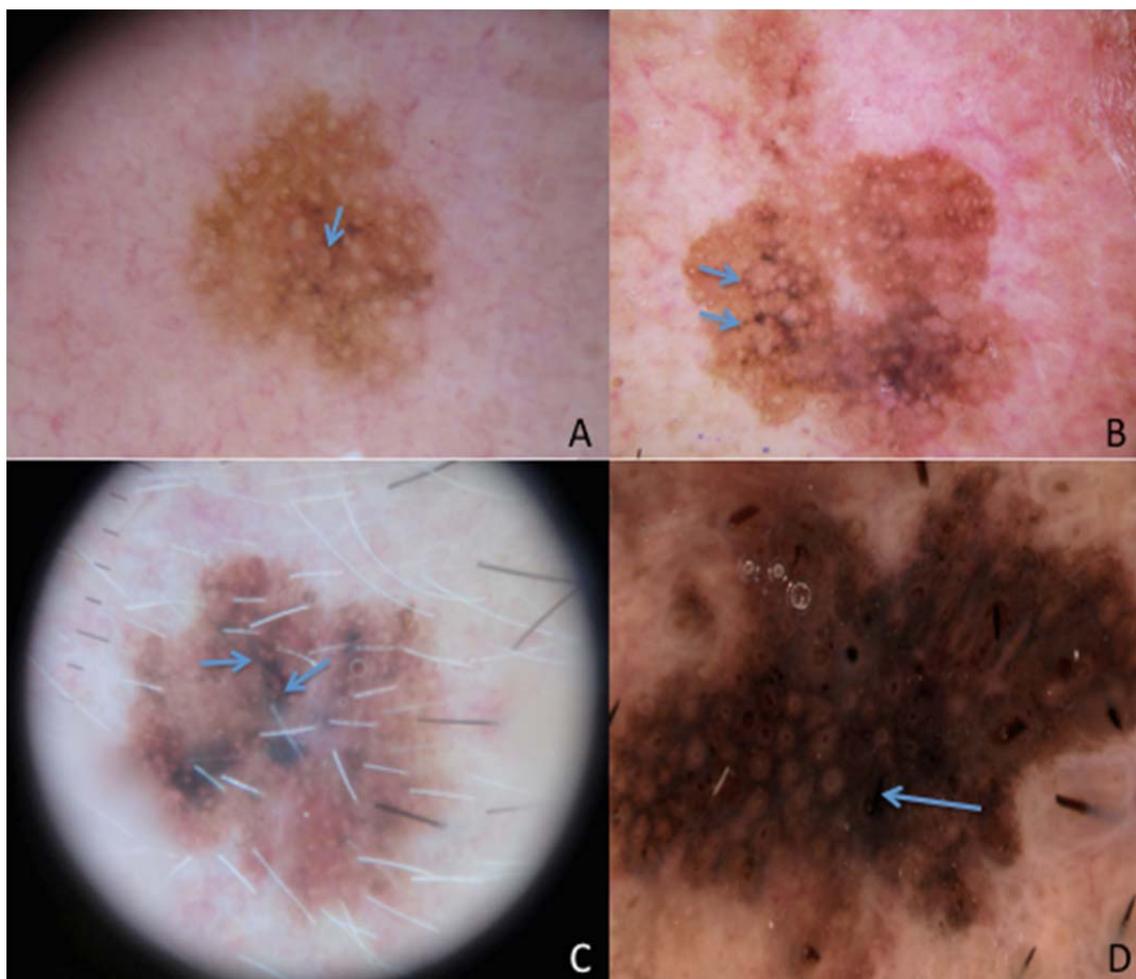


Figura 5 - Imagens das características dermatoscópicas do lentigo maligno da face. A) abertura folicular assimetricamente pigmentada (seta azul). B) pontos e glóbulos azul-acinzentados (seta azul). C) estruturas romboidais (seta azul). D) áreas escuras sem estruturas sombreando as aberturas foliculares (seta azul). Imagens: Núcleo do Câncer da Pele e Dermatologia. A.C.Camargo Cancer Center.

Dentre os critérios descritos por SCHIFFNER et al. em 2000, os dois iniciais (abertura folicular assimetricamente pigmentada e estruturas anular-granular) sugerem lentigo maligno e os dois últimos (estruturas romboidais e borões ou “*blotches*”) indicam doença avançada, ou seja, o lentigo maligno melanoma. Entretanto não são características exclusivas do lentigo maligno,

pois podem estar presentes em outras lesões pigmentadas benignas como QAP, LPLK, QS, LS e nevo.

Apesar da descrição mais recente de inúmeras estruturas consideradas características de melanoma na face, é observado que na prática clínica, os critérios de SCHIFFNER et al. em 2000 ainda permanecem como os mais utilizados pela facilidade de serem identificados na avaliação dermatoscópica (PERIS et al. 2016).

É conhecido na literatura médica que a dermatoscopia das lesões pigmentadas isoladas da face constituem um grande desafio na prática clínica. O diagnóstico diferencial entre as lesões benignas, principalmente a LPLK e QAP, e o lentigo maligno é considerado laborioso, pois podem compartilhar achados dermatoscópicos semelhantes (ARGENZIANO et al. 2008, BOLLEA-GARLATTI et al. 2016).

AKAY et al. em 2010 analisou 89 lesões e encontrou as mesmas características dermatoscópicas para LM e QAP, exceto borrão negro que estava ausente nas QAPs. NASCIMENTO et al. em 2014, descreveram um critério dermatoscópico denominado “halo interno cinza” como uma estrutura circular, de coloração bege ou cinza, ao redor do folículo piloso formando um contorno interno dentro da cavidade da pseudorrede. Estes autores sugerem o diagnóstico de QAP quando três ou mais destas estruturas estiverem presentes, com sensibilidade e especificidade de 91% e 71%, respectivamente, em seu trabalho. Entretanto, esta peculiaridade não é exclusiva da QAP, pois neste estudo citado, o halo interno cinza, também, estava presente em lesões de lentigo maligno (NASCIMENTO et al. 2014).

Outro simulador do LM com dermatoscopia muito semelhante é a ceratose líquen plano símile (LPLK). Acredita-se ser uma lesão em regressão proveniente de ceratose seborreica ou lentigo solar. No seu estágio inicial pode exibir vasos em pontos, lineares curtos ou em serpentina e rosetas. No estágio intermediário apresenta linhas finas acastanhadas e estruturas de regressão: pontos acinzentados focalmente na lesão. No estágio tardio apresenta aglomerados de pigmentos dispersos com pontos e grânulos cinzentos difusos o que é conhecido como padrão granular difuso. Os dois estágios finais simulam o LM, e na face, podem ter o exame clínico e dermatoscópico idênticos (OLIVIERO e RABINOVITZ 2018).

A presença da pseudorrede e o fato dos principais simuladores do melanoma da face apresentarem critérios dermatoscópicos semelhantes entre si, dificultam o diagnóstico precoce e acurado do lentigo maligno, sendo um verdadeiro desafio ao dermatologista (BRAUN et al. 2002, 2005; CIUDAD et al. 2011).

A existência dessas limitações do exame dermatoscópico na realização do diagnóstico das lesões pigmentadas isoladas da face levou à utilização da microscopia confocal como um método diagnóstico auxiliar na avaliação das lesões consideradas difíceis (GUITERA et al. 2009).

1.3 MICROSCOPIA CONFOCAL

A microscopia confocal *in vivo* (MC) (**Figura 6**) surgiu para auxiliar no diagnóstico das lesões dermatológicas em que a dermatoscopia possui

limitação, permitindo assim, aumentar a acurácia diagnóstica e evitar procedimentos invasivos em lesões benignas, de maneira desnecessária (O'DONNELL e KIM 2012; PELLACANI et al. 2014).

Este exame projeta imagens instantâneas, em tempo real, em planos paralelos à pele, em alta resolução, *in vivo*, e permite a visualização das estruturas microanatômicas (células, núcleos e arquitetura tecidual) da pele em uma resolução próxima à histológica, 0,5 – 1,0 μm em dimensão lateral e 4 – 5 μm no eixo axial (RAJADHYAKSHA et al. 1995, 1999; CARRERA et al. 2012, QUE et al. 2016). Consiste em um feixe de luz, a laser de 830nm, de baixa potência, capaz de visualizar até a derme papilar, com profundidade de 250 μm , identificando as estruturas celulares em tempo real. O *Vivascope*® 1500 fornece imagens de 500 x 500 μm , formando mosaico de até 8 x 8 mm em diferentes níveis de profundidade da pele, cuja resolução lateral (horizontal) é 1,25mm e a resolução vertical é menor que 5mm. Também é possível realizar imagens seriadas em uma área específica da lesão (da camada córnea à derme superficial) (RAJADHYAKSHA et al. 1995). O *Vivascope*® 3000 *handheld*, móvel e com uma lente menor em diâmetro, forma imagens de 750 x 750 μm , em “stacks”, e permite a realização do exame em áreas de difícil acesso, como por exemplo, asa nasal, peri-orbitária e comissura labial (GUITERA et al. 2009; BUSAM et al. 2009).



Figura 6 - Imagem do aparelho de microscopia confocal Vivascope® 1500

A variação da refração pela luz do laser é coletada através de uma pequena abertura (*pinhole*), opticamente conjugada e, posteriormente, transformada em imagem digital visualizada em diferentes tons de cinza (**Figura 7**). A melanina apresenta contraste mais intenso, pois seu índice de refração é 1,7; razão pela qual o citoplasma dos melanócitos aparece como

branco intenso. Já a queratina apresenta índice de refração 1,5, portanto o citoplasma dos ceratinócitos são visualizados com coloração mais escurecida (CARRERA et al. 2012).

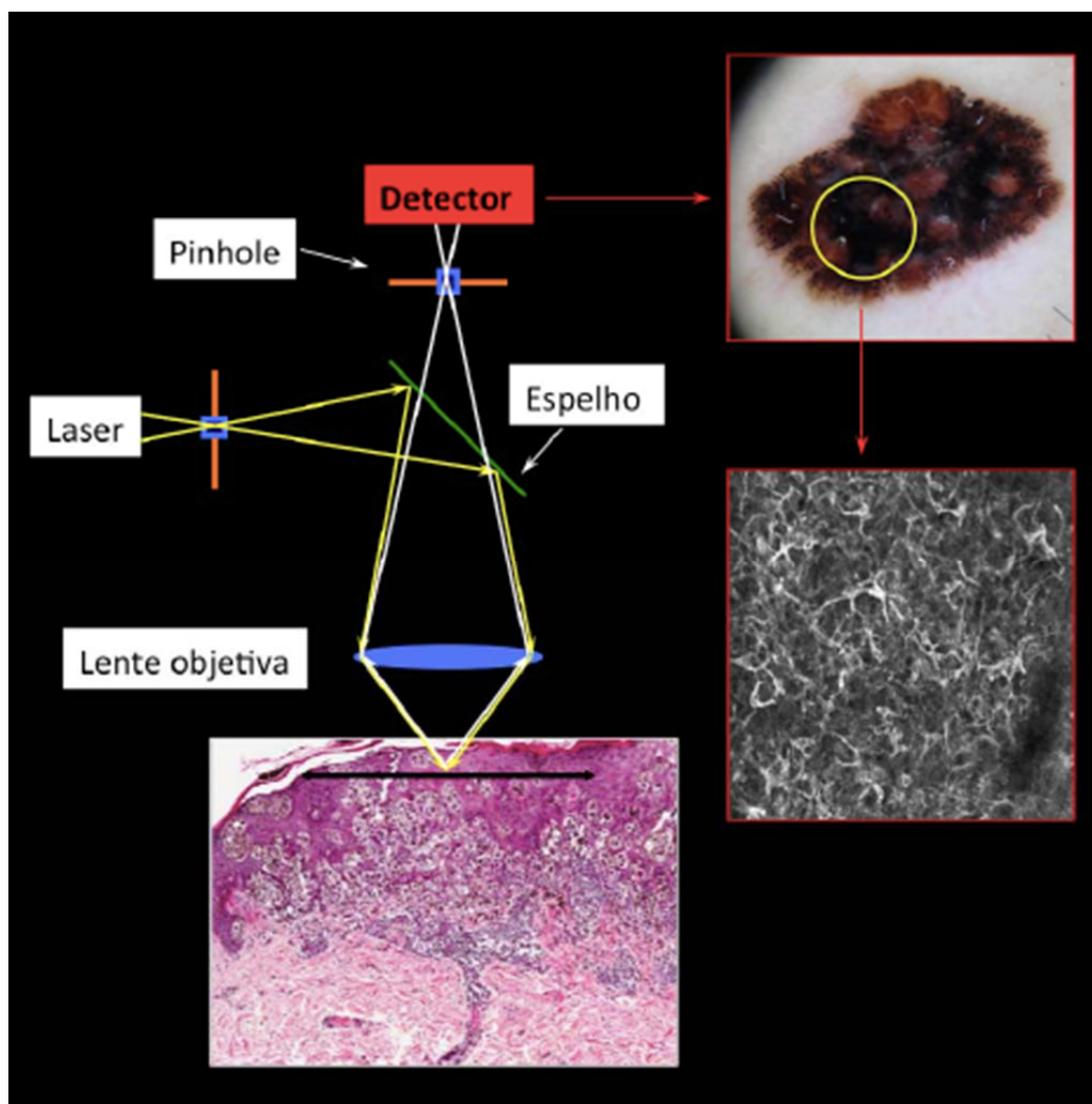


Figura 7 - Ilustração esquemática dos princípios físicos do microscópio confocal.

A microscopia confocal (MC) é um método sensível e específico para a detecção precoce do melanoma e diferenciação diagnóstica com lesões benignas, pois permite a observação citoarquitetural da epiderme, da junção

dermo-epidérmica (JDE) e da porção superior da derme. Atipias celulares e pleomorfismos podem ser visualizadas *in vivo*, elucidando assim, o diagnóstico (RAJADHYAKSHA et al. 1995, 1999; GUITERA et al. 2009; BUSAM et al. 2009). STEVENSON et al. (2013) descreveram uma metanálise em que a MC apresentou sensibilidade de 93% e especificidade de 76% para o diagnóstico do melanoma em lesões pigmentadas que geraram dúvida ao exame clínico.

1.3.1 Realização do Exame de Microscopia Confocal

Para a realização do referido exame, seleciona-se a lesão cutânea de interesse e sobre ela é aplicado um anel metálico acoplado a um adesivo com o centro transparente, aplica-se um óleo na interface entre o anel e a pele. O microscópio confocal possui um braço articulado que permite encaixe ao anel metálico. Utiliza-se também um gel na interface entre o anel e a lente do microscópio contida na extremidade do braço articulado para obtenção de uma imagem com melhor qualidade (RAJADHYAKSHA et al. 1995) (**Figura 8**).

Com a utilização do anel adesivo, a pele torna-se estável lateralmente e permite que a lente se movimente para que toda a lesão seja examinada. A luz laser incide sobre uma delimitada área da lesão de interesse, é refletida e, conseqüentemente, dispersada devido às variações do índice de refração de organelas e estruturas teciduais, resultando no contraste das imagens confocais (imagens em preto e branco) (RAJADHYAKSHA et al. 1995).

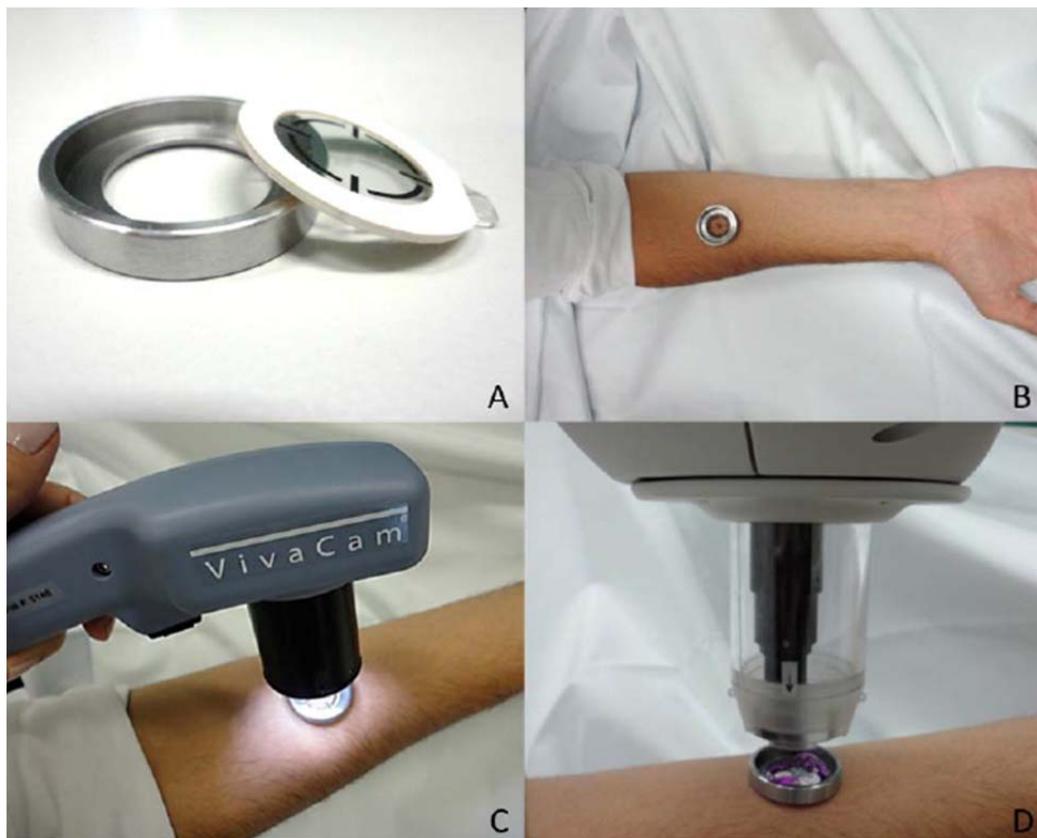


Figura 8 - Preparo para realização do exame de microscopia confocal. As imagens ilustram os passos mais importantes para a realização do exame com o aparelho Vivascope® 1500. A) Colar o anel plástico adesivo ao anel metálico. B) Após a aplicação do meio de imersão (geralmente óleo), fixar o anel à pele. C) Aquisição da imagem dermatoscópica. D) Adicionar gel de ultrassom ao anel metálico e acoplar a lente do microscópio.

1.3.2 Análise da microscopia confocal: pele normal

O exame de microscopia confocal é realizado nos três níveis da pele, avaliando assim, a arquitetura tecidual na epiderme (camadas córnea, granulosa, espinhosa e basal); na junção dermo-epidérmica (JDE) e na derme superficial (papilar).

Na epiderme, especificamente na camada córnea, observa-se células brilhantes poligonais anucleadas, grandes (10 a 30 μm) onde os dermatóglifos correspondem a sulcos escuros. A camada granulosa exibe

células (25 a 35 μm) com citoplasma granuloso e grande núcleo oval, está localizada a 15 μm do extrato córneo. Na espinhosa avalia-se o padrão em "favo de mel" ou *honeycomb*, pelo espaçamento entre os ceratinócitos e citoarquitetura destas células (10 a 25 μm). Na pele normal a parede dos ceratinócitos exibem linhas uniformes, finas e com reflectividade semelhante. Os núcleos dos ceratinócitos apresentam tamanho regular. Na camada basal as células contêm maior quantidade de melanina, portanto, são mais brilhantes (CALZAVARA-PINTON et al. 2008; AHLGRIMM-SIESS et al. 2018).

Na JDE, os ceratinócitos basais são células brilhantes arredondadas e formam anéis brilhantes ao redor da papila escura (papilas demarcadas). Quando há presença de alongados cones e cristas interpapilares esboça-se o padrão "pedra em calçamento" (*cobblestone*) na região supra-papilar. Entretanto, na face, por ocorrer retificação das cristas interpapilares, os ceratinócitos basais apresentam-se agregados acima da derme, e, não há o padrão anelar (AHLGRIMM-SIESS et al. 2018).

Na derme papilar é observado o fluxo sanguíneo dentro dos capilares, bandas de fibras colágenas reticuladas ou em feixe e melanófagos que são visualizados como células grandes e brilhantes (*plump bright cells*) (CARRERA et al. 2012; AHLGRIMM-SIESS et al. 2018) (**Figuras 9 e 10**).

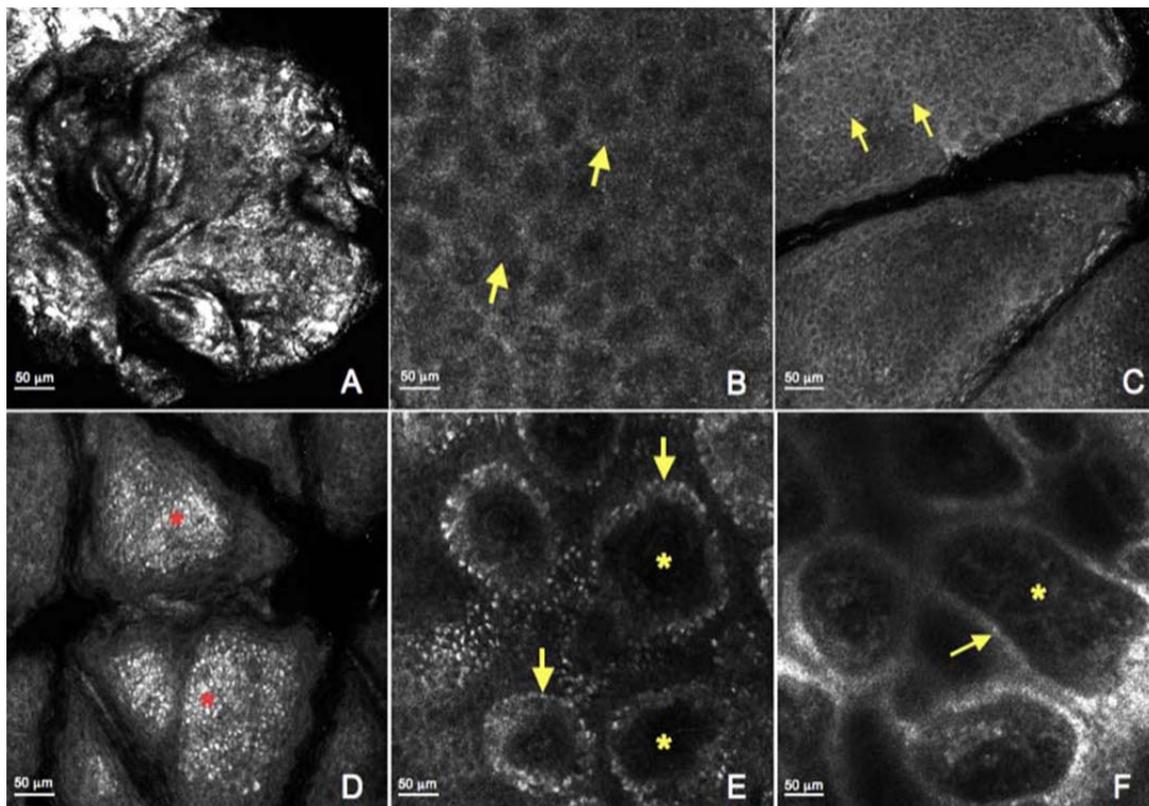
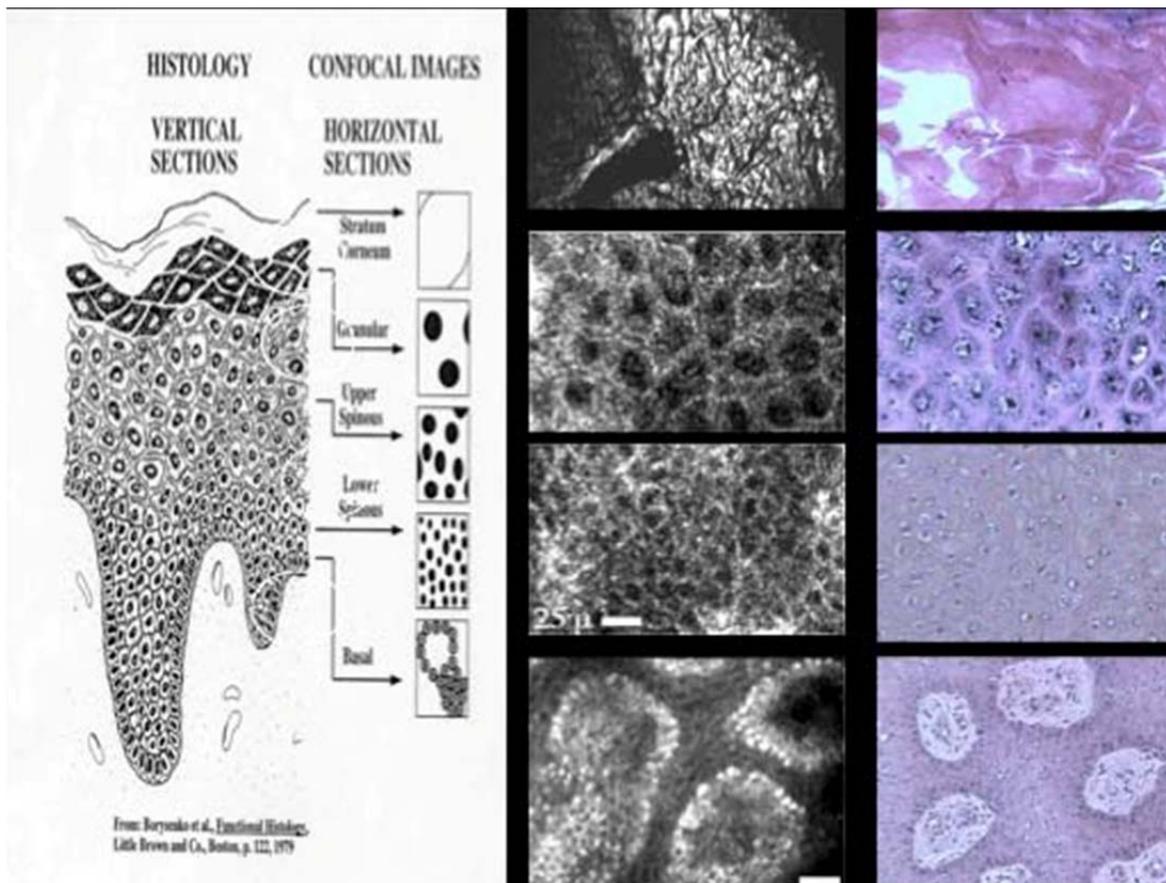


Figura 9 - Imagens da pele normal na microscopia confocal (0.5 x 0.5 mm).

A. O estrato córneo aparece como grupos de células brilhantes separadas por depressões cutâneas não-refletivas ou dermatoglifos. B. A camada granulosa apresenta padrão regular em “favo de mel” e ceratinócitos poligonais com citoplasma granuloso e núcleo escuro central (setas). C. A camada espinhosa também apresenta padrão em “favo de mel” e os ceratinócitos são menores com núcleo escuro central circundado por citoplasma brilhante (setas). D. Camada basal com aspecto em “pedras de calçamento”, formada pelo agrupamento de pequenas células brilhantes sem núcleo visível (asteriscos). E. Junção dermo-epidérmica composta por anéis (setas) circundando a derme papilar (asteriscos) representam as papilas demarcadas. F. A derme papilar apresenta trama reticular de fibras acinzentadas (asterisco) com vasos capilares centrais e circundada por anéis de células brilhantes correspondente aos ceratinócitos basais (setas).



Fonte: Modificado de MARGHOOB et al. (2003)

Figura 10 - Comparação entre MC e histopatologia (cortes histológicos transversais) na pele normal.

1.3.3 Análise da microscopia confocal: lentigo maligno

Os achados do lentigo maligno e lentigo maligno melanoma observados na microscopia confocal são: epiderme com desorganização arquitetural e perda do padrão em “favo de mel” (AHLGRIMM-SIESS et al. 2009), melanócitos atípicos na JDE que apresentam-se como células pleomórficas atípicas, que podem ser redondas ou dendríticas. Estas células são brilhantes e têm o dobro do tamanho dos ceratinócitos adjacentes. SCOPE et al. (2007) descreveram a terminologia da confocal, e, especificaram que as células atípicas redondas intra-epidérmicas

apresentam núcleo escuro, citoplasma brilhante e representam melanócitos supra-basal. Já as células atípicas estreladas, ou seja, dendríticas intra-epidérmicas podem ser melanócitos ou células de Langerhans. Nos anexos, os melanócitos agregam-se e infiltram o folículo piloso (STAR e GUITERA 2016). Este folículotropismo por células dendríticas é denominado estrutura em “cabeça de medusa” (*medusahead-like*), é bastante característico do LM porém não é exclusivo dele, pois pode estar presente em infiltrado inflamatório de lesões benignas (CARVALHO et al. 2015; PERSECHINO et al. 2018) (**Quadro 1, Figura 11**).

Conforme o LM evolui, a disseminação pagetóide das células dendríticas pode ocorrer na epiderme, causando um desarranjo arquitetural. O termo *pagetoid spread* foi descrito por SCOPE et al. (2007) e define-se por presença de células com núcleo escuro e citoplasma brilhante, redonda ou dendrítica, frequentemente com tamanho duas vezes maior do que o ceratinócito ao redor, nas camadas superficiais da epiderme (SCOPE et al. 2007). Já a presença de grande quantidade destas células dendríticas na junção dermo-epidérmica (JDE) é chamada de lençol de células (*sheets of cells*) (CINOTTI et al. 2018).

No LMM é comum visualizar células redondas nucleadas agrupadas formando ninhos que se projetam para a derme papilar, levando também ao desarranjo da JDE (STAR e GUITERA 2016).

Estruturas em “cords” são frequentemente encontradas na JDE do LM, e podem ser formadas por células dendríticas atípicas em contiguidade (AHLGRIMM-SIESS et al. 2009; STAR e GUITERA 2016; AHLGRIMM-

SIESS et al. 2018). Alguns autores descrevem esta estrutura presente em 48% dos LM como lesão de colisão com a justificativa de que o LM é comum em pele com fotodano, e portanto, pode se apresentar juntamente com os lentigos solares e/ou QS (DALTON et al. 2005). Autores como AHLGRIMM-SIESS et al. em 2009, observaram a presença de *CORDS* em todos os LM e LMM avaliados.

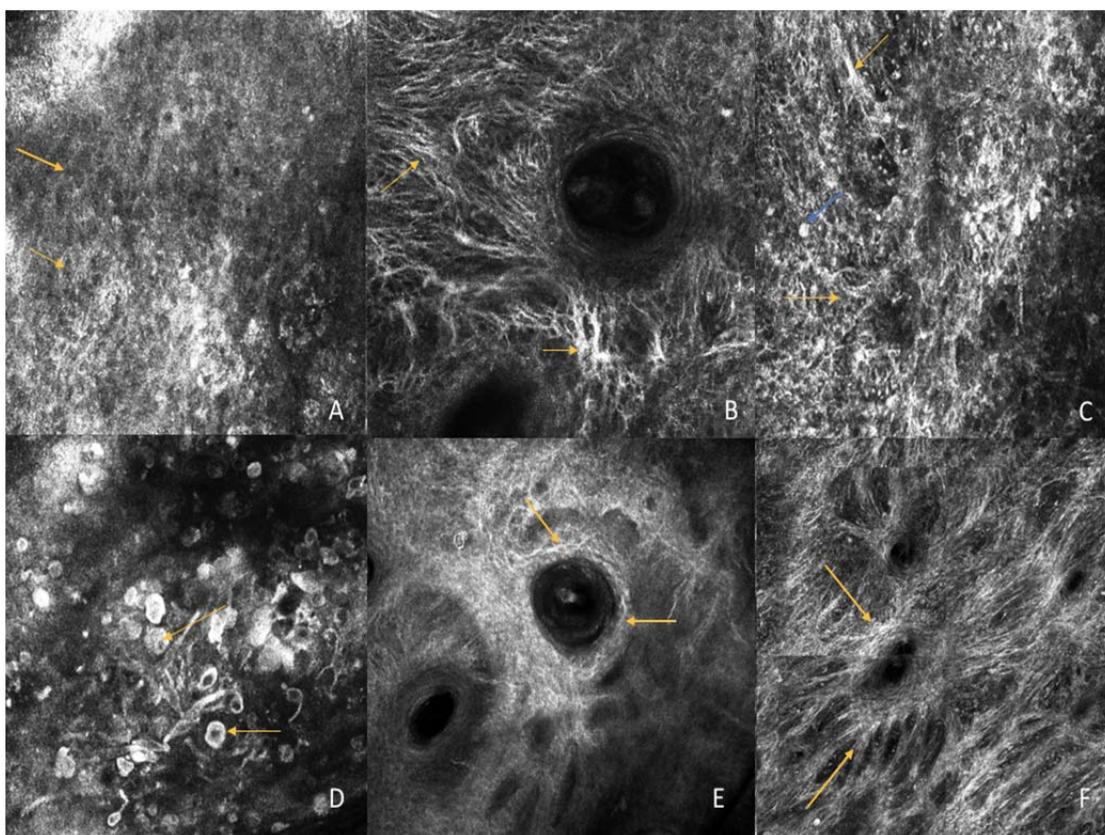


Figura 11 - Alterações do LM/LMM na MC. A) Imagem MC 300 µm padrão favo de mel atípico da epiderme. B) Imagens MC 300 µm múltiplas células dendríticas no epitélio interfolicular. C) Imagens MC 300 µm Lençol de células dendríticas (setas amarelas) e célula atípica redonda (seta azul). D) Imagens MC 300 µm disseminação de células redondas nucleadas intra-epidérmica. E) Imagens MC 300 µm célula dendrítica infiltrando epitélio folicular. F) Imagens MC 300 µm cabeça de medusa.

Quadro 1 - Achados do LM na microscopia confocal.

critério RCM	Definição	camada da pele
melanócitos atípicos (focal ou em ninhos)	células nucleadas de vários tamanhos, redonda, poligonal ou dendrítica, focal ou agrupada, ao redor das aberturas foliculares	camada basal ou supra-basal
lençol de células dendríticas (melanócitos atípicos)	confluência de células alongadas nucleadas dispostas no plano horizontal	camada basal ou supra-basal
infiltração dos anexos	presença de células polimorfas alongadas que infiltram o epitélio folicular	abertura anexial
desorganização da epiderme	perda parcial ou completa do padrão favo de mel	epiderme
disseminação pagetóide	células nucleadas redondas ou dendríticas	epiderme superficial
melanócitos atípicos na derme papilar	células nucleadas redondas e brilhantes	derme papilar
melanófagos	células anucleadas, brilhantes, de formato irregular, isoladas ou agrupadas	derme papilar
<i>cords</i>	estrutura tubular alongada e ramificada, pode conter célula nucleada polimorfa isolada	JDE
"cabeça de medusa"	foliculotropismo por células dendríticas atípicas	camada basal ou supra-basal

GUITERA et al. (2010) em um estudo sobre lesão pigmentada da face com o uso da microscopia confocal, após avaliar 81 LM e 203 lesões benignas, desenvolveu um escore para diferenciar o LM de mácula pigmentada benigna da face. Este escore consiste em 2 critérios maiores e 4 critérios menores. A soma maior que 2 apresenta sensibilidade de 85% e especificidade de 76% para o diagnóstico de LM (**Quadro 2**).

Quadro 2 - Escore para Lentigo Maligno

CRITÉRIOS		PONTOS
Maiores	papilas não demarcadas	(+2)
	célula pagetóide redonda maior do que 20µm	(+2)
Menores	mais de 3 células atípicas na JDE em 5 imagens	(+1)
	célula pagetóide folicular ou célula atípica na JDE	(+1)
	célula nucleada dentro da papila	(+1)
	padrão em favo de mel típico	(-1)

Fonte: GUITERA et al. (2010)

Com o objetivo de elucidar o diagnóstico de lesão pigmentada da face com o uso da microscopia confocal, PERSECHINO et al. (2018) avaliaram 154 lesões sendo 54 LM 22 LMM e 78 lesões benignas (50 LS/LPLK 28 QAP). Os critérios que apresentaram significância para o diagnóstico de LM/LMM foram células pagetóides redondas, células dendríticas na epiderme, ninhos na JDE e célula redonda na derme superior. Infiltração folicular por células dendríticas foi encontrado em LM/LMM e QAP, apesar do aspecto “cabeça de medusa” ser menos frequente nas QAP.

Apesar de vários critérios do LM e LMM na microscopia confocal já terem sido descritos, ainda existe dúvida diagnóstica, pois estes critérios não são exclusivos do LM/LMM, e com isso, podem estar presentes em lesões benignas da face.

1.3.4 Análise da microscopia confocal: principais diagnósticos diferenciais

Assim como na dermatoscopia, o principal simulador do LM na microscopia confocal é a queratose actínica pigmentada. Os achados

descritos são pleomorfismo e alargamento nuclear, desorganização arquitetural da epiderme com padrão em favo de mel atípico, células redondas nucleadas na camada espinhosa e células dendríticas foliculares (WURN et al. 2012; MOSCARELLA et al. 2015). Pode haver ceratinócitos pigmentados ao redor das aberturas foliculares em formato de anel na JDE (NASCIMENTO et al. 2104). NASCIMENTO et al. (2014) comparou 9 QAP e 5 LM na face e observou nas QAP um intenso infiltrado de células dendríticas interfoliculares mas que não infiltravam o infundíbulo folicular. Enquanto nos LM, as células dendríticas atípicas estavam presentes tanto na epiderme interfolicular, assim como, infiltravam o epitélio do folículo piloso (Figura 12).

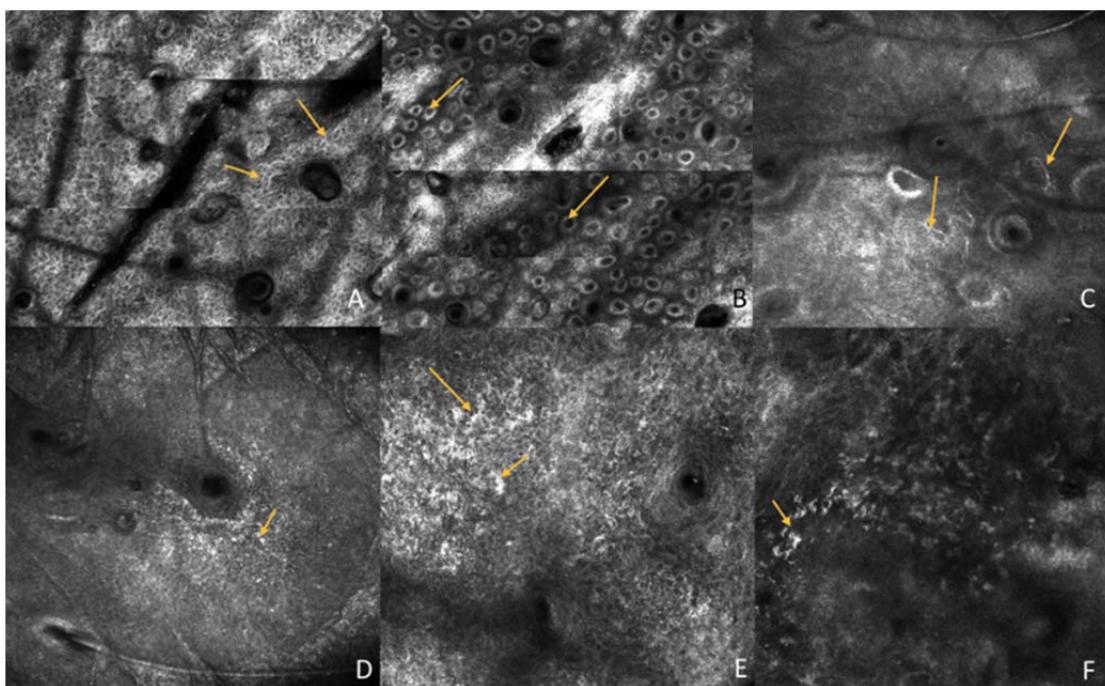


Figura 12 - Alterações da QAP na MC. **A)** mosaico 1500 µm: padrão favo de mel atípico. **B)** mosaico 2 x 2 mm ceratinócitos pigmentados ao redor das aberturas foliculares em padrão em anel. **C)** imagem 300 µm: células dendríticas na epiderme. **D)** imagem 300 µm: célula redonda na epiderme. **E)** imagem 300 µm: múltiplas células dendríticas no epitélio folicular. **F)** imagem 300 µm: melanóforos na derme.

Na derme papilar é possível visualizar *Cords* ou projeções bulbosas (**Figura 13**), frequentemente encontrados em ceratoses seborreicas, lentigos solares e LPLK (AHLGRIMM-SIESS et al. 2018). No entanto, como esta estrutura está presente muitas vezes no LM, é importante atentar-se aos demais critérios da lesão para evitar erro diagnóstico e negligenciar uma lesão maligna por ter visualizado critério de lesão benigna (*cords*) (AGOZZINO et al. 2018; CINOTTI et al. 2018).

As ilhas tumorais e silhuetas escuras, características do carcinoma basocelular, são habitualmente visualizadas na derme papilar e correspondem, histologicamente, a blocos tumorais do CBC (**Figura 14**) (AHLGRIMM-SIESS et al. 2018).

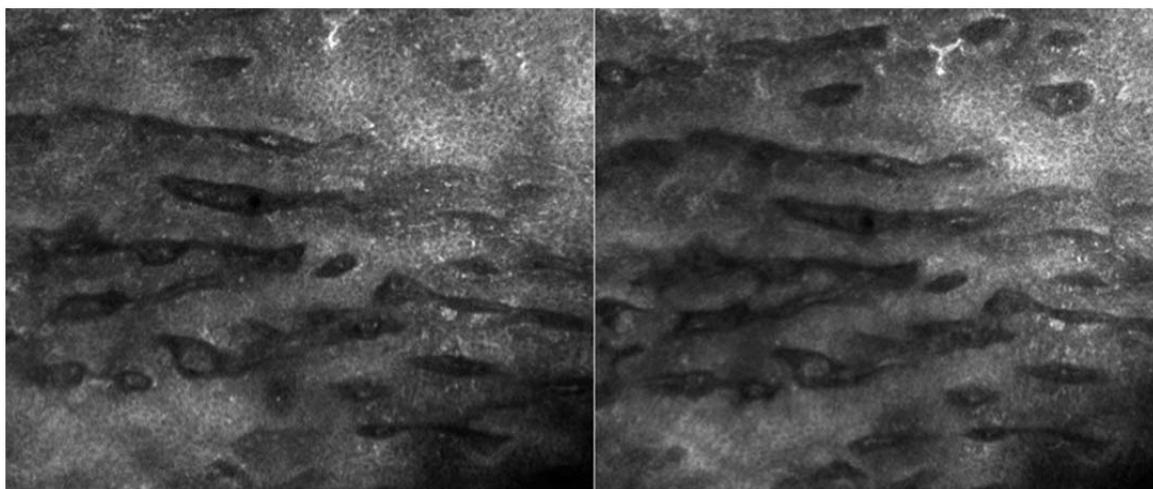


Figura 13 - Imagens MC 500 μm presença de *Cords* ou projeções bulbosas.

Diagnóstico: ceratose seborreica.

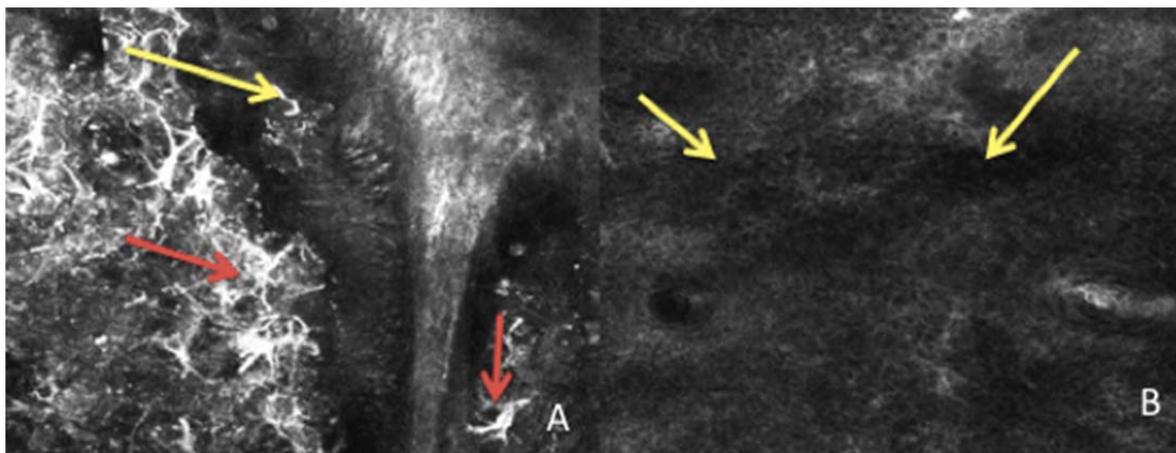


Figura 14 - Imagens individuais na microscopia confocal (500 μ m). A) silhuetas escuras (setas amarelas) revelando blocos tumorais; células dendríticas e melanócitos (setas vermelhas). B) Silhuetas escuras (setas amarelas). Diagnóstico: carcinoma basocelular.

1.4 HISTOPATOLOGIA E IMUNOISTOQUÍMICA DO LENTIGO MALIGNO DA FACE E SEUS DIFERENCIAIS

Conforme mencionado anteriormente, o LM acomete locais de exposição crônica ao sol, mais frequentemente a face. Sendo assim, pode apresentar-se com amplo espectro de características histopatológicas. Quando em estadio mais avançado, o lentigo maligno melanoma caracteriza-se por proliferação melanocítica confluyente de melanócitos formando agregados de células neoplásicas com intensas atipias, formando células multinucleadas, com migração pagetóide, além de apresentar extensão anexial frequente. Entretanto, o lentigo maligno pode apresentar-se como lesão inicial, caracterizada por um aumento discreto na proliferação de melanócitos atípicos, o que torna o diagnóstico diferencial com outras lesões, comumente presentes nestas regiões de exposição solar como a

face, um precioso desafio ao patologista. Entre os diagnósticos diferenciais encontram-se a hiperplasia melanocítica reacional e a ceratose actínica pigmentada (COHEN 1996).

Para diferenciar a hiperplasia melanocítica reacional do lentigo maligno, em geral, observam-se a densidade e a homogeneidade na distribuição das células melanocíticas na junção dermo-epidérmica, assim como a presença ou ausência de atipia citológica, migração pagetóide e extensão destas células aos anexos cutâneos. A possibilidade de comparar o padrão da proliferação melanocítica de uma pele não lesional adjacente ajudaria no diagnóstico (COHEN 1996).

Ceratinócitos atípicos na camada basal ou espinhosa inferior também podem conferir dúvida diagnóstica em relação aos melanócitos atípicos na coloração hematoxilina-eosina (HE), pois ambos encontram-se aumentados de tamanho, possuem núcleo oval e citoplasma basofílico. A imunistoquímica pode elucidar esta incerteza porque há anticorpos que reconhecem estruturas dos melanócitos como antígenos e, assim, coram o citoplasma ou núcleo desta célula, como por exemplo, Melan-A, HMB-45, S-100, MITF, Sox-10. Esta técnica é de grande auxílio na diferenciação entre ceratinócitos e melanócitos (BERGMAN et al. 2000; OHSIE et al. 2008).

A amostra disponível para avaliação da lesão pigmentada da face muitas vezes é proveniente de pequena biópsia incisional, pois as lesões habitualmente são localizadas em regiões cosmeticamente valorizadas, e também por serem lesões mal delimitadas clinicamente. Desta forma, o

desafio pode tornar-se mais evidente em razão da escassez de tecido disponível para o patologista (GUITERA et al. 2010).

O LM em estágios iniciais pode gerar grande dificuldade diagnóstica na diferenciação com hiperplasia melanocítica atípica ao exame anatomopatológico (COHEN 1996). Complexidade também deparada ao analisar as margens periféricas do LM, as quais, frequentemente, são amelanóticas clinicamente e há transição sutil para a pele adjacente alterada pelo sol. Este fato, juntamente com o comprometimento do folículo piloso, são motivos relevantes para a alta taxa de recidiva do lentigo maligno e do lentigo maligno melanoma (GUITERA et al. 2010, 2013).

Células isoladas do melanoma podem ser confundidas com melanófagos na coloração de rotina com Hematoxilina-Eosina, dificultando determinar se o tumor é *in situ* ou invasivo, informação esta essencial para o tratamento adequado do paciente (SALVIO et al. 2013).

O estudo imunoistoquímico pode auxiliar no diagnóstico dessas lesões por colaborar na avaliação da densidade e do padrão de crescimento. Nestes casos a imunoistoquímica contribui para a definição diagnóstica entre lesão benigna ou maligna. A utilização do anticorpo anti-Melan-A ou Mart-1, o qual reconhece a proteína citoplasmática específica de melanócitos (benignos e malignos), é de grande auxílio no diagnóstico anatomopatológico destes casos (ORCHARD e CALONJE 1998; BERGMAN et al. 2000). A sensibilidade deste marcador é 75% e a especificidade é de 95% para melanoma (OHSIE et al. 2008). Entretanto, por tratar-se de marcador citoplasmático pode superestimar a quantidade de melanócitos.

Desta forma, o uso de marcadores nucleares trariam melhor especificidade na avaliação destas lesões (OHSIE et al. 2008). Entre os marcadores hoje descritos na literatura encontram-se o MITF e o SOX-10. Ambos os anticorpos, SOX10 e MITF, coram núcleo de melanócitos (ORCHARD e CALONJE 1998; BERGMAN et al. 2000, CRONIN et al. 2013).

Outra dificuldade diagnóstica é a avaliação morfológica das células dendríticas, pois tanto as células dendríticas do melanoma em disseminação pagetóide como as células de Langerhans apresentam-se como células dendríticas, móveis, com citoplasma claro e distribuição da camada basal à camada granulosa. Histologicamente elas apresentam proteínas CD1a, que são glicoproteínas presentes na superfície de células apresentadoras de antígenos. A CD1a é específica da célula de Langerhans, a qual na pele corresponde de 3% a 8% das células epidérmicas, apresenta variação em quantidade e formato de acordo com fatores como idade, fotodano e uso de terapia de reposição hormonal (ZEGARSKA et al. 2017).

Contudo, devido à complexidade no diagnóstico do lentigo maligno, tanto pela especificidade das características dermatoscópicas peculiares da face, quanto pela dificuldade da microscopia confocal alcançar o diagnóstico acurado do tumor, uma vez que as alterações celulares ocasionadas pelo fotodano mesclam-se com as modificações citoarquiteturais da lesão, faz-se necessário estudos para colaborar no desafio de diferenciar o LM dos seus simuladores. A fim de aumentar a sobrevida do paciente e diminuir a morbidade do tratamento.

2 JUSTIFICATIVA

Em decorrência da dificuldade de se realizar o diagnóstico acurado do lentigo maligno, faz-se imprescindível a utilização de ferramentas que possam ser utilizadas em conjunto como, a avaliação clínica, dermatoscópica, microscopia confocal, histopatologia e imunoistoquímica.

Como a dermatoscopia da face não evoluiu de modo expressivo nos últimos anos, sendo ainda, atualmente, utilizado o Método de Schiffner, descrito em 2000, busca-se, portanto, estudar as alterações da microscopia confocal das lesões isoladas da face que indiquem o diagnóstico dos melanomas na face que possam ser utilizadas na prática clínica diária, facilitando o diagnóstico (SCHIFFNER et al. em 2000, SCOPE et al. em 2007).

3 OBJETIVO

Os objetivos do presente estudo são:

- Descrever as alterações celulares e arquiteturais significativas no exame de microscopia confocal nas lesões isoladas da face para o diagnóstico de melanoma.
- Analisar as características da microscopia confocal detectadas no melanoma da face e nas lesões pigmentadas benignas preditoras de melanoma clinicamente.
- Determinar um método diagnóstico acurado utilizando-se as características da microscopia confocal descritas.
- Avaliar a utilidade do exame de imunoistoquímica como método auxiliar no diagnóstico histológico nos casos de dificuldade diagnóstica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO

É um estudo prospectivo e retrospectivo com amostragem não aleatória consecutiva no qual foram incluídos pacientes com lesões pigmentadas solitárias da face provenientes do Núcleo de Câncer de Pele A.C.Camargo Cancer Center de junho de 2011 à abril de 2017. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do A.C.Camargo Cancer Center (Projeto de Pesquisa nº 1524/11E). (Anexo 1)

4.2 POPULAÇÃO

Foram incluídos 105 casos de lesões pigmentadas isoladas da face de 105 pacientes.

4.2.1 Critérios de Inclusão

1. Pacientes com idade de 18 anos ou mais.
2. Lesão pigmentada isolada localizada na face e com suspeita clínica de melanoma.
3. Pacientes que concordaram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice 1).

4.2.2 Critérios de Exclusão

1. Pacientes que não possuíam o exame anatomopatológico da lesão.
2. Lesões pigmentadas múltiplas localizadas numa mesma região da face.

4.3 MÉTODOS

Os pacientes provenientes da consulta médica no Departamento de Oncologia Cutânea do A.C.Camargo Cancer Center com lesão facial pigmentada suspeita de malignidade (baseado nos critérios clínicos) e que, portanto, necessitavam de biópsia, foram recrutados para o estudo após assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido-TCLE (Apêndice 1) e autorização para documentação fotográfica.

A caracterização da população foi registrada em protocolo da seguinte maneira: idade, sexo, raça/etnia (branca, amarela, negra), fototipo de pele de Fitzpatrick (I, II, III, IV, V ou VI), localização da lesão facial, tamanho da lesão em mm (cl clinicamente), história pessoal e/ou familiar de melanoma, se houve alteração clínica da lesão, se o paciente notou a lesão.

4.4 DOCUMENTAÇÃO CLÍNICA E DERMATOSCÓPICA

A documentação fotográfica da lesão clínica foi realizada utilizando-se uma câmera digital Sony® Cyber Shot DSC-W290 12.1 MP e para a documentação dermatoscópica, foi utilizada a mesma câmera acoplada ao

dermatoscópio DermLite II Pro HR (DermLite®) com uso do adaptador (DermLite® II/III adapters).

A dermatoscopia de todas as lesões foi realizada na consulta para documentação em prontuário, e a lesão foi analisada independente da impressão dermatoscópica realizada pelo médico assistente.

4.5 MICROSCOPIA CONFOCAL *IN VIVO*

A microscopia confocal foi realizada com o microscópio confocal VivaScope® 1500 e VivaCam® Dermoscope® ou Vivascope® 3000 (Caliber Lucid-Tech, Rochester, New York, EUA) dependendo da região onde estava localizada a lesão. Foram analisados individualmente os três níveis da pele: epiderme (camadas córnea, granulosa e espinhosa); junção dermo-epidérmica (JDE) e derme superficial, com a documentação das imagens o mais abrangente possível, realizando-se os mosaicos de acordo com o tamanho da lesão (chegando-se ao máximo de 8X8mm) e no caso de lesões maiores de 8mm de diâmetro, outros anéis eram posicionados e novos mosaicos eram realizados até que toda a lesão fosse avaliada. Nas áreas de interesse, eram realizados *stacks* (imagens sequenciais do mesmo campo em profundidades progressivas) para a análise dos anexos epidérmicos e outras áreas de interesse.

Os critérios epidérmicos analisados na microscopia confocal foram: padrão em "favo de mel" típico ou atípico; presença de células dendríticas; presença de células nucleadas redondas; disseminação pagetóide (presença

de múltiplas células atípicas, redondas ou dendríticas, infiltrando a epiderme). Os critérios da junção dermoepidérmica: presença de *Sheets of cells* (lençol de células); ninhos celulares densos e homogêneos (típico) ou denso e esparsos, com atipias (atípico); célula nucleada redonda ou dendrítica na junção dermo-epidérmica; presença de células dendríticas foliculares (célula dendrítica no epitélio folicular) e presença de *cords* ou projeções bulbosas. Na derme foram avaliadas: presença de ilhas tumorais e fendas.

4.6 EXAME HISTOPATOLÓGICO E ESTUDO IMUNOISTOQUÍMICO

Após a realização da dermatoscopia e do exame de microscopia confocal de reflectância das lesões de interesse, os pacientes foram submetidos ao tratamento cirúrgico e em seguida o espécime foi acondicionado em solução de formalina a 10% por aproximadamente 24 horas e encaminhado ao Departamento de Patologia do AC Camargo Cancer Center, São Paulo, para processamento. Após inclusão em bloco de parafina, foram realizados cortes histológicos que foram encaminhados para coloração de rotina por hematoxilina e eosina (H&E). A avaliação microscópica foi realizada por um patologista seguindo a rotina diagnóstica do Departamento de Patologia do A.C.Camargo Cancer Center e os espécimes foram analisados quanto ao diagnóstico da lesão utilizando-se o protocolo determinado pelo departamento.

Foram selecionados dez casos de dificuldade diagnóstica anatomopatológica ou que geraram divergência diagnóstica entre o exame de MC e a histopatologia, para estudo histológico detalhado com auxílio do estudo imuno-histoquímico.

4.6.1 Reações Imuno-histoquímicas

As reações de imuno-histoquímica foram realizadas em plataforma automatizada utilizando o equipamento Benchmark ULTRA (VENTANA). Foi aplicado o protocolo sugerido pelo fabricante (VENTANA). Ao final das reações foi realizada contra coloração com Hematoxilina (Hematoxina II-Ventana) por 12 minutos seguido de incubação com Bluing Reagent (pós-contrastante) por 4 minutos. Lavagem das lâminas em Reaction buffer, passagem em água corrente e montagem das lâminas.

As reações utilizando a dupla marcação MITF/P63 constituíram na utilização dos anticorpos MITF (clone C5+D5-Cell Marque) e p63 (clone 4^a4-VENTANA), que expressaram as seguintes etapas: desparafinização em solução de EZ Prep, aplicação do BenchMark Ultra LCS após lavagens e antes das aplicações dos reagentes subsequentes, recuperação antigênica por calor (95°C) em solução recuperante BenchMark Ultra CC1 (pH 8,0) por 64 minutos, lavagem com Reaction Buffer, seguida da aplicação do anticorpo MITF por 48 minutos, detecção com UltraView Universal DAB Kit, lavagens com Reaction Buffer e na sequência aquecimento a 90°C por 4 minutos para desnaturação. Após a lavagem com Reaction Buffer, aplicação do anticorpo dupla marcação (p63) por 48 minutos e detecção com

UltraView Universal Alkaline Phosphatase Red Detection Kit.

Para os anticorpos CD1a e Melan-A o protocolo consistiu em desparafinização em solução de EZ Prep, aplicação de Ultra Liquid Coverslip (LCS) após lavagens e antes das aplicações dos reagentes subsequentes, recuperação antigênica por calor (95°C) em Ultra Cell Conditioning Solution (CC1) por 36 e 64 minutos, lavagem com Reaction Buffer, seguida da aplicação do Anticorpo primário (CD1a - clone MTB1-Cell Marque e Melan-A- clone A-103 Ventana) por 32 e 48 minutos, e detecção com ultraView Universal DAB Kit, lavagens com Reaction buffer.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi realizada a análise exploratória de dados como frequências para exibir os dados clínicos e epidemiológicos quanto a presença de melanoma, a fim de caracterizar a população do estudo e achados dermatoscópicos.

O teste de independência foi aplicado aos critérios da microscopia confocal, utilizando o Teste Exato de Qui Quadrado, de forma bivariada entre duas variáveis categóricas (critério da microscopia confocal e diagnóstico de melanoma) em formato de tabela cruzada 2 x 2. Foi considerado o Teste Qui-quadrado com correção de continuidade para os casos com células < 20% e o valor p significativo <0,05. Quando a tabela cruzada expressava o valor de células >20% utilizou-se o Teste Exato de Fisher para avaliar independência entre as duas variáveis categóricas.

O Teste de Levene e o Teste t Student foram aplicados para critérios

quantitativos na amostra independente para média, mediana e moda de idade, além do tamanho, em milímetros, para quem teve melanoma.

Regressão Logística Univariada foi realizada através de estimativas de risco pelo *Odds Ratio* para quantificar o risco das características da microscopia confocal para o diagnóstico de melanoma.

A partir da Regressão Logística Univariada foram selecionados os critérios da microscopia confocal que apresentaram significância estatística (excluídos padrão em favo de mel atípico e *CORDS*), e assim, realizado um modelo de Regressão Logística Múltipla.

Resultante da Regressão Logística Múltipla foi criado um Nomograma para quantificar, em porcentagem, a chance de ter o diagnóstico de melanoma de acordo com a presença, singular ou concomitante, dos critérios da microscopia confocal supracitados.

5 RESULTADOS

Foram incluídas um total de cento e cinco lesões pigmentadas isoladas da face, em cento e cinco pacientes distintos. Destas, 52 (49,5%) tiveram diagnóstico de melanoma 16 (15,24%) de carcinoma basocelular 12 (11,43%) de queratose actínica pigmentada, 8 (7,62%) de queratose seborreica, 5 (4,76%) de nevo melanocítico atípico 1 (0,95%) de nevo azul, 4 (3,81%) de proliferação melanocítica atípica, 4 (3,81%) de lentigo solar 2 (1,90%) de líquen-plano like queratose e 1 (0,95%) de carcinoma espinocelular pigmentado (**Tabela 1**).

Tabela 1 - Frequência de diagnósticos

Diagnóstico	Nº de lesões (n)	Frequência (%)
Melanoma	52	49,52
CBC pigmentado	16	15,24
Queratose actínica	12	11,43
Queratose seborréica	8	7,62
Nevo melanocítico	6	5,71
PMA	4	3,81
Lentigo solar	4	3,81
LPLK	2	1,9
CEC pigmentado	1	0,95
TOTAL	105	100

Na população estudada, 43,8% (46) dos pacientes eram do sexo masculino e 56,2% (59) do sexo feminino. Em relação à raça, 97,1% (102) eram da raça branca e 2,9% (3) correspondem à raça amarela. A idade

variou de 27 a 89 anos, sendo que a média de idade no grupo com melanoma foi de 65 anos e a mediana também de 65 anos com desvio padrão de 14,13 anos. Já no grupo não melanoma a idade também variou de 27 a 89 anos, sendo a média de 63 anos e a mediana de 66 anos com desvio padrão de 14,13 anos (**Tabela 2**). O fototipo mais prevalente foi o fototipo III, representado por 45,8% dos casos, seguido pelo fototipo II (44,8%), fototipo I e IV com 4,8% cada (**Tabela 3**).

Tabela 2 - Variação da idade da população.

Variáveis	Melanoma	N	Min	Média	Mediana	Max	Desvio Padrão	Valor p
Idade	Não	53	27	63,64	66,0	89	14,135	0,601
	Sim	52	29	65,06	65,5	89	13,533	
	Total	105	27	64,34	66,0	89	13,792	

A distribuição das lesões em relação à topografia apresentou incidência de 49,5% das lesões localizadas em região malar 24,8% em região frontal 17,1% em região nasal 2,9% em área perioral 2,9% em mento e 2,9% em região periorbitária (**Tabela 3**).

Tabela 3 - Epidemiologia e dados clínicos.

Variável	Categoria	Número de pacientes (n)	Frequência (%)
Sexo	Masculino	46	43,8
	Feminino	59	56,2
Fototipo	I	5	4,8
	II	47	44,8
	III	48	45,8
	IV	5	4,8
Topografia	Frontal	26	24,8
	Nasal	18	17,1
	Malar	52	49,5
	Perioral	3	2,9
	Mento	3	2,9
	Periorbital	3	2,9
Pigmentada isolada	Não	0	0,0
	Sim	105	100,0
História pessoal de Melanoma	Não	76	72,4
	Sim	29	27,6
História familiar de Melanoma	Não	89	84,8
	Sim	16	15,2
Mudança da lesão	Não	52	49,5
	Sim	53	50,5
Paciente notou a lesão	Não	36	34,3
	Sim	69	65,7

Quando analisamos as variantes clínico-epidemiológicas somente no subgrupo de pacientes com diagnóstico de melanoma observamos que do total de 52 pacientes, a maioria são do sexo masculino, representado por 51,92% e o sexo feminino corresponde a 48,08%. O fototipo mais prevalente foi o II (48,08%), seguido do III (42,31%), I (5,77%) e IV (3,85%) respectivamente. A topografia mais frequente foi a região malar (55,77%), seguida da região frontal (25%), nasal (11,54%), mento (3,85%), periorbital e

perioral, ambas com um caso (1,92%). Quinze pacientes (28,85%) apresentavam história pessoal de melanoma e apenas 9 (17,31%) apresentavam história familiar de melanoma. Trinta e sete pacientes (71,15%) notaram a lesão e 32 (61,54%) relataram mudança da lesão. (Tabela 4).

Tabela 4 - Dados clínicos e epidemiológicos dos pacientes com melanoma

Variável	Categoria	N total (52)	Frequência (%)
Sexo	Feminino	25	48,08
	Masculino	27	51,92
Raça	Branca	52	100
Fototipo	I	3	5,77
	II	25	48,08
	III	22	42,31
	IV	2	3,85
Topografia	Frontal	13	25,00
	Nasal	6	11,54
	Malar	29	55,77
	Periorbital	1	1,92
	Perioral	1	1,92
	Mento	2	3,85
História pessoal de melanoma	Sim	15	28,85
História familiar de melanoma	Sim	9	17,31
Paciente notou a lesão	Sim	37	71,15
Paciente notou mudança na lesão	Sim	32	61,54

Dentre as lesões avaliadas 64 (61%) eram melanocíticas cujos critérios dermatoscópicos e suas respectivas frequências estão descritos no APÊNDICE 2.

O número de lesões e as frequências dos critérios de microscopia confocal observados estão descritos na Tabela 5 (Figuras 15 à 18).

Tabela 5 - Frequência dos critérios de microscopia confocal observados nas lesões de melanoma e não melanoma.

Variável	Melanoma		valor p
	não	sim	
Célula redonda nucleada na epiderme	5 (9,4%)	43 (82,7%)	<0,0001
Célula dendrítica nucleada na epiderme	23 (43,4%)	49 (94,2%)	<0,0001
Disseminação pagetóide	2 (3,8%)	40 (76,9%)	<0,0001
Células atípicas na JDE	6 (11,3%)	30 (57,7%)	<0,0001
Ninhos juncionais atípicos	2 (3,8%)	11 (21,2%)	0,016
<i>Cords/ bulbous projections</i>	12 (22,6%)	8 (15,4%)	0,485
<i>Tumoral island/ dark sillouets</i>	17 (32,1%)	1 (1,9%)	<0,0001
<i>Honeycomb</i> atípico	10 (18,9%)	4 (7,7%)	0,162
Células dendríticas foliculares	8 (15,1%)	45 (86,5%)	<0,0001
<i>Sheets of cells</i>	3 (5,7%)	39 (75,0%)	<0,0001

n= número de lesões.

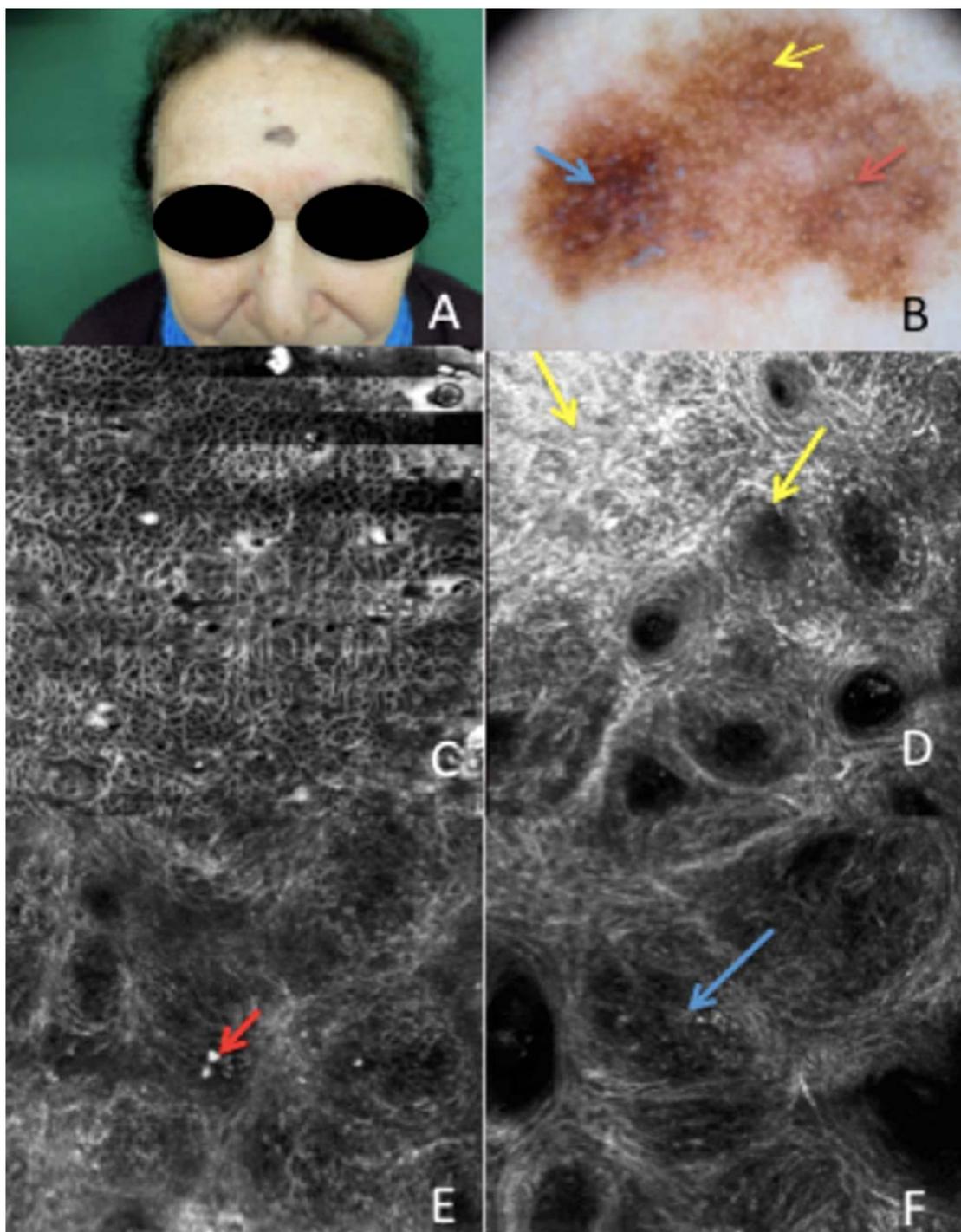


Figura 15 - Caso clínico 1. A) Lesão pigmentada e isolada em região frontal. B) Dermatoscopia com abertura folicular assimetricamente pigmentada (seta vermelha), círculo dentro círculo (seta amarela), estruturas romboidais perifoliculares (seta azul). C) Microscopia confocal em mosaico. D) Imagem em 500 μm , epiderme com múltiplas células dendríticas formando um lençol de células e invadindo a abertura folicular (seta amarela). E) Imagem em 500 μm , JDE com presença de células brilhantes gigantes (seta vermelha). F) Imagem em 500 μm , topo de papila com presença de ninho. **Diagnóstico:** lentigo maligno.

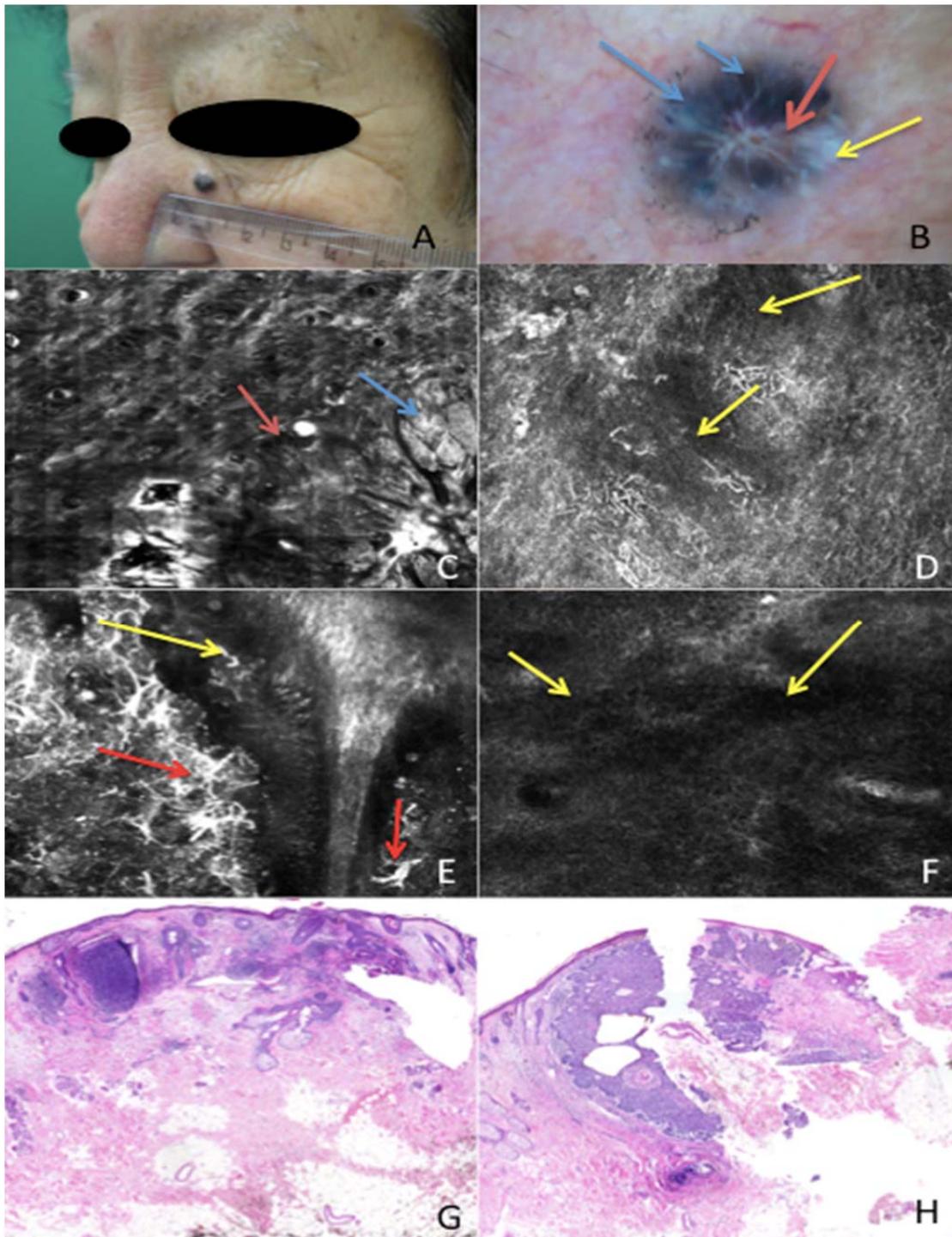


Figura 16 - Caso clínico 2. A) Lesão pigmentada e isolada em malar esquerdo. B) Dermatoscopia: ninhos ovóides (seta azul), crisálidas (seta amarela) e telangectasia (seta vermelha). C) Microscopia confocal em mosaico: ilha tumoral (seta azul) com silhuetas escuras (seta vermelha). D, E, F) Imagem em 500 µm: Silhuetas escuras (setas amarelas) revelando blocos tumorais; células dendríticas e melanócitos (setas vermelhas). G, H) Anátomo-patológico HE: presença de blocos tumorais. **Diagnóstico:** carcinoma basocelular pigmentado.

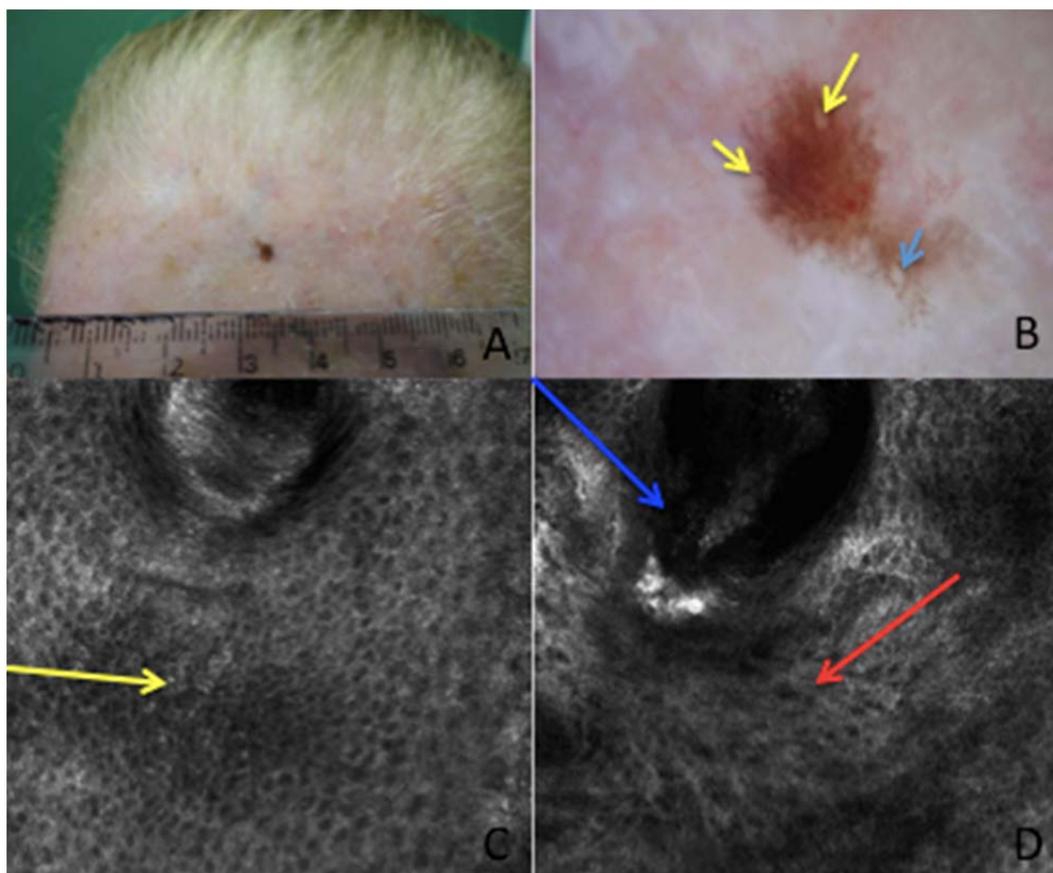


Figura 17 - Caso clínico 3. A) Lesão pigmentada e isolada em região frontal. B) Dermatoscopia exhibe pigmentação marrom-claro e marrom escuro, com círculo dentro de círculo, área anular-granular. C) Imagem em 300 μm : Microscopia confocal (3000) epiderme com padrão favo de mel atípico (seta amarela) e arquitetura desorganizada. D) Imagem em 300 μm : Abertura folicular (seta azul), presença de ceratinócitos pigmentados e colágeno espesso (seta vermelha). **Diagnóstico:** ceratose actínica.

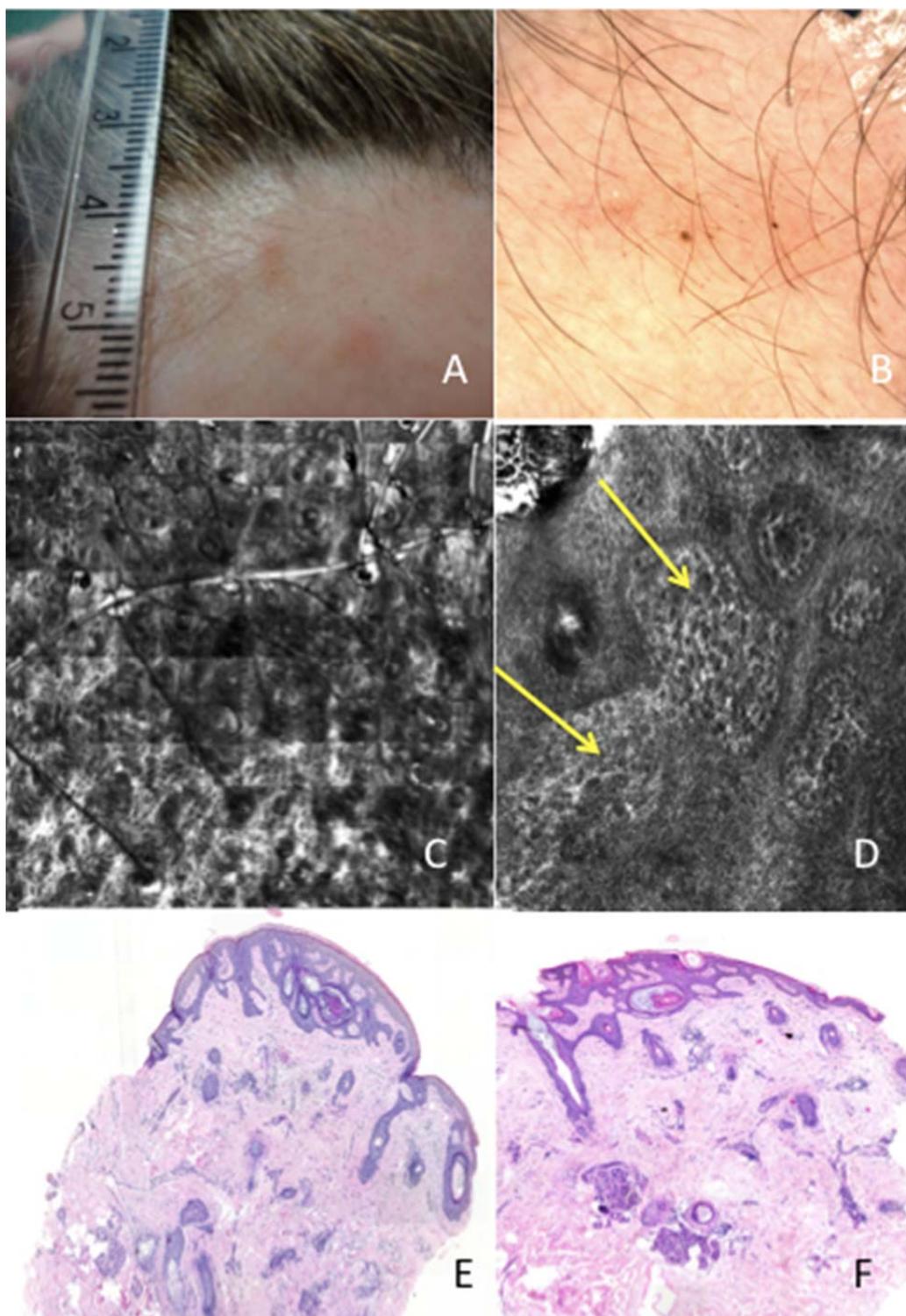


Figura 18 - Caso clínico 4. A) Lesão pigmentada em região frontal. B) Pigmentação irregular focalmente em abertura folicular, pseudo-rede. C) Microscopia confocal em mosaico. D) Imagem em 500 µm: projeção bulbosa (*cords*) (seta amarela) e presença de mília. E) Anátomo-patológico HE 100X: acantose. F) HE 200X: epiderme acantótica, rolha córneo. **Diagnóstico:** ceratose seborreica.

A análise da Regressão Logística Univariada através de estimativas de risco pelo *Odds Ratio* dos critérios da microscopia confocal para o diagnóstico de melanoma mostrou que os critérios: célula redonda atípica nucleada na epiderme, célula dendrítica nucleada na epiderme, disseminação pagetóide, célula atípica na JDE, ninhos juncionais atípicos, célula dendrítica folicular, *sheets of cells* e ilhas tumorais ou silhuetas escuras apresentaram significância estatística com $p < 0,05$. Enquanto que os critérios *CORDS* ou projeções bulbosas e padrão em favo de mel atípico não tiveram significância (**Tabela 6**). É válido salientar que o único critério que apresentou-se como fator protetor pelo *odds ratio* foi a presença de ilhas tumorais ou silhuetas escuras. Alguns critérios exibem intervalo de confiança abrangente devido ao número da amostra avaliada.

Tabela 6 - Critérios da microscopia confocal: odds ratio e qui quadrado.

Critérios	Categoria	Melanoma		Total	valor p*	OR	IC(95%) para OR	
		Não (53)	Sim (52)				Inferior	Superior
Célula atípica redonda nucleada na epiderme	Sim	5 (9,4%)	43 (82,7%)	48 (45,7%)	<0,0001	45,867	14,262	147,503
Célula dendrítica nucleada na epiderme	Sim	23 (43,4%)	49 (94,2%)	72 (68,6%)	<0,0001	21,304	5,888	77,090
Disseminação pagetóide	Sim	2 (3,8%)	40 (76,9%)	42 (40,0%)	<0,0001	85,000	17,985	401,730
Células atípicas na JDE	Sim	6 (11,3%)	30 (57,7%)	36 (34,3%)	<0,0001	10,682	3,882	29,394
Ninhos juncionais atípicos	Sim	2 (3,8%)	11 (21,2%)	13 (12,4%)	<0,016	6,841	1,435	32,613
Cords / projeções bulbosas	Sim	12 (22,6%)	8 (15,4%)	20 (19,0%)	<0,485	0,621	0,231	1,673
Ilhas tumorais/ silhuetas escuras	Sim	17 (32,1%)	1 (1,9%)	18 (17,1%)	<0,0001	0,042	0,005	0,326
Favo de mel atípico	Sim	10 (18,9%)	4 (7,7%)	14 (13,3%)	0,162	0,358	0,105	1,226
Célula dendrítica folicular	Sim	8 (15,1%)	45 (86,5%)	53 (50,5%)	<0,0001	36,161	12,093	108,124
Sheets of cells	Sim	3 (5,7%)	39 (75,0%)	42 (40,0%)	<0,0001	50,000	13,312	187,803

*Teste de qui-quadrado com correção de continuidade.

Foi realizado o modelo de Regressão Logística Múltiplo com os 8 critérios da microscopia confocal que apresentaram $p < 0,05$. Esta análise resultou em 3 critérios com significância estatística: célula redonda nucleada na epiderme, disseminação pagetóide e célula dendrítica folicular (**Tabelas 7 e 8**).

Tabela 7 - Regressão logística múltipla.

Variável	B	E.P.	Wald	gl	valor p	Odds ratio	95% C.I. para EXP(B)	
							Inf.	Sup.
Células redondas nucleadas na epiderme (1)	2,197	0,773	8,066	1	0,005	8,996	1,975	40,964
disseminação pagetóide (1)	2,917	0,895	10,618	1	0,001	18,489	3,198	106,887
Célula dendrítica folicular (1)	1,682	0,776	4,705	1	0,030	5,378	1,176	24,589
Constante	-2,772	0,569	23,708	1	0,000	0,063		

Tabela 8 - Regressão logística múltipla (critérios não significativos).

Variável	Escore	gl	Valor p
Célula dendrítica na epiderme (1)	0,052	1	0,819
Células atípicas na JDE (1)	3,080	1	0,079
Ninhos juncionais atípicos (1)	0,592	1	0,442
Tumoral island / dark siluets (1)	1,760	1	0,185
Sheets of cells (1)	1,846	1	0,174
Estatísticas globais	10,170	5	0,071

A partir destes dados, foi realizado o nomograma para definir a chance, em percentual, de ter o diagnóstico de melanoma de acordo com a

presença ou ausência das alterações celulares encontradas na microscopia confocal (**Figura 19**).

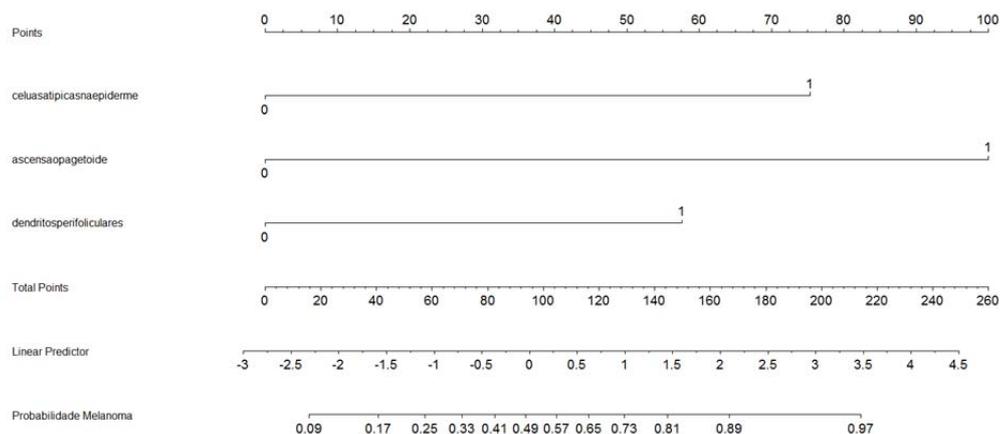


Figura 19 - Nomograma.

Avaliando o nomograma é possível determinar a pontuação do paciente de acordo com os critérios da microscopia confocal apresentados, e com isto, encontrar o valor em probabilidade para o diagnóstico de melanoma (**Tabela 9**).

Tabela 9 - Probabilidade do diagnóstico de melanoma.

CRITÉRIOS	CRITÉRIOS PRESENTES						
disseminação pagetoíde	✓	X	X	✓	X	✓	✓
Célula atípica redonda na epiderme	X	✓	X	✓	✓	X	✓
Célula dendrítica folicular	X	X	✓	X	✓	✓	✓
Probabilidade de MM	53%	36%	25%	91%	75%	86%	98%
✓ : presente							
X : ausente							

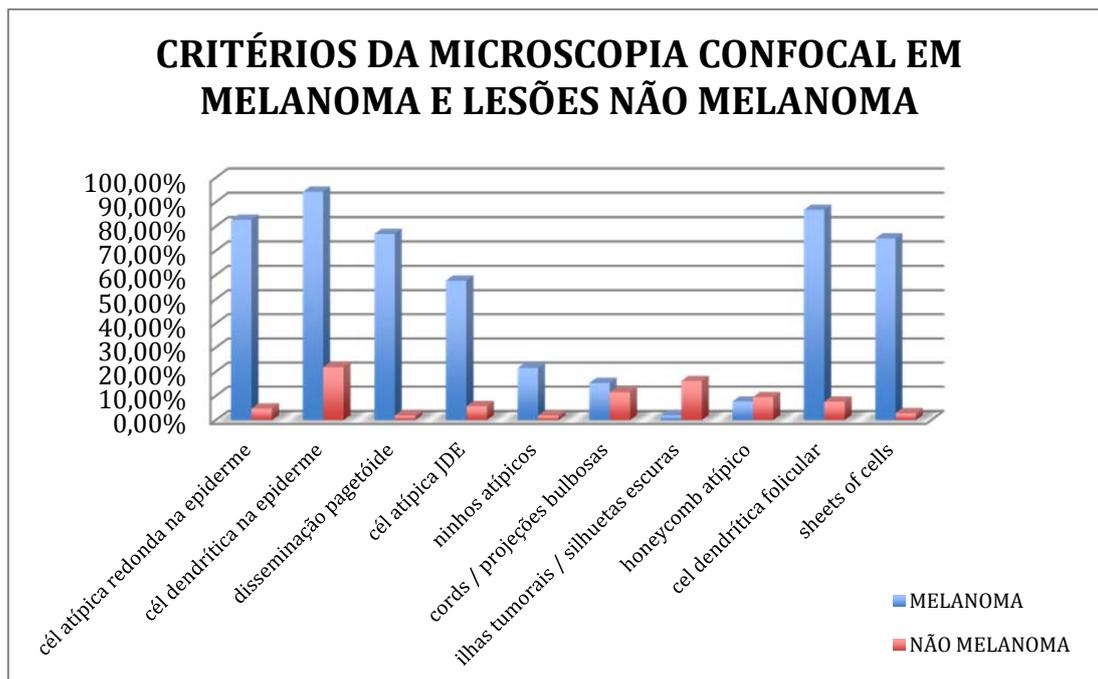


Figura 20 - Frequência dos critérios da microscopia confocal em lesões de melanoma e lesões não melanoma.

Tabela 10 - Critérios da microscopia confocal em melanomas e não-melanomas nos trabalhos

Critérios		Nosso trabalho						Guitera, 2010					
variável	cat	melanoma		valor p*	OR	IC (95%) para OR		melanoma		valor p*	OR	IC (95%) para OR	
		Não (53)	Sim (52)			Inf.	Sup.	Não (203)	Sim (81)			Inf.	Sup.
Cél. Redonda nucleada na epiderme	Sim	5 9,4%	43 82,7%	<0,0001	45,867	14,262	147,503	36 17%	47 58%		6.4	3.6	11.3
Cél. dendrítica nucleada na epiderme	Sim	23 43,4%	49 94,2%	<0,0001	21,304	5,888	77,090	33 16%	44 54%		6.1	3.4	10.9
Disseminação pagetóide	Sim	2 3,8%	40 76,9%	<0,0001	85,000	17,985	401,730	13 6%	29 35%		8.2	4	16.8
Células atípicas na JDE	Sim	6 11,3%	30 57,7%	<0,0001	10,682	3,882	29,394	75 36%	72 88%		13.8	6.9	27.9
Ninhos juncionais atípicos	Sim	2 3,8%	11 21,2%	<0,016	6,841	1,435	32,613	7 3%	12 14%		4.9	1.89	12.9
<i>favo de mel</i> atípico	Sim	10 18,9%	4 7,7%	0,2	0,358	0,105	1,226	17 21%	59 29%	p=0.17			
dendritos perifoliculares	Sim	8 15,1%	45 86,5%	<0,0001	36,161	12,093	108,124	15 7%	21 25%		4.4	2.1	9
<i>sheets of cells</i>	Sim	3 5,7%	39 75,0%	<0,0001	50,000	13,312	187,803	3 1,50%	7 8%		6.3	1.6	25

*Teste de qui-quadrado com correção de continuidade

Fonte: Atual estudo e GUITERA et al. (2010).

O resultado anatomopatológico dos nossos casos de melanoma exibiu 43 melanomas *in situ* (lentigo maligno e melanoma extensivo superficial), 9 casos de melanomas invasivos (1 lentigo maligno melanoma, 7 melanomas extensivo superficial e 1 melanoma nodular). Os subtipos dos melanomas foram: 41 lentigos malignos, 1 lentigo maligno melanoma, 9 extensivos superficiais e 1 nodular (**Tabela 11**).

Tabela 11 - Subtipos do melanoma

subtipo do melanoma	n (%)
lentigo maligno	41 (78,85)
lentigo maligno melanoma	1 (1,92)
extensivo superficial <i>in situ</i>	2 (3,85)
extensivo superficial invasivo	7 (13,46)
nodular	1 (1,92)
total	52 (100)

Os dez casos selecionados que apresentaram dificuldade diagnóstica anatomopatológica ou divergência diagnóstica entre o exame de MC e a histopatologia, foram para estudo histológico detalhado com auxílio do estudo imuno-histoquímico.

Estes casos foram avaliados por 2 patologistas experientes quanto aos seguintes critérios:

1. Avaliação das lâminas convencionais coradas com Hematoxilina-Eosina: presença ou ausência de atipia de ceratinócitos; presença ou ausência de atipia de melanócitos; densidade de células melanocíticas em região folicular (0= ausência 1= célula isolada 2= pequenos grupos e 3= distribuição difusa); densidade de células

melanocíticas na epiderme (0= ausente 1= célula isolada 2= hiperplasia contínua focal caracterizada por uma região interfolicular, 3= hiperplasia contínua multifocal caracterizada por duas ou mais regiões interfoliculares); padrão celular de melanócitos epitelióide ou fusiforme; presença ou ausência de migração pagetóide de melanócitos na epiderme; presença ou ausência de migração pagetóide em região folicular (**Quadro 3**).

2. Avaliação pelo estudo imuno-histoquímico de Melan-A e dupla marcação MITF com p-63: densidade de células melanocíticas em região folicular (0= ausência 1= célula isolada 2= pequenos grupos e 3= distribuição difusa); densidade de células melanocíticas na epiderme (0= ausente 1= célula isolada 2= hiperplasia contínua focal caracterizada por uma região interfolicular, 3= hiperplasia contínua multifocal caracterizada por duas ou mais regiões interfoliculares); quantificação do número de células pagetóides no folículo (avaliado em uma unidade folicular da epiderme até a derme papilar do folículo que apresenta maior quantidade de células). Reportado como número absoluto observado no hot spot; quantificação da densidade de células pagetóides na epiderme medida a partir da contagem de células acima da camada basal do epitélio e por toda a extensão do fragmento selecionado. Resultado reportado como quantidade de células por mm².
3. Avaliação pela imuno-histoquímica de CD-1A: determinação se o predomínio de células dendríticas da lesão é folicular ou epidérmico;

quantificação do número de células pagetóides no folículo (avaliado em uma unidade folicular da epiderme até a derme papilar do folículo que apresenta maior quantidade de células). Reportado como número absoluto observado; quantificação da densidade de células pagetóides na epiderme medida a partir da contagem de células acima da camada basal do epitélio e por toda a extensão do fragmento selecionado. Resultado reportado como quantidade de células por mm^2 (**Quadro 4 e Figuras 21 e 22**).

Quadro 3 - Avaliação anatomopatológica à coloração Hematoxilina-Eosina

Crítérios	Variáveis
Atipia de ceratinócitos	Ausente (0) Presente (1)
Atipia dos melanócitos	Ausente (0) Presente (1)
Densidade cél. melanocíticas foliculares	Ausente (0) Célula isolada (1) Pequenos Grupos (2) Distribuição difusa (3)
Densidade cél. Melanocíticas epiderme	Ausente (0) Célula isolada (1) Hiperplasia contínua focal interfolicular (2) Hiperplasia contínua multifocal (3)
Migração pagetóide melanócitos epiderme	Ausente (0) Presente (1)
Migração pagetóide melanócitos folicular	Ausente (0) Presente (1)

Quadro 4 - Avaliação da imuno-histoquímica: Melan-A e CD 1 A.

Anticorpos	Critérios	Variáveis
Melan - A	Densidade/ CM folicular	Ausente (0) Cél. Isolada (1) Pequenos grupos (2) Distribuição difusa (3)
	Densidade/ CM epiderme	Ausente (0) Cél. Isolada (1) Hiperplasia contínua focal interfolicular (2) Hiperplasia contínua multifocal (3)
	Célula pagetóide folículo	número absoluto em 1 unidade folicular da epiderme até a derme
	Densidade/ Células pagetóides epiderme	células/ mm ² (cél. na epiderme)
CD1-A	Predomínio célula dendrítica	Folicular Epidérmico
	Número células pagetóides folicular	Número absoluto
	Número células pagetóides epiderme	células/ mm ² (cél. na epiderme)

Os achados da patologia foram, para um total de 10 casos, com seis lentigos malignos, uma hiperproliferação melanocítica atípica (HMA), uma ceratose actínica pigmentada (QAP), uma ceratose actínica (QA) com derrame pigmentar e um nevo melanocítico juncional atípico; 9 casos apresentaram ceratinócitos atípicos ao HE, exceto o nevo atípico, que ocorreu em uma paciente jovem de 45 anos, fototipo II, em topografia de pálpebra superior – um local com menor incidência de radiação ultravioleta em relação à superfície cutânea como malar ou nasal. A densidade dos melanócitos foliculares estava ausente em 5 casos (2 LM 2 QA e nevo atípico), apresentou-se como célula isolada em 1 LM e como pequenos grupos de células em dois LM e na HMA. A densidade de melanócitos na epiderme foi considerada difusa em 7 casos, ou seja, hiperplasia contínua multifocal em duas ou mais regiões interpilares, sendo nos 6 LM e na

HMA; o nevo atípico apresentou célula isolada e nas duas QA estava ausente. Todos os casos apresentaram melanócitos atípicos, o padrão dos melanócitos era epitelóide. Presença de células pagetóides foliculares foi detectada em dois LM e na HMA, enquanto que em 4 LM e nas QA estava ausente. Células pagetóides na epiderme estavam presentes em três LM e na HMA (**Tabela 12**).

A análise da imuno-histoquímica Melan-A e MITF com p-63 evidenciou que a densidade de melanócitos em uma unidade folicular estava presente em pequenos grupos em um LM e na HMA, apresentou-se como célula isolada em quatro LM e estava ausente em um LM, além do nevo atípico e das QA. A densidade de melanócitos na epiderme por mm^2 foi $1,5/\text{mm}^2$ em três LM e na HMA $1,0/\text{mm}^2$ em um LM, $0,43/\text{mm}^2$ em dois LM e de $0,5/\text{mm}^2$ no nevo atípico e nas duas QAs. A quantidade de células pagetóides no folículo foi de 10, 4 e 3 em três lesões de LM respectivamente; zero em três LM e nos demais diagnósticos. Células pagetóides na epiderme foram vistas na densidade de $5,5/\text{mm}^2$; $2,5/\text{mm}^2$; $2,0/\text{mm}^2$ e $0,3/\text{mm}^2$ em quatro dos LM; em dois LM estavam ausentes; $0,5/\text{mm}^2$ na HMA e ausentes nas QA (**Tabela 13**).

O marcador CD1A apresentou predomínio folicular em três LM, foi não avaliável em um dos LM e nas demais lesões apresentou distribuição semelhante em folículo e epiderme. A quantidade de células pagetóides no folículo foi 20 no nevo atípico; 16 14 10, 7, 5 e não avaliável, respectivamente, nos LM; 7 na HMA e na QAP, e 2 na QA com derrame pigmentar. A densidade de células pagetóides na epiderme por mm^2 foi de

11 no nevo atípico; $5,67/\text{mm}^2$; $5,2/\text{mm}^2$; $5,0/\text{mm}^2$; $3,43/\text{mm}^2$ e $3,0/\text{mm}^2$; respectivamente, nos LM; $4/\text{mm}^2$ na HMA, e, $5/\text{mm}^2$ e $3,5/\text{mm}^2$ respectivamente nas QAs (**Tabela 13 e Figuras 21 e 22**).

Tabela 12 - Análise anatomopatológica à Hematoxilina-Eosina dos 10 casos selecionados.

Paciente	HE							nomograma (escore)	AP
	querat atípico	Mel. Folículo	Mel. Epiderme	melan atípico	epitel/fusif	paget folículo	paget epiderme		
1	sim	2	3	sim	epitel	sim	sim	75%	LM
2	sim	2	3	sim	epitel	sim	sim	25%	LM
3	sim	0	3	sim	epitel	não	não	75%	LM
4	sim	0	3	sim	epitel	não	não	75%	LM
5	sim	1	3	sim	epitel	não	sim	98%	LM
6	não	0	1	sim	epitel	não	não	0%	N atíp
7	sim	2	3	sim	epitel	sim	sim	25%	HMA
8	sim	0	0	sim	epitel	não	não	0%	QA dp
9	sim	0	0	sim	epitel	não	não	0%	QAP
10	sim	1	3	sim	epitel	não	sim	75%	LM

Tabela 13 - Análise anatomopatológica da imuno-histoquímica (Melan-A, MITIF – p63 e CD 1 A) dos 10 casos selecionados.

Paciente	Melan-A e MITIF				CD1A			AP
	Mel Folículo	mel epid/mm	paget folículo	paget epid/mm	predomínio	paget folículo	paget epid/mm	
1	2	1,5	0	2,5	folículo	7	5	LM
2	1	1,5	10	5,5	folículo	5	3	LM
3	1	1,5	0	0	Não av	Não av	Não av	LM
4	0	0,43	0	0	folículo	14	3,43	LM
5	1	0,3	3	0,3	ambos	16	5,2	LM
6	0	0,5	0	0	ambos	20	11	N atíp
7	2	1,5	0	0,5	ambos	7	4	HMA
8	0	0,5	0	0	ambos	2	3,5	QA dp
9	0	0,5	0	0	ambos	7	5	QAP
10	1	1	4	2	ambos	10	5,67	LM

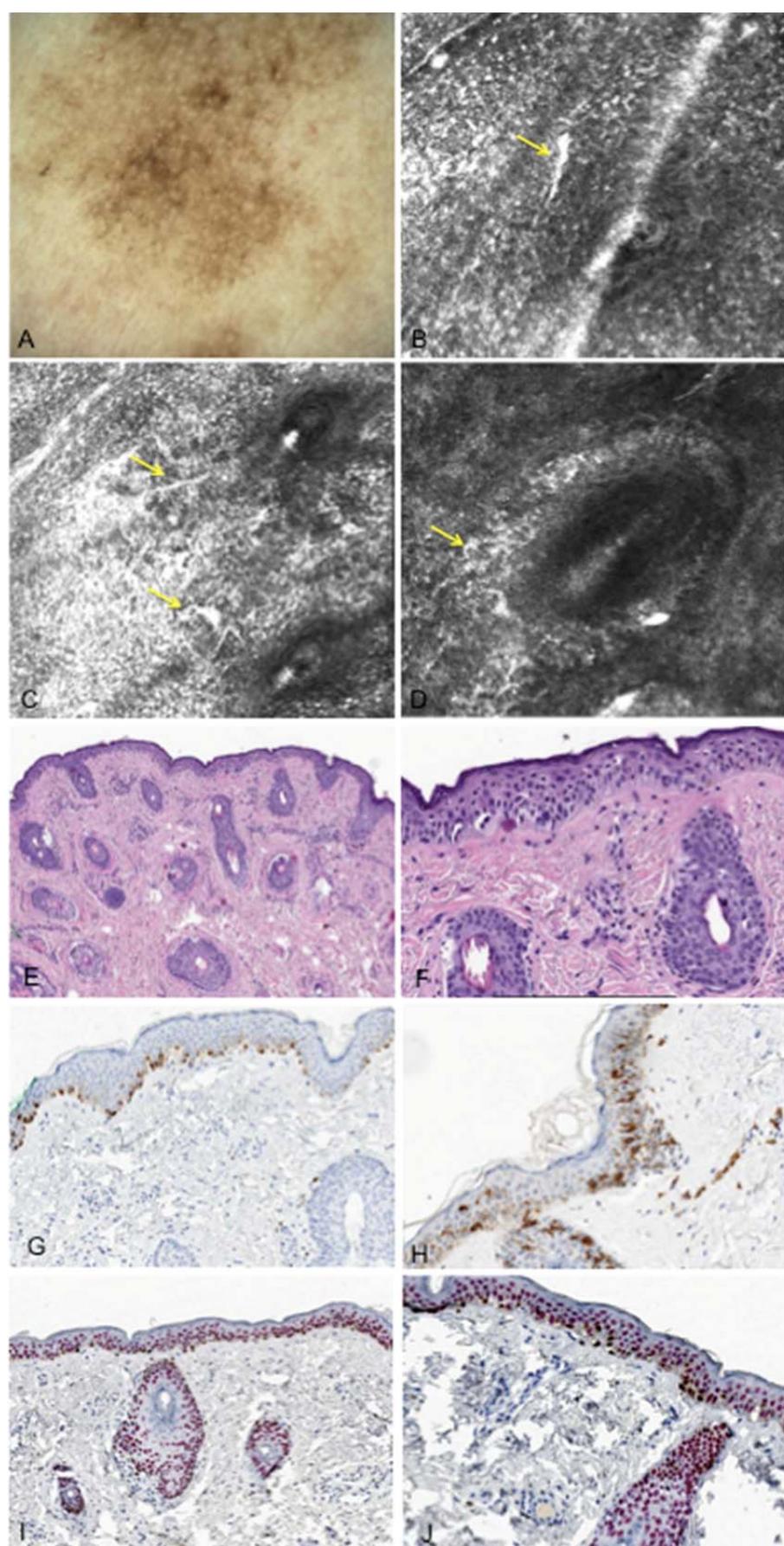


Figura 21 - Caso clínico 5. A. Imagem dermatoscópica (aumento de 10X). B. Imagem individual de MC ($\cong 250 \times 250 \mu\text{m}$) no nível da epiderme: dendritos perifoliculares (seta amarela). C. Imagem individual de MC ($\cong 350 \times 350 \mu\text{m}$) no nível supra-papilar/JDE: células dendríticas nucleadas e dendritos perifoliculares (setas amarelas). D. Imagem individual de MC ($\cong 50 \times 50 \mu\text{m}$) no nível da derme papilar: presença de células dendríticas na bainha da estrutura folicular (seta amarela). E e F. Imagens do exame anatomopatológico à coloração Hematoxilina-Eosina (aumento de 100X e 200X respectivamente): presença de melanócitos atípicos na epiderme em padrão lentiginoso. G. Imuno-histoquímica CD1A (aumento de 200X): presença de células dendríticas de Langerhans na epiderme. H. Imuno-histoquímica Melan-A (aumento de 200X): marcação da melanina citoplasmática em melanócitos e queratinócitos. I e J. Imuno-histoquímica MITF-p63 (aumento de 100X e 200X respectivamente): marcação dos ceratinócitos em vermelho e do núcleo dos melanócitos em marrom. **Diagnóstico:** melanoma in situ tipo lentiginoso. Escore pelo nomograma: 75%.

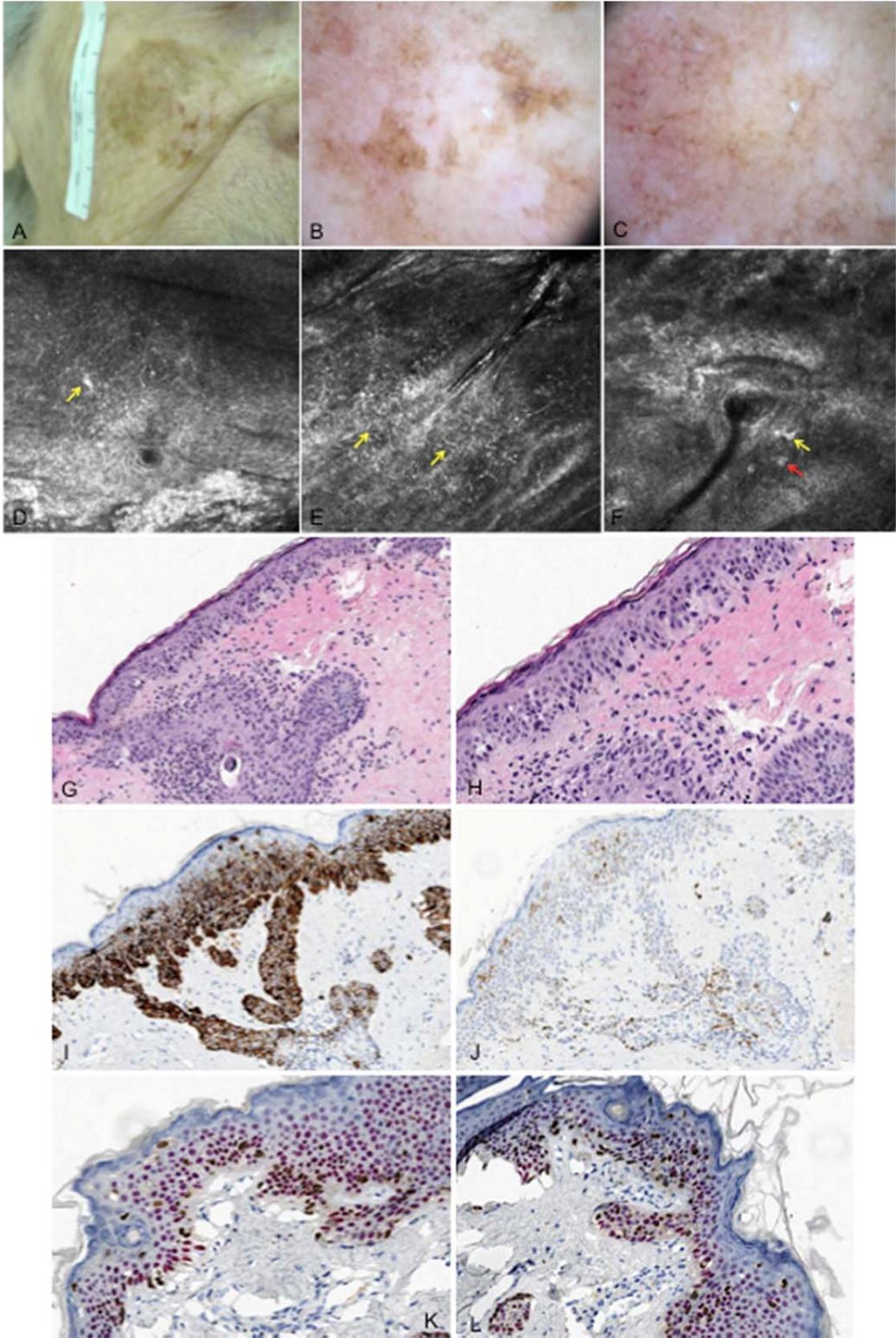


Figura 22 - Caso clínico 6. **A.** Imagem clínica de mácula acastanhada na região malar direita. **B** e **C.** Imagens da dermatoscopia (aumento de 10X): abertura folicular assimetricamente pigmentada, estruturas romboidais e área de padrão anular-granular. **D** e **E.** Imagens individuais de MC ($\cong 200 \times 200 \mu\text{m}$) no nível da epiderme: presença de células dendríticas e dendritos perifoliculares (setas amarelas). **F.** Imagem individual de MC ($\cong 200 \times 200 \mu\text{m}$) no nível da JDE: células dendríticas nucleadas, dendritos perifoliculares e células redondas (setas amarela e vermelha, respectivamente). **G** e **H.** Imagem do exame anatomopatológico ao HE (aumentos de 100X e 200X respectivamente): presença de melanócitos atípicos na epiderme em padrão lentiginoso. **I.** Imuno-histoquímica Melan-A (aumento de 200X): marcação da melanina citoplasmática em melanócitos e queratinócitos. **J.** Imuno-histoquímica CD1A (aumento de 200X): presença de células dendríticas de Langerhans na epiderme. **K** e **L.** Imuno-histoquímica MITF - p63 (aumento de 200X): marcação dos ceratinócitos em vermelho e do núcleo dos melanócitos em marrom.

Diagnóstico: lentigo maligno. Escore pelo nomograma: 75%.

5.1 CASOS CLÍNICOS

5.1.1 Casos de melanoma da face

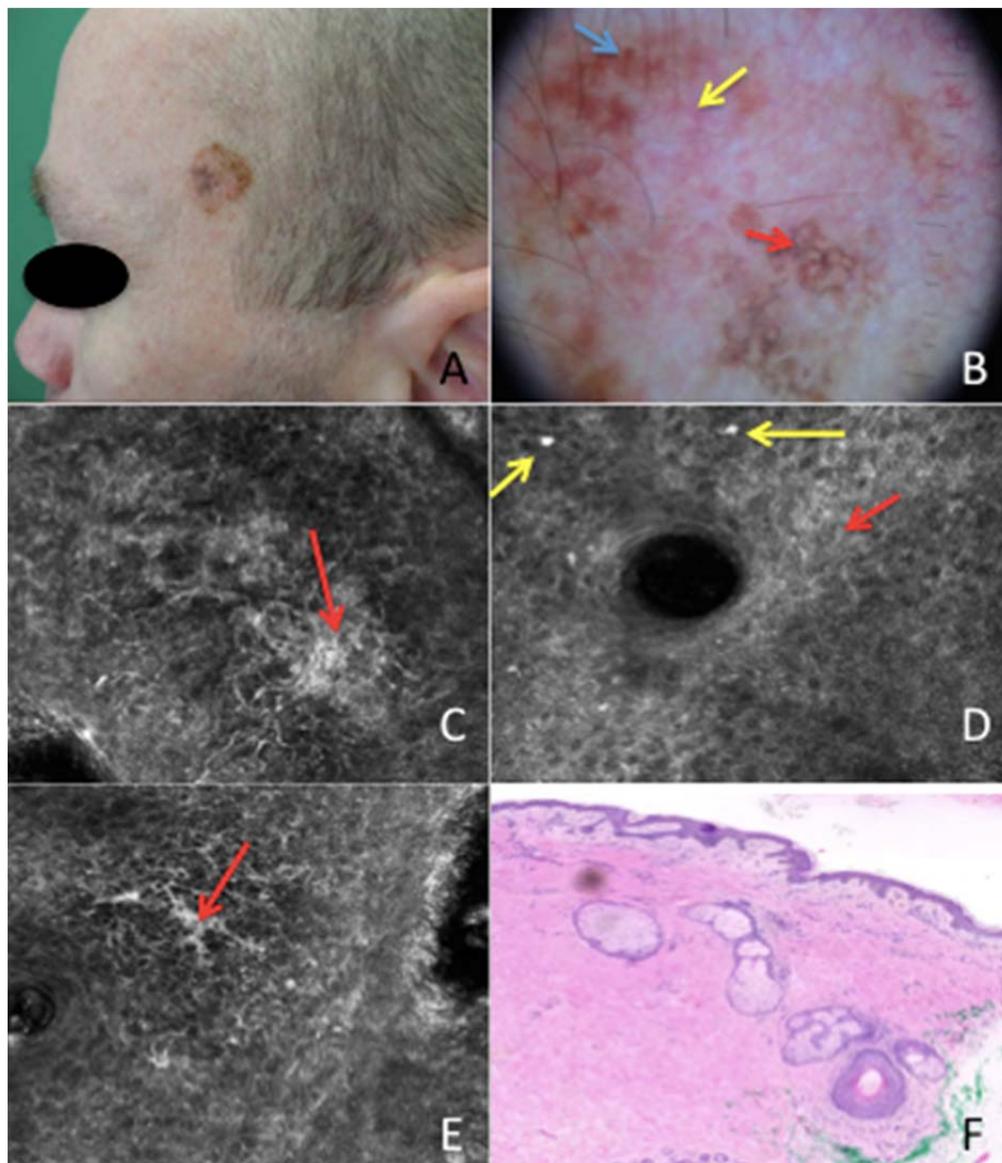


Figura 23 - Caso clínico 7. A) Lesão pigmentada e isolada da face em região frontal. B) Dermatoscopia: lesão apresenta 3 cores: marrom escuro, marrom claro e eritema. Abertura folicular assimetricamente pigmentada (seta azul), pigmentação romboidal marrom (seta vermelha) e estrutura romboidal vermelha (seta amarela). C, D e E) MC imagem em 300 μ m: múltiplas células dendríticas agrupadas (setas vermelhas), células redondas atípicas na epiderme (seta amarelas). F) Anatomo-patológico HE (aumento 100 X): ninhos. **Diagnóstico:** Lentigo Maligno Melanoma Breslow 0,4 mm.

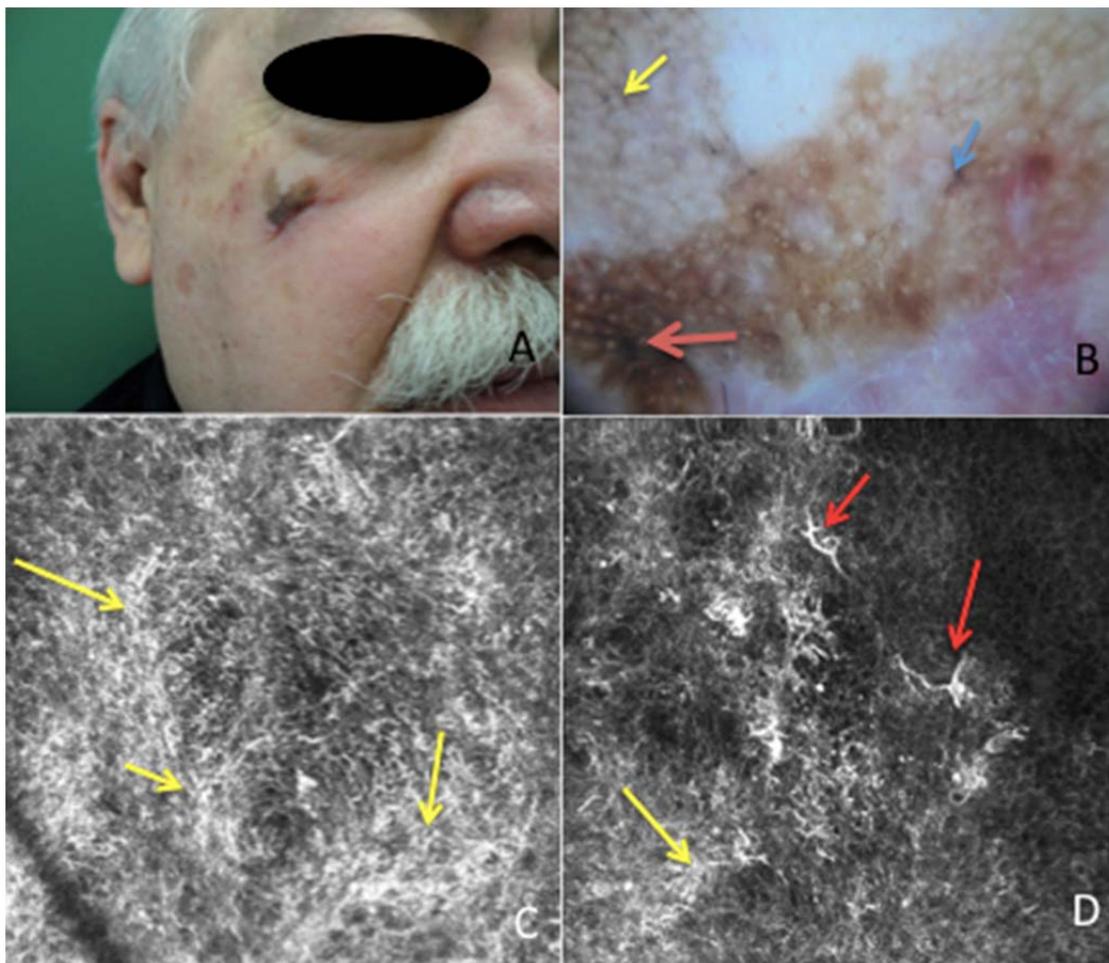


Figura 24 - Caso clínico 8. A) Lesão pigmentada e isolada em malar direito. B) Dermatoscopia: pigmentação perifolicular irregular variando do marrom-claro marrom escuro e preto (seta . Padrão anular-granular, círculo dentro de círculo, oclusão folicular por pigmentação romboidal e rede invertida. C e D) Microscopia confocal imagem em 500 μm : inúmeras células dendríticas (“lençol de células dendríticas” – setas amarelas), inclusive invadindo o folículo. Células dendríticas nucleadas na epiderme (setas vermelhas).
Diagnóstico: Melanoma *in situ* do tipo extensivo superficial.

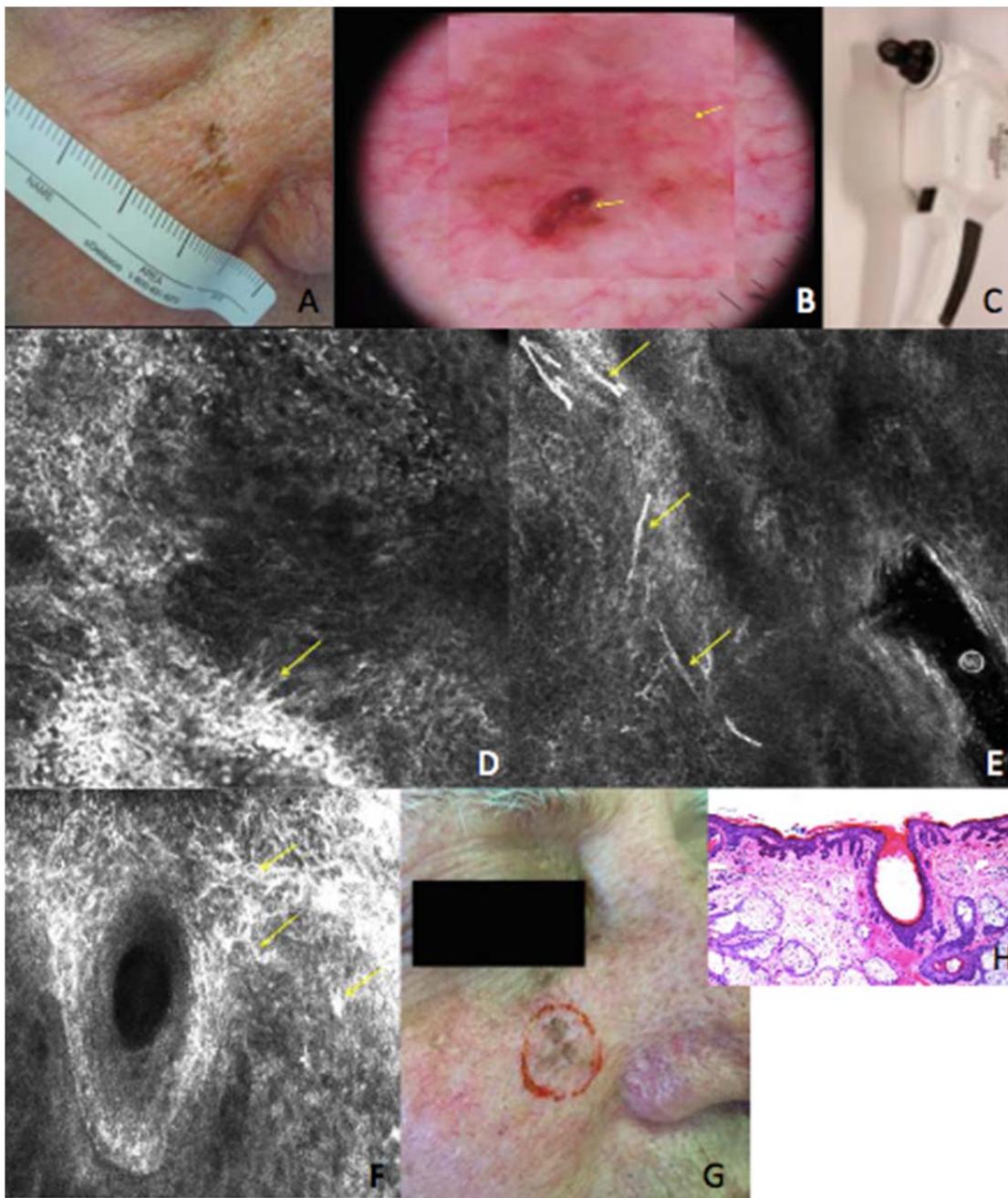


Figura 25 - Caso clínico 9. A) Lesão clínica pigmentada e isolada em malar direito. B) Dermatoscopia: pigmentação perifolicular irregular, círculo dentro de círculo e estruturas romboidais. C) Handheld da RCM. D) Imagem em 300 µm: múltiplas células dendríticas na camada epidérmica. E) Imagem em 300 µm: dendritos longos e espessos. F) Imagem em 300 µm: múltiplas células dendríticas ao redor do folículo piloso. G) Delimitação da área alterada suspeita de lentigo maligno pela RCM handheld. H) Anatomopatológico ao HE (aumento 100 X). **Diagnóstico:** lentigo maligno.

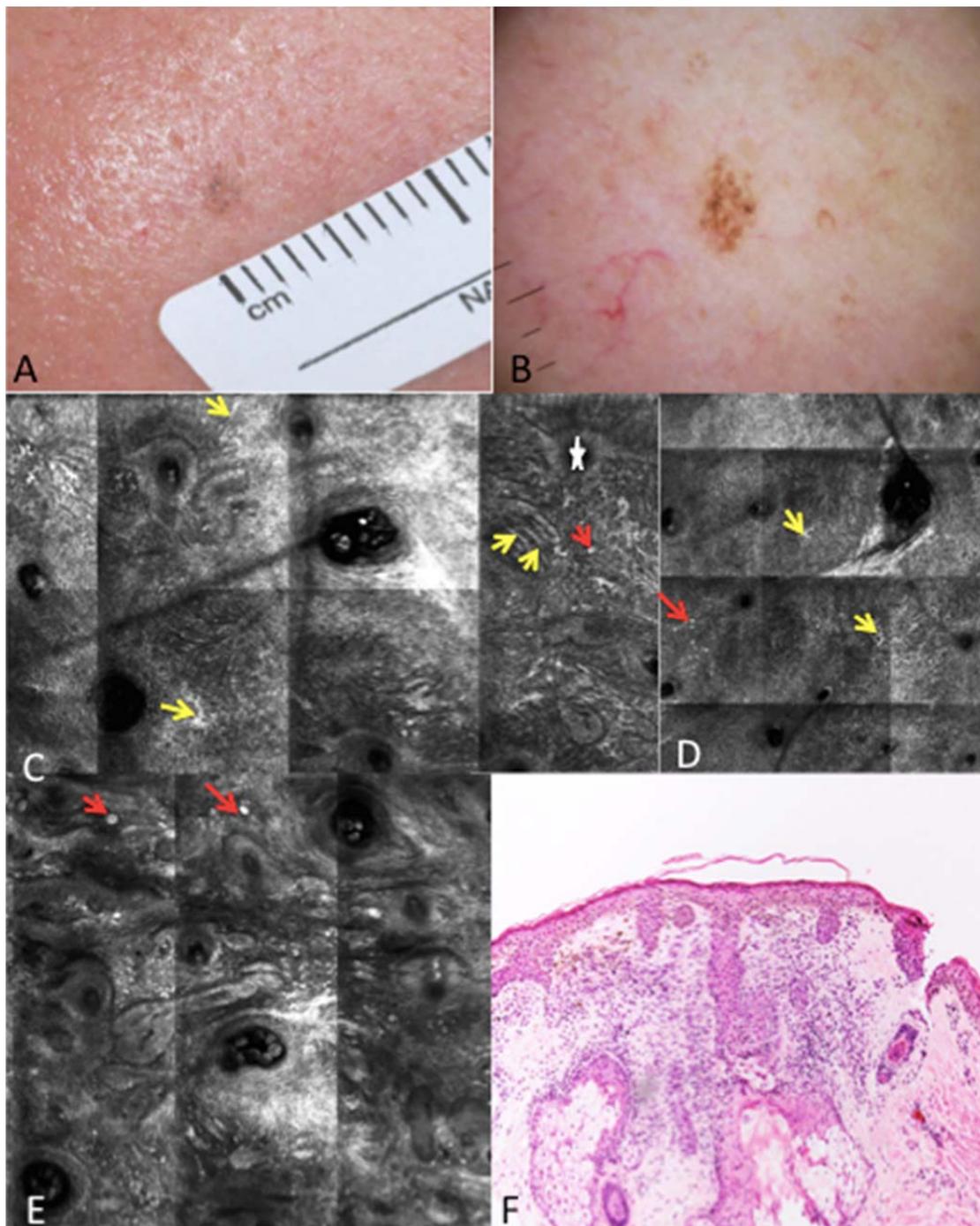


Figura 26 - Caso clínico 10. A) Foto clínica de lesão pigmentada e isolada na face em topografia malar de 2 mm. B) Foto dermatoscópica. C, D e E) MC: presença de estruturas dendríticas e dendritos nucleados na epiderme e infiltrando o folículo piloso (setas amarelas), célula redonda atípica nucleada (setas vermelhas) e dendritos infiltrando o folículo piloso formando cabeça de medusa (estrela branca). F) Anatomopatológico ao HE (aumento 100 X). **Diagnóstico:** Lentigo maligno.

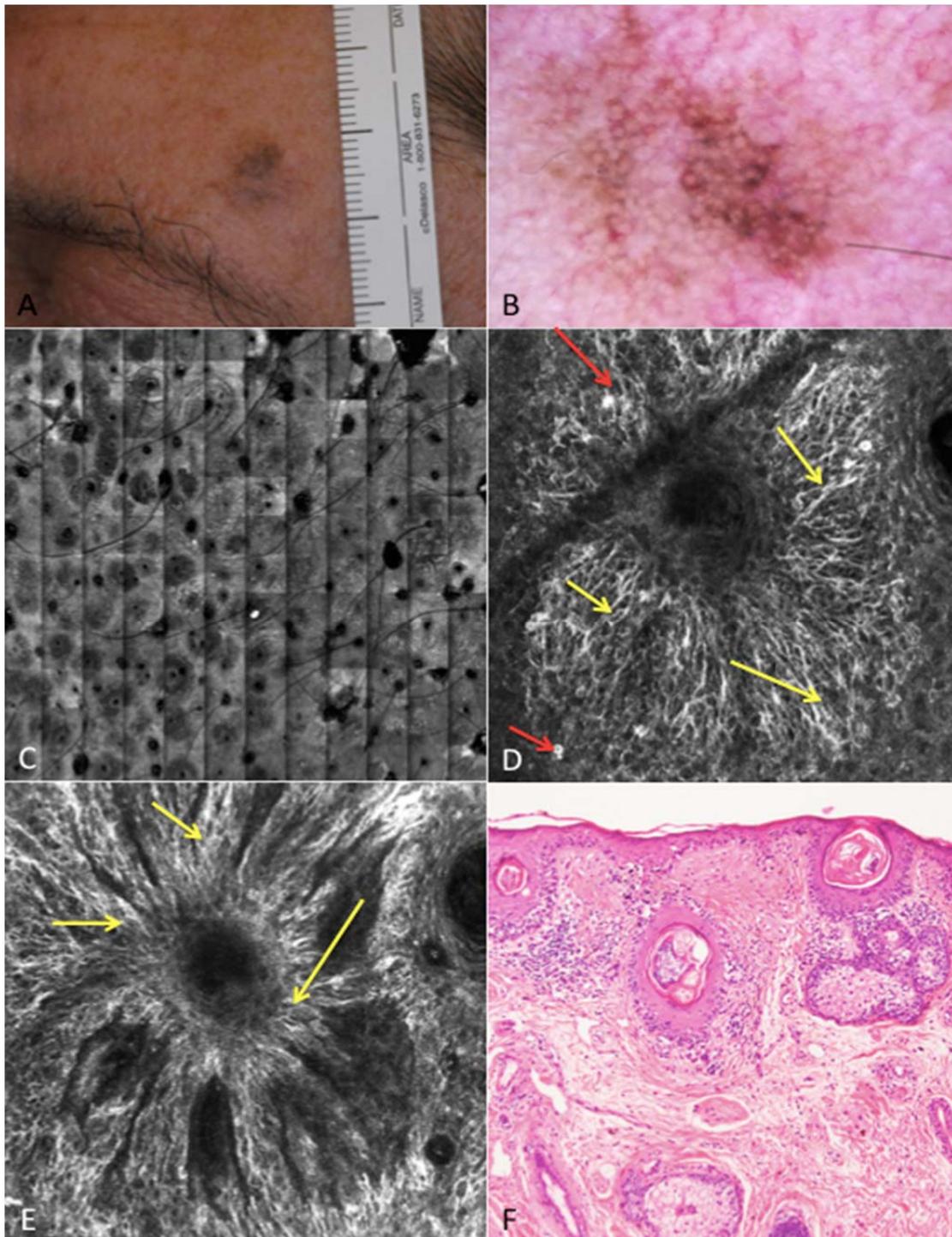


Figura 27 - Caso clínico 11. A) Foto clínica de lesão pigmentada e isolada na face em topografia frontal. B) Foto dermatoscópica. C) MC em mosaico. D e E) MC imagem em 500 µm: presença de estruturas dendríticas e dendritos nucleados na epiderme e infiltrando o folículo piloso (setas amarelas), célula redonda atípica nucleada (setas vermelhas) e dendritos infiltrando o folículo piloso formando cabeça de medusa. F) Anatomopatológico ao HE. **Diagnóstico:** Lentigo maligno.

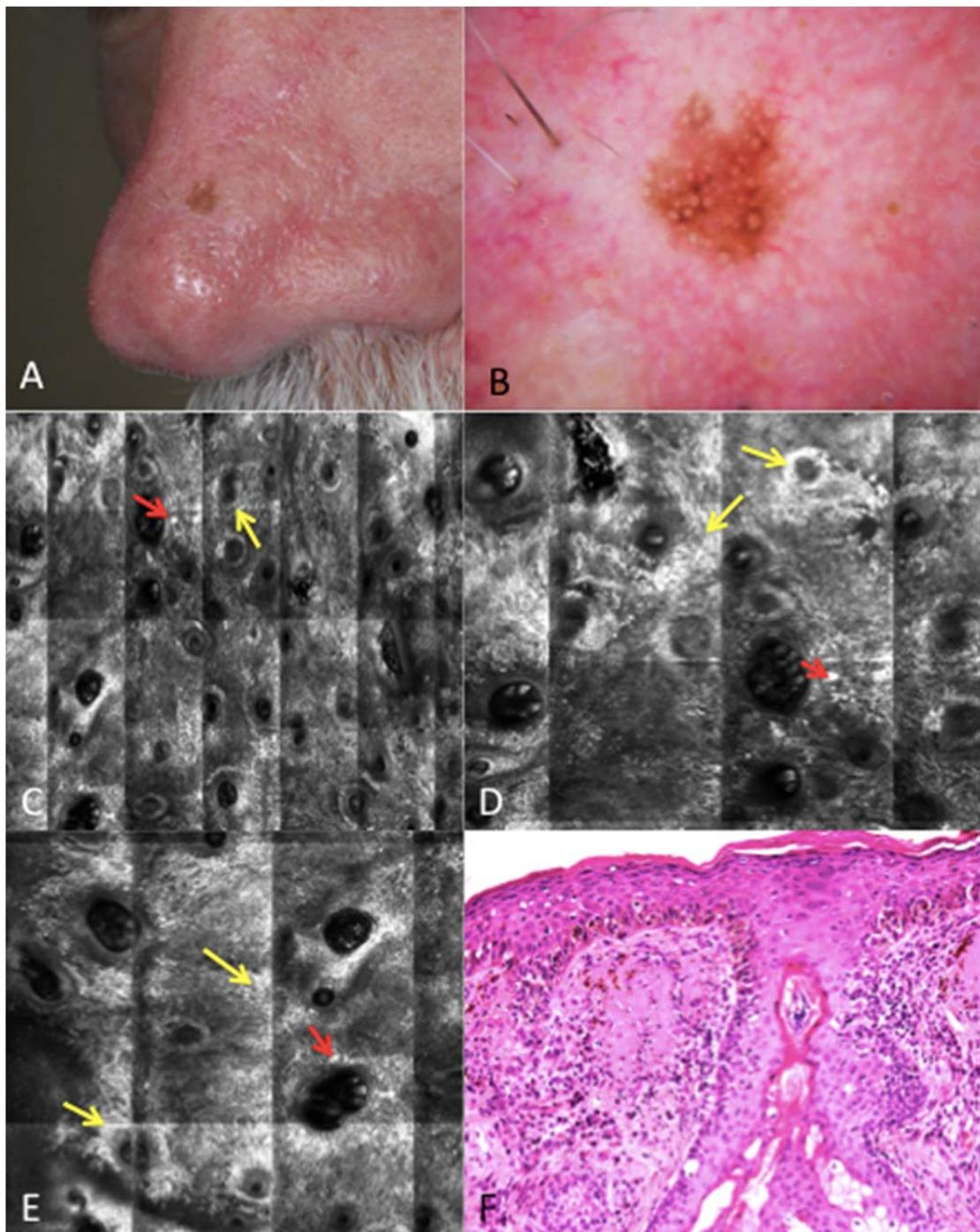


Figura 28 - Caso clínico 12. A) Foto clínica de lesão pigmentada e isolada na face em topografia nasal. B) Foto dermatoscópica. C, D e E) MC imagem em 500 μ m: presença de estruturas dendríticas e dendritos nucleados na epiderme e infiltrando o folículo piloso (setas amarelas), célula redonda atípica nucleada (setas vermelhas). F) Anatomopatológico ao HE (aumento 200 X). **Diagnóstico:** Lentigo maligno.

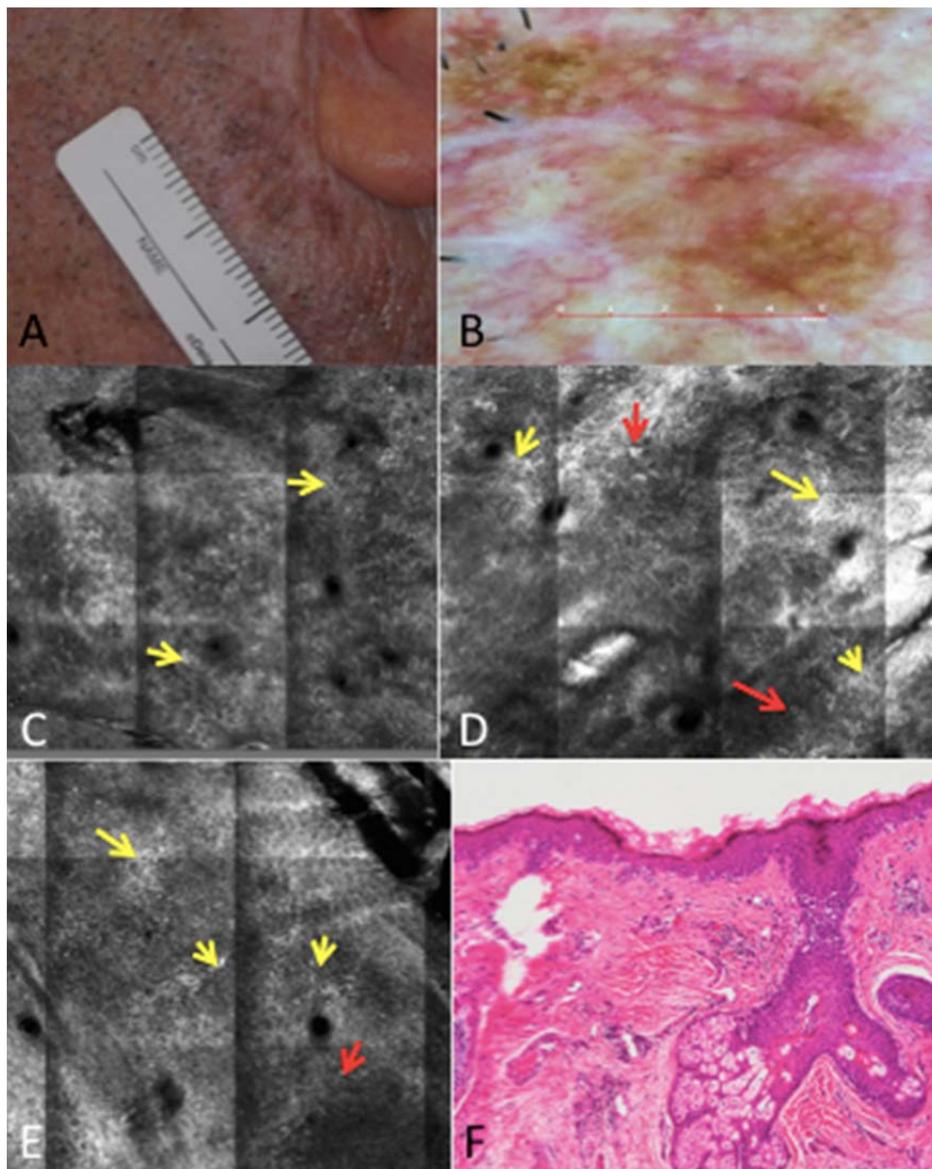


Figura 29 - Caso clínico 13. A) Foto clínica de lesão pigmentada e isolada na face em topografia malar. B) Foto dermatoscópica. C, D e E) MC imagem em 500 μm : presença de estruturas dendríticas e dendritos nucleados na epiderme e infiltrando o folículo piloso (setas amarelas), célula redonda atípica nucleada (setas vermelhas). F) Anatomopatológico ao HE. **Diagnóstico:** Lentigo maligno.

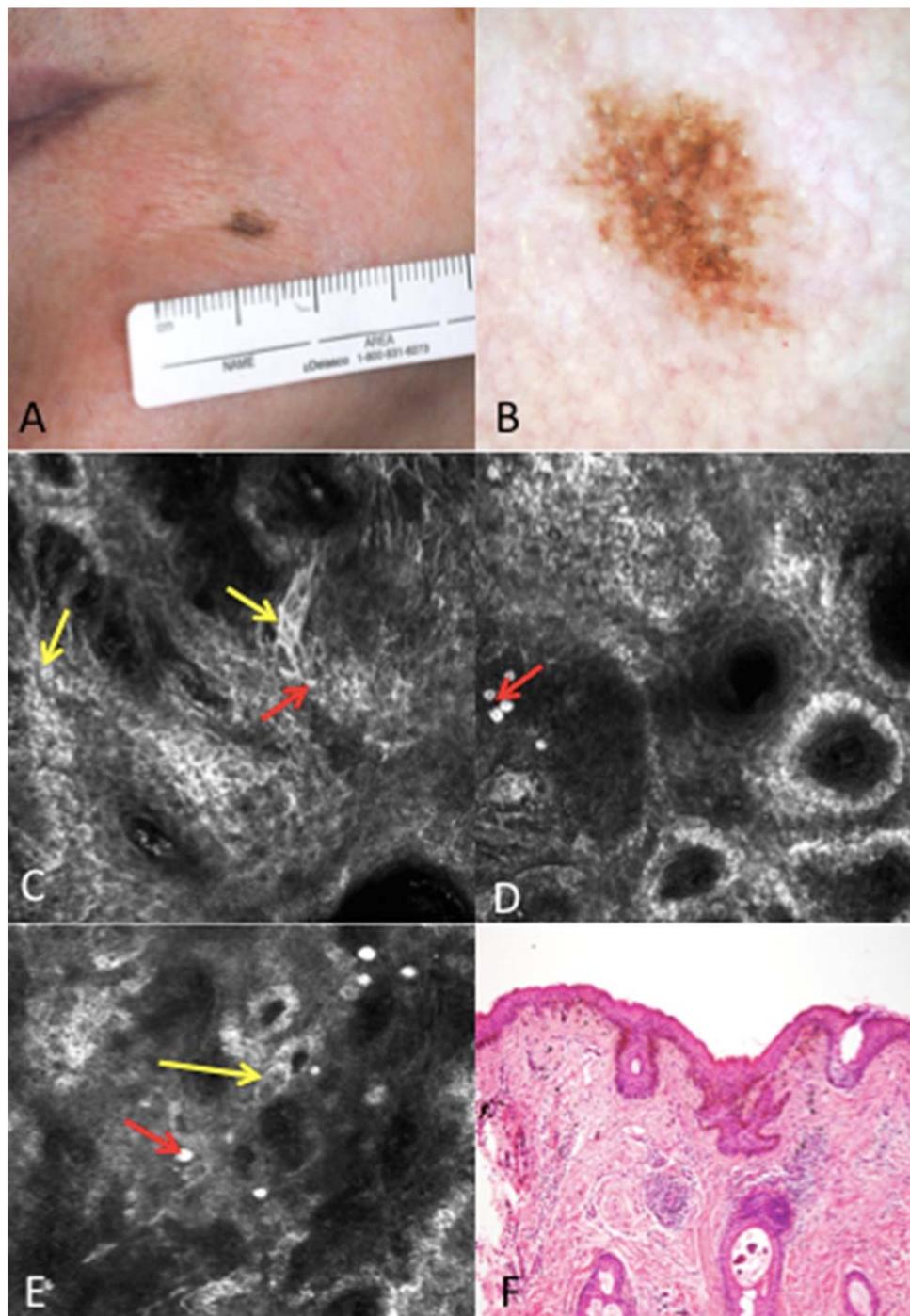


Figura 30 - Caso clínico 14. A) Foto clínica de lesão pigmentada e isolada na face. B) Foto dermatoscópica. C, D e E) MC imagem em 500 μm : presença de estruturas dendríticas e dendritos nucleados na epiderme e infiltrando o folículo piloso (setas amarelas), célula redonda atípica nucleada (setas vermelhas). F) Anatomopatológico ao HE. **Diagnóstico:** Lentigo maligno.

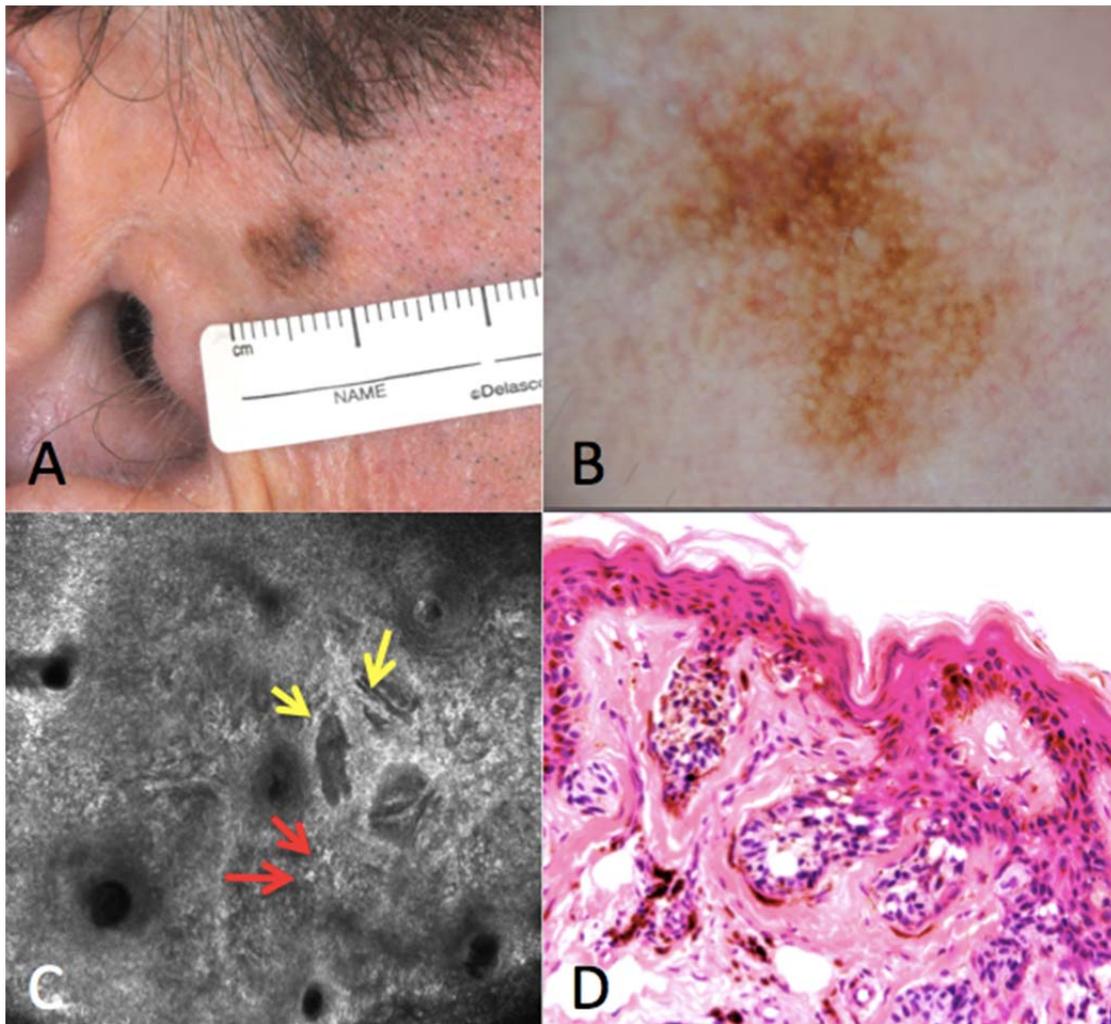


Figura 31 - Caso clínico 15. A) Foto clínica de lesão pigmentada e isolada na face. B) Foto dermatoscópica. C) MC imagem em 500 μm : presença de estruturas dendríticas e dendritos nucleados na epiderme e infiltrando o folículo piloso (setas amarelas), célula redonda atípica nucleada (setas vermelhas). D) Anatomopatológico ao HE. **Diagnóstico:** Lentigo maligno.

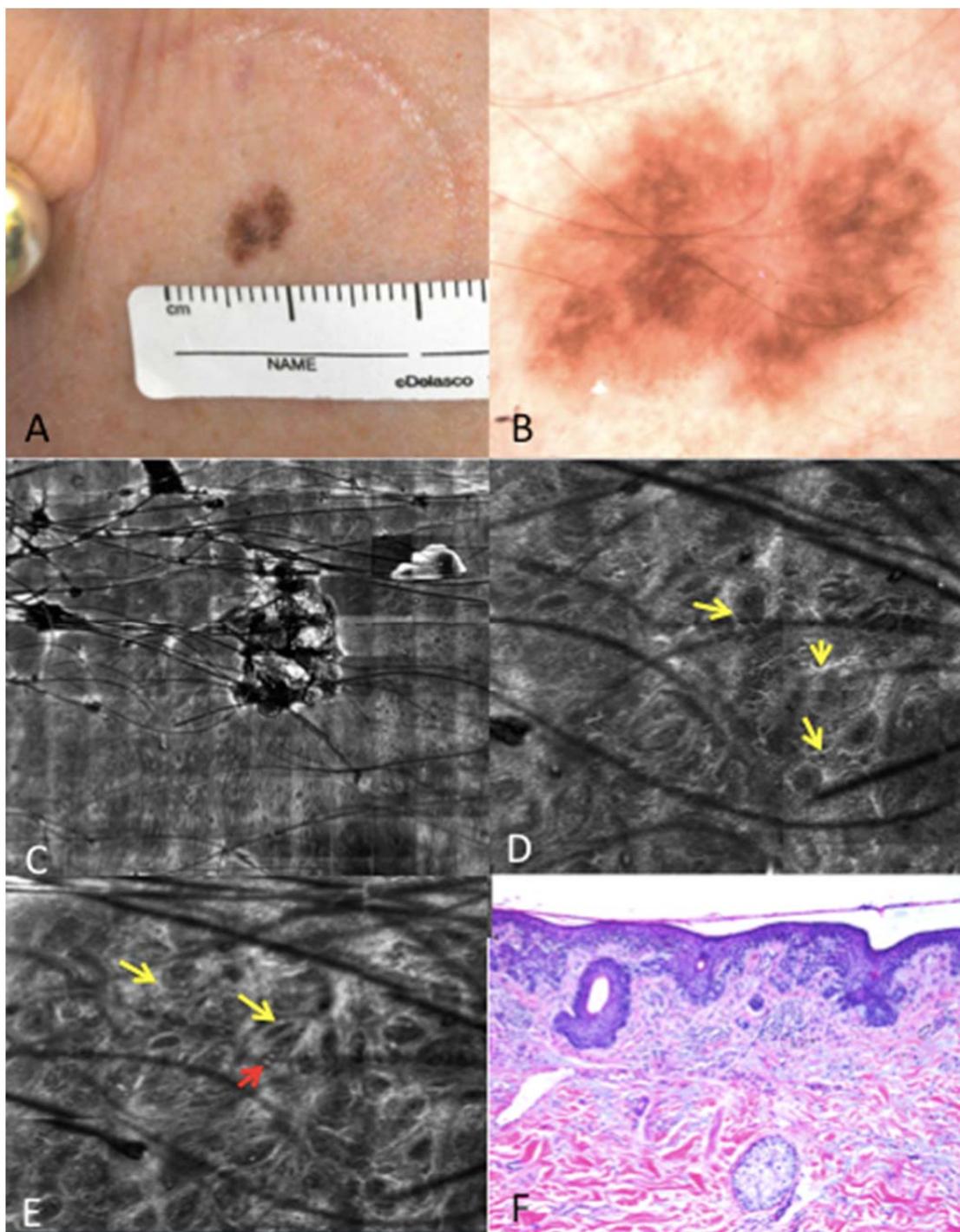


Figura 32 - Caso clínico 16. A) Foto clínica de lesão pigmentada e isolada na face em topografia malar. B) Foto dermatoscópica. C) MC em mosaico. D e E) MC imagem em 500 μ m: presença de estruturas dendríticas e dendritos nucleados na epiderme e infiltrando o folículo piloso (setas amarelas), célula redonda atípica nucleada (setas vermelhas). F) Anatomopatológico ao HE. **Diagnóstico:** Lentigo maligno.

5.1.2 Demais casos clínicos com imunoistoquímica

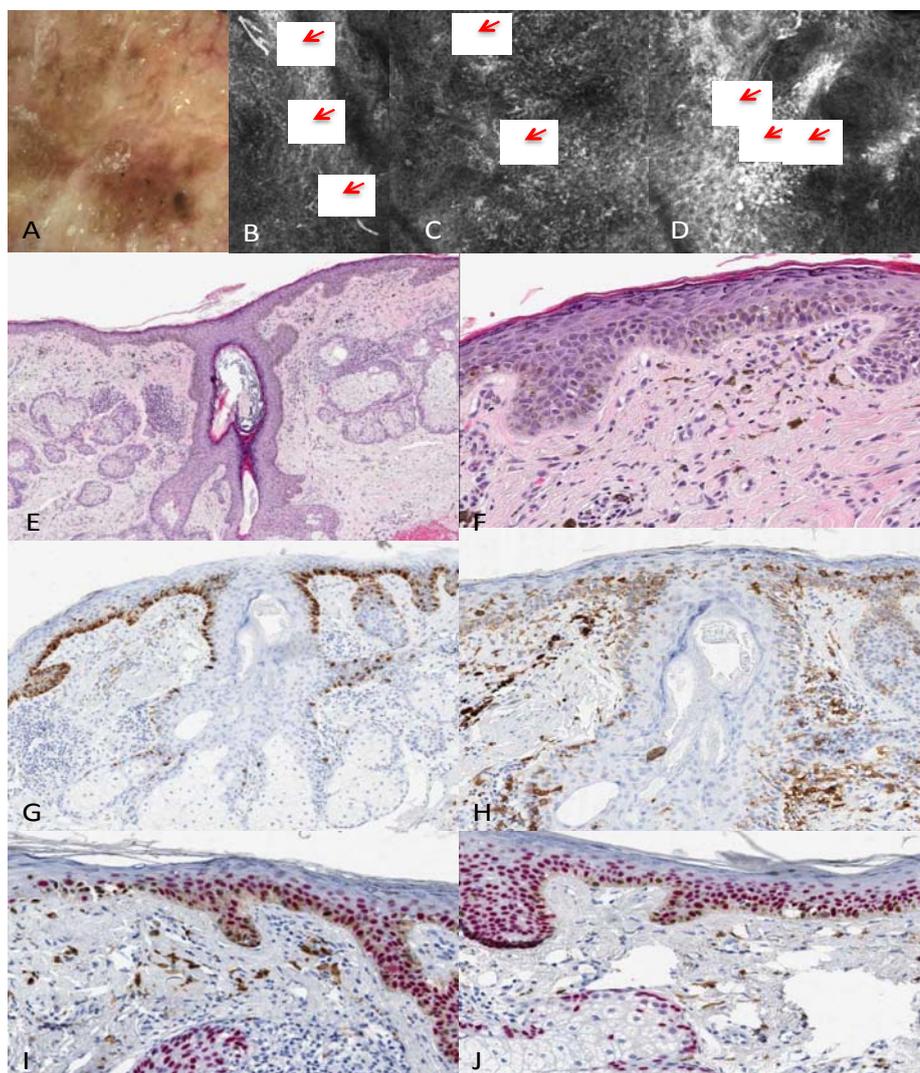


Figura 33 - Caso clínico 17. A) Foto dermatoscópica: abertura folicular assimetricamente pigmentada, estruturas romboidais, áreas escuras sem estruturas ocluindo o óstio folicular. B) Imagem individual de MC (250X250µm) no nível da epiderme: células dendríticas (setas vermelhas) C) Imagem individual de MC (500X500µm) no nível da epiderme: células dendríticas nucleadas (setas vermelhas). D) Imagem individual de MC (500X500µm) no nível da JDE: células dendríticas nucleadas perifoliculares (setas vermelhas). E e F) Anatomopatológico ao HE: presença de melanócitos atípicos na epiderme em padrão lentiginoso. G) Imuno-histoquímica. Melan - A: marcação da melanina citoplasmática em melanócitos e queratinócitos.H) CD1A: presença de células dendríticas de Langerhans na epiderme e epitélio folicular. I e J) MITF - p63: marcação dos queratinócitos em vermelho e do núcleo dos melanócitos. **Diagnóstico:** melanoma in situ tipo lentiginoso. Escore pelo nomograma: 75%.

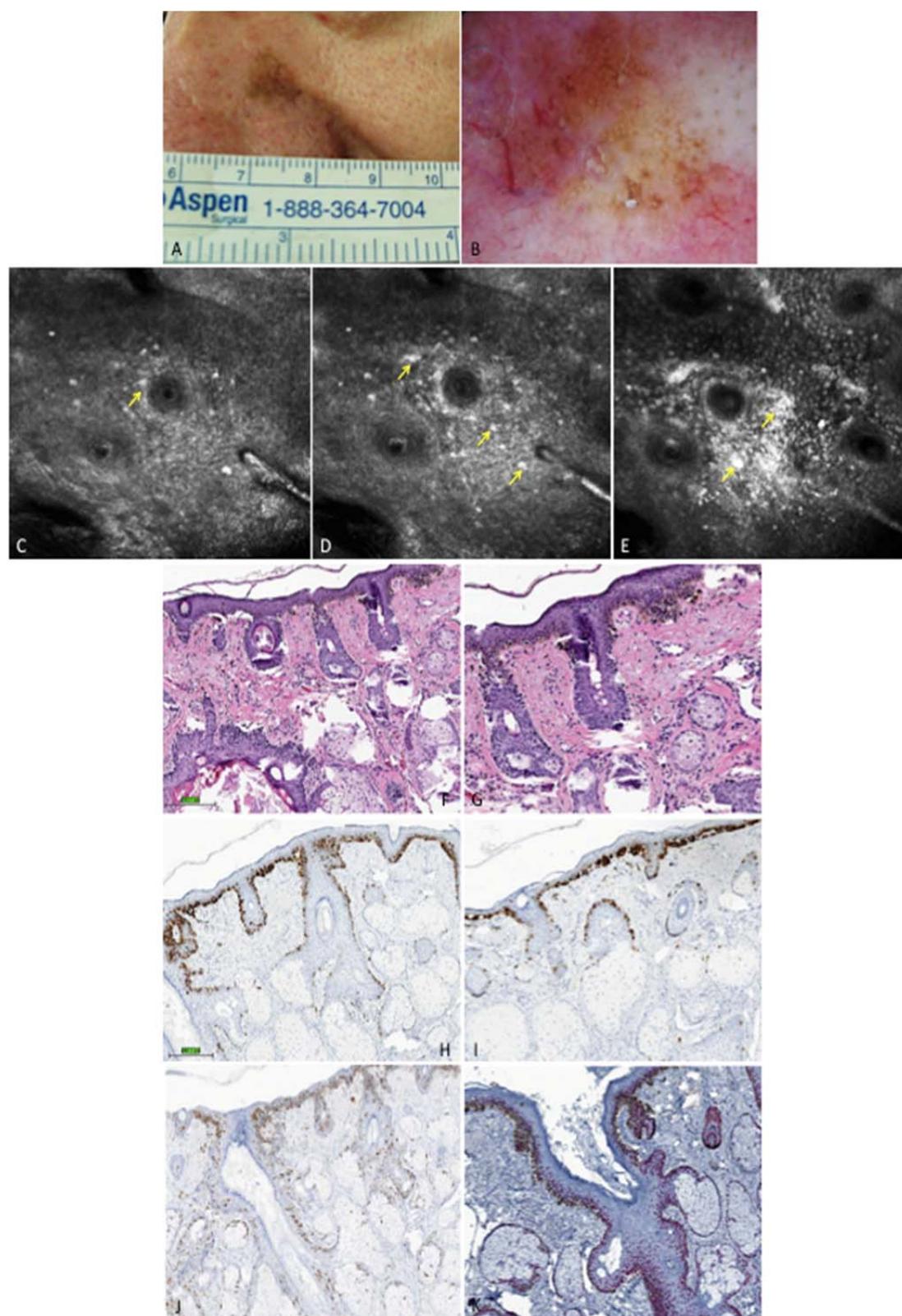


Figura 34 - Caso clínico 18. **A.** Imagem clínica de mácula acastanhada na região nasal. **B.** Imagem da dermatoscopia: abertura folicular assimetricamente pigmentada, estruturas romboidais. **C, D e E.** Imagens individuais de MC ($\cong 200 \times 200 \mu\text{m}$) no nível da epiderme, suprapapilar e JDE respectivamente: células redondas nucleadas e dendritos perifoliculares (setas amarelas). **F e G.** Imagens do exame anatomopatológico ao HE (aumentos de 100X e 200X respectivamente): presença de melanócitos atípicos na epiderme em padrão lentiginoso. **H e I.** Imunoistoquímica Melan – A (aumento de 100X): marcação da melanina citoplasmática em melanócitos e queratinócitos. **J.** Imunoistoquímica CD1A (aumento de 100X): presença de células dendríticas de Langerhans na epiderme. **K.** Imunoistoquímica MITF - p63 (aumento de 200X): marcação dos queratinócitos em vermelho e do núcleo dos melanócitos em marrom. **Diagnóstico:** lentigo maligno. Escore pelo nomograma: 98%.

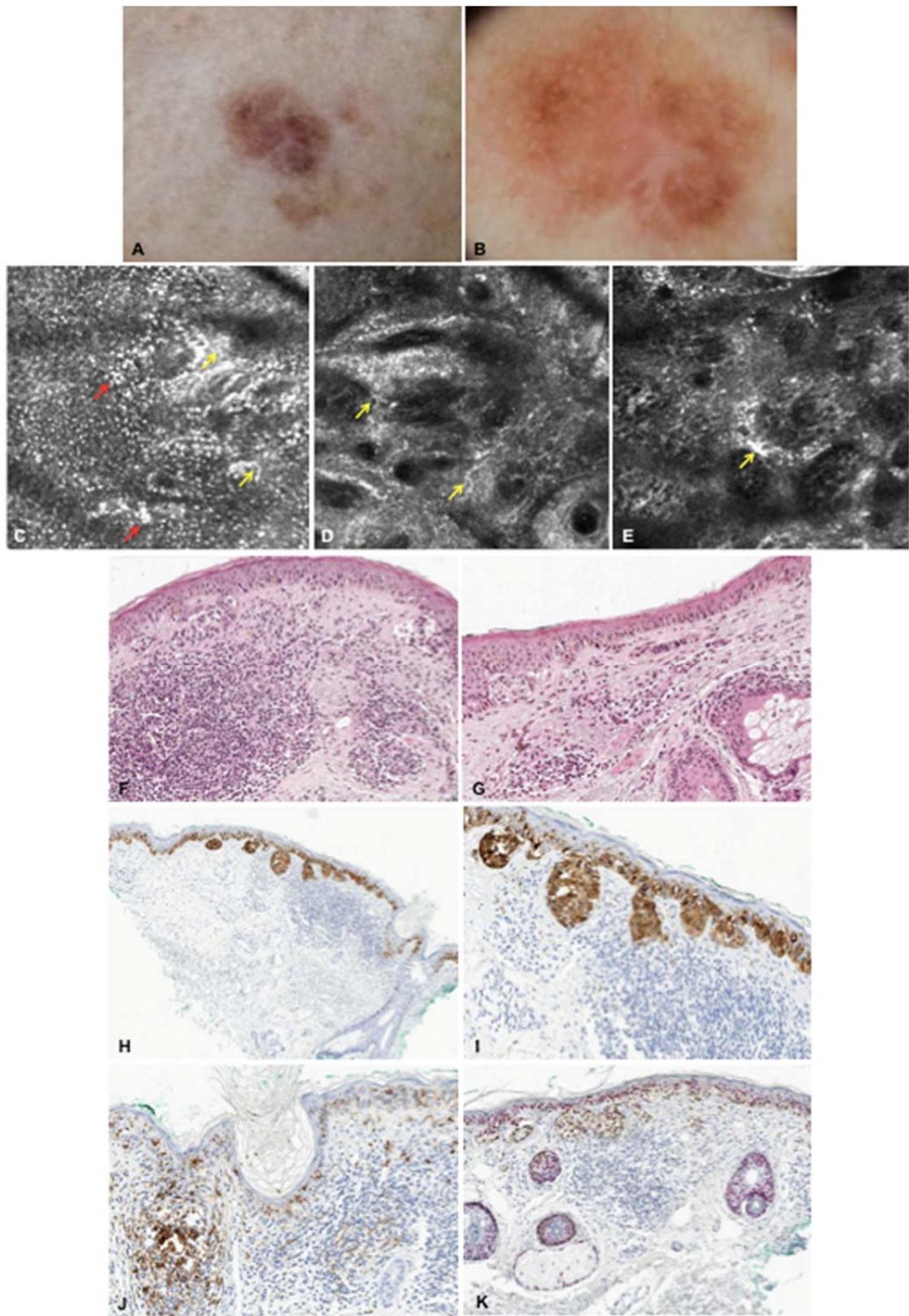


Figura 35 - Caso clínico 19. **A.** Imagem clínica de mácula acastanhada na região malar. **B.** Imagem dermatoscópica (aumento de 10X): abertura folicular assimetricamente pigmentada, estruturas romboidais e círculo dentro de círculo. **C.** Imagem individual de MC (500X500µm) no nível da epiderme: observa-se presença de células dendríticas (setas amarelas) e queratinócitos pigmentados (setas vermelhas). **D e E.** Imagem individual de MC (500X500µm): presença de células dendríticas nucleadas na JDE (setas amarelas). **F e G.** Imagens do exame anatomopatológico ao H&E (aumento de 100X): presença de melanócitos atípicos na epiderme em padrão lentiginoso. **H e I.** Imagens de imunistoquímica com marcação Melan-A (aumentos de 100X e 200X respectivamente): nota-se a marcação da melanina citoplasmática em melanócitos e queratinócitos epidérmicos. **J.** Imagem de imunistoquímica com marcação CD1A (aumento de 100X): presença de células dendríticas de Langerhans na epiderme. **K.** Imagem de imunistoquímica com marcação MITF - p63 (aumento de 100X): observa-se a presença da marcação dos queratinócitos em vermelho e do núcleo dos melanócitos em marrom.

Diagnóstico: lentigo maligno. Escore pelo nomograma: 25%.

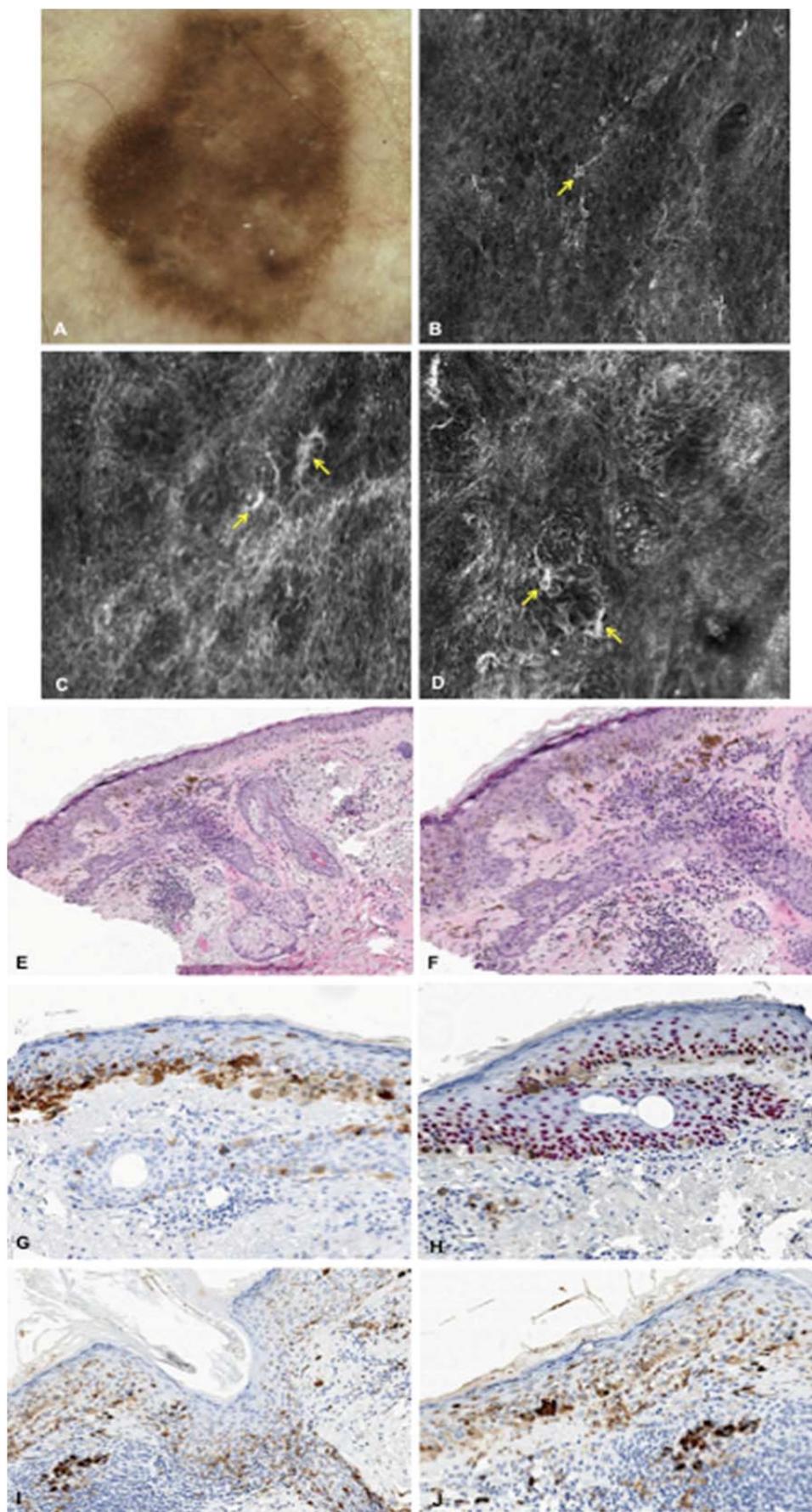


Figura 36 - Caso clínico 20. **A.** Imagem dermatoscópica (aumento de 10X). **B.** Imagem individual de MC (500X500µm) no nível da epiderme: presença de células dendríticas nucleadas (seta amarela). **C e D.** Imagens individuais de MC (500X500µm) no nível da JDE: presença de dendritos perifoliculares e interpapilares (setas amarelas). **E e F.** Imagens do exame anatomopatológico à coloração Hematoxilina-Eosina: presença de hiperproliferação melanocítica juncional em padrão lentiginoso e melanócitos atípicos. **G.** Imagem de imunoistoquímica com marcação Melan-A (aumento de 200X): marcação da melanina citoplasmática em melanócitos e queratinócitos. **H.** Imagem de imunoistoquímica com marcação MITF - p63 (aumento de 200X): marcação dos queratinócitos em vermelho e do núcleo dos melanócitos em marrom. **I e J.** Imagens de imunoistoquímica com marcação CD1A (aumento de 200X): presença de células dendríticas de Langerhans na epiderme.

Diagnóstico: Proliferação melanocítica juncional lentiginosa com intensa atipia. Escore pelo nomograma: 25%

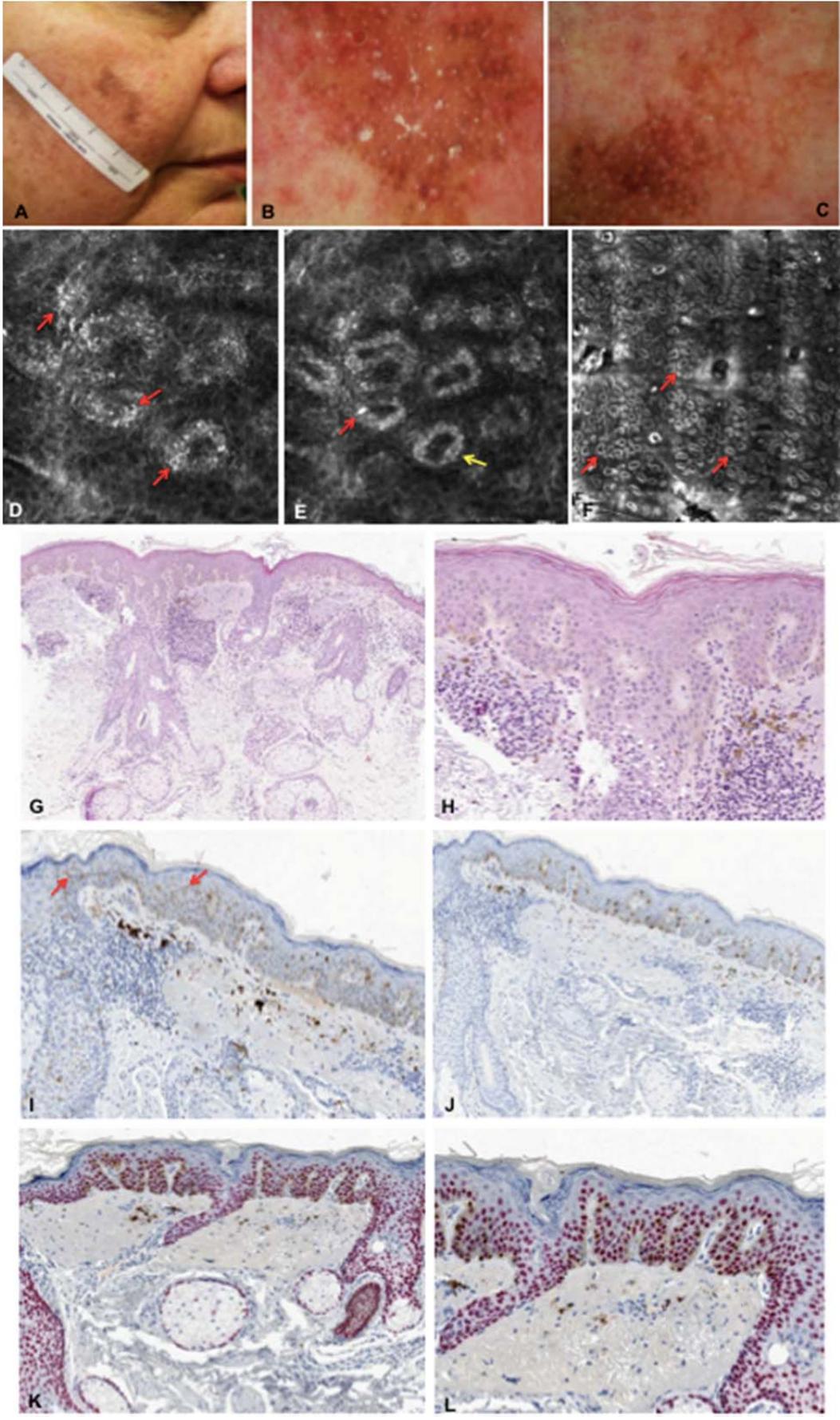


Figura 37 - Caso clínico 21. **A.** Imagem clínica de mácula acastanhada na região malar direita. **B e C.** Imagem dermatoscópica (aumento de 10X) com padrão anular-granular: abertura folicular assimetricamente pigmentada, estruturas romboidais e círculo dentro de círculo. **D.** Imagem individual de MC (500X500µm) no nível da epiderme: presença de células redondas nucleadas e dendritos suprapapilar (setas vermelhas). **E.** Imagem individual de MC (500X500µm): Presença de papilas demarcadas (seta amarela) e uma célula dendrítica nucleada (seta vermelha) na JDE. **F.** Imagem em mosaico de MC (2,5X2,5mm) no nível da JDE: presença de papilas demarcadas de pequeno diâmetro (setas vermelhas). **G e H.** Imagens do exame anatomopatológico com coloração H&E (aumentos de 100X e 200X respectivamente): presença de atipia melanocítica de padrão actínico. **I.** Imagem de imunoistoquímica com marcação CD1A: observa-se células dendríticas na epiderme (setas vermelhas). **J.** Imagem de imunoistoquímica com marcação Melan-A: nota-se a marcação da melanina citoplasmática em melanócitos e queratinócitos epidérmicos. **K e L.** Imagem de imunoistoquímica com marcação MITF - p63 (aumentos de 100X e 200X respectivamente): observa-se a marcação dos queratinócitos em vermelho e do núcleo dos melanócitos em marrom. **Diagnóstico:** Ceratose actínica pigmentada. Escore pelo nomograma: 0%.

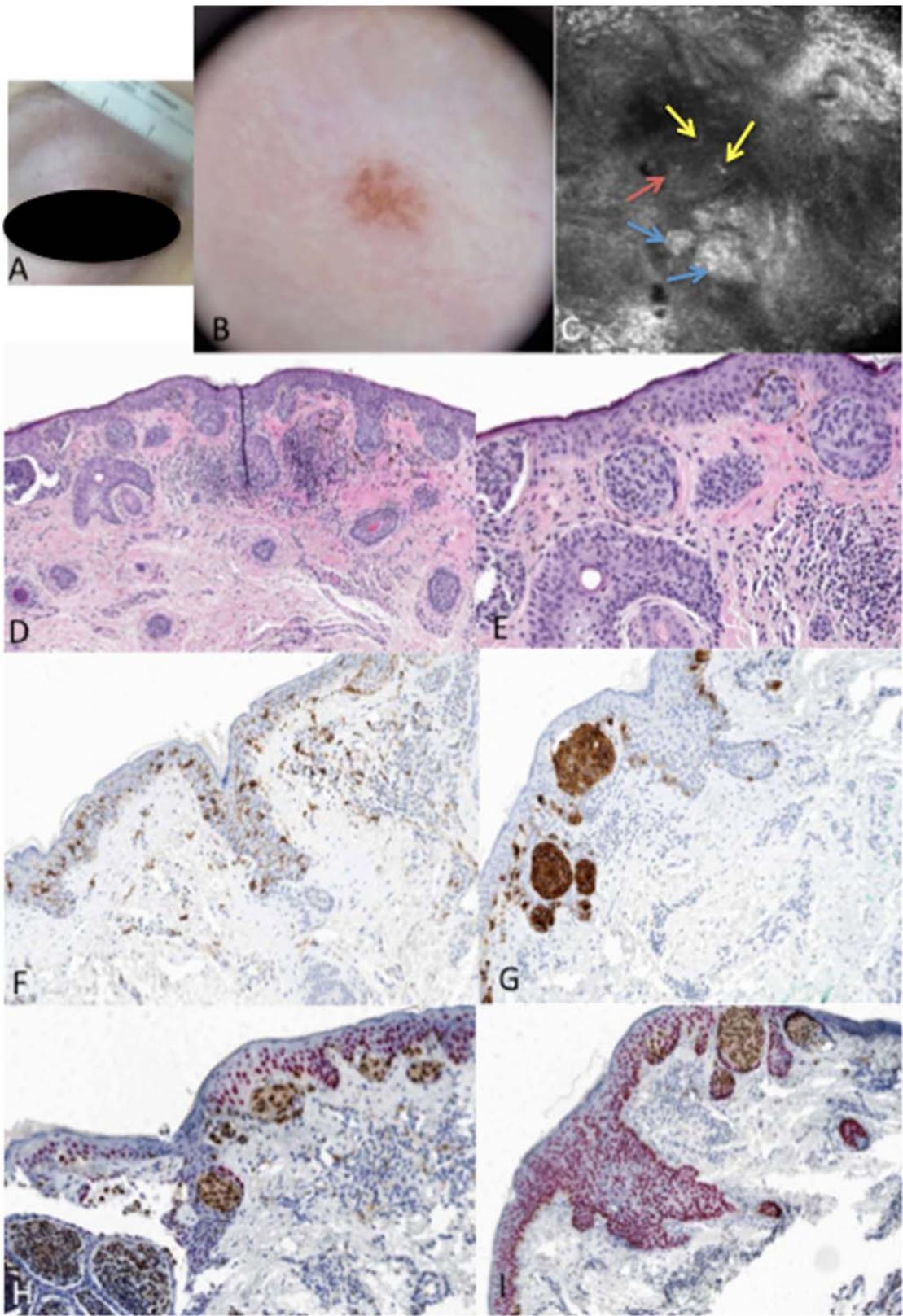


Figura 38 - Caso clínico 22. A) Foto clínica da lesão melanocítica em pálpebra. B) Foto dermatoscópica: abertura folicular assimetricamente pigmentada, estruturas romboidais. C) MC imagem 300 µm: células dendríticas (setas amarelas), célula redonda gigante na epiderme (seta vermelha) e ninhos homogêneos (setas azuis). D e E) Anatomopatológico ao HE (aumento 100X e 200X respectivamente): presença de melanócitos formando ninhos na JDE. F) Imunoistoquímica. CD1A (aumento 100X): presença de células dendríticas de Langerhans na epiderme e epitélio folicular. G) Melan – A (aumento 200X): marcação da melanina citoplasmática em melanócitos e queratinócitos. H e I) MITF - p63 (aumento 200X): marcação dos queratinócitos em vermelho e do núcleo dos melanócitos. **Diagnóstico:** Nevo melanocítico junctional atípico. Escore pelo nomograma: 0.

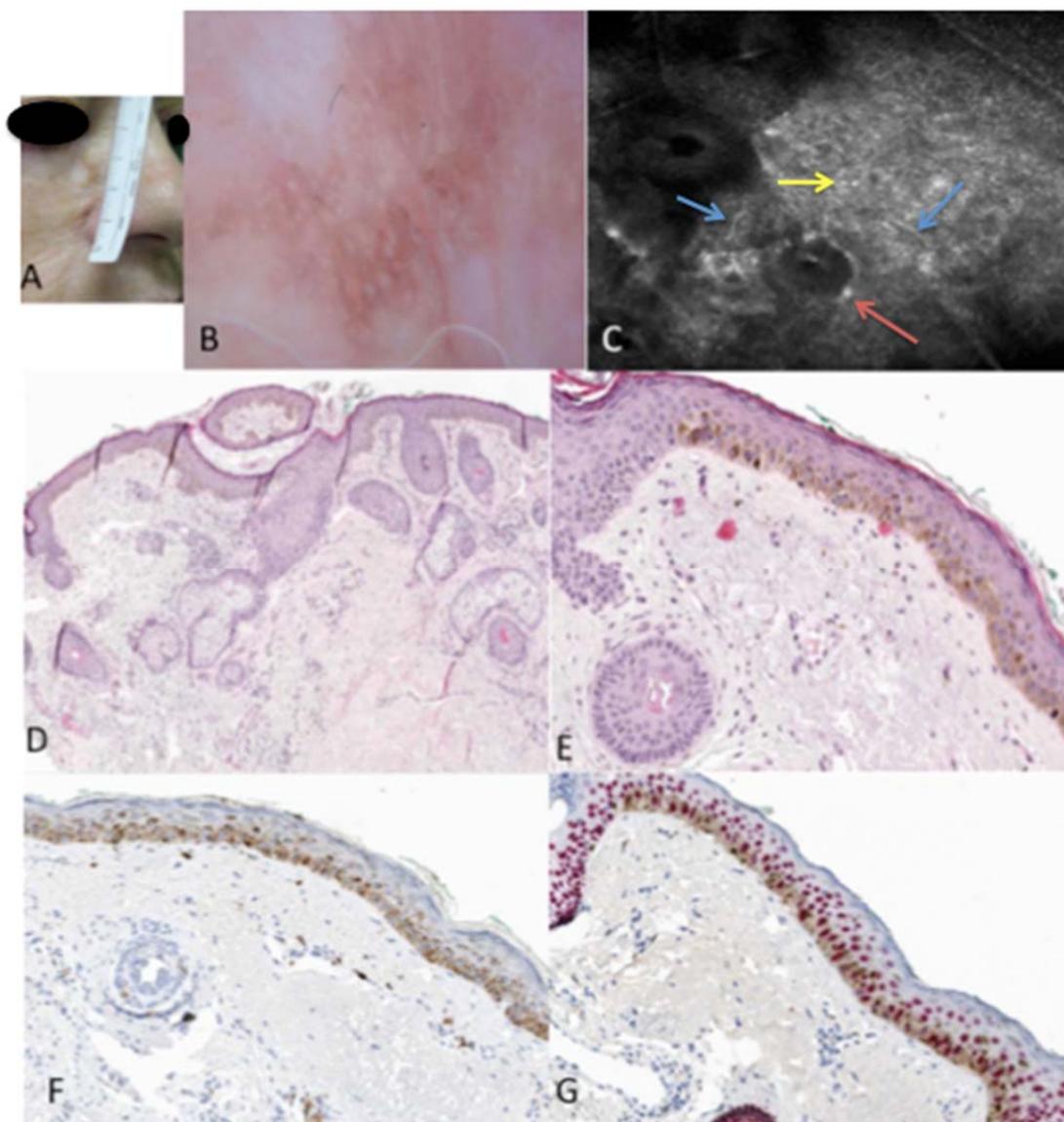


Figura 39 - Caso clínico 23. A) Foto clínica da lesão em região nasal. B) Dermatoscopia: abertura folicular assimetricamente pigmentada, estruturas romboidais. C) MC imagem em 300 µm: células dendríticas epidérmicas (setas azuis), célula redonda atípica na epiderme (seta vermelha) e queratinócitos pigmentados (seta amarela). D e E) Fotos anatomopatológicas à coloração Hematoxilina-Eosina (aumento 100X e 200X respectivamente): Atipia melanocítica de padrão actínico. F) Melan-A (aumento 100X): marcação da melanina citoplasmática em melanócitos e queratinócitos. G) MITF - p63 (aumento 100X): marcação dos queratinócitos em vermelho e do núcleo dos melanócitos em marrom. Diagnóstico: Ceratose actínica pigmentada. Escore pelo nomograma: 0%.

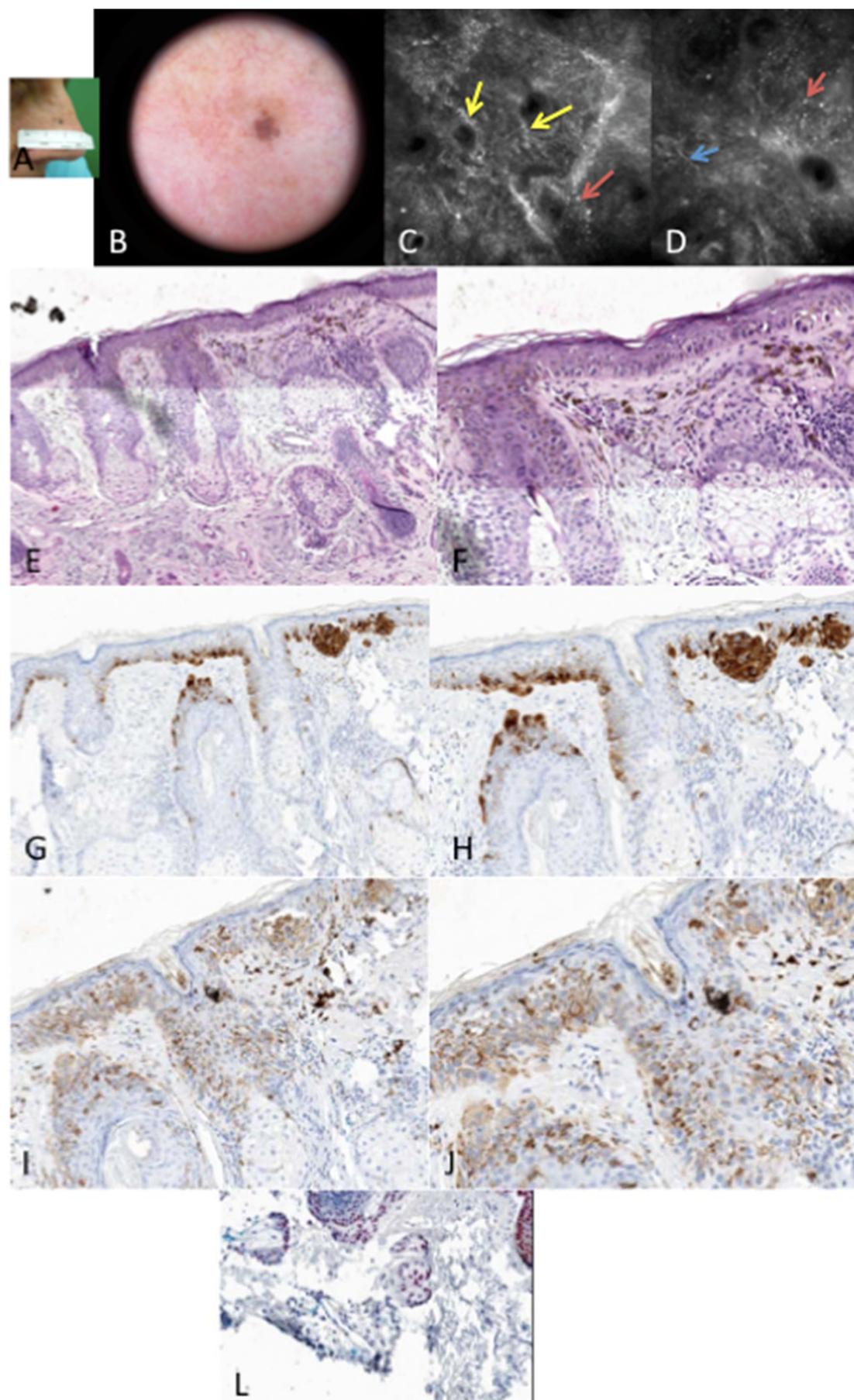


Figura 40 - Caso clínico 24. A) Foto clínica da lesão em região nasal. B) Dermatoscopia: abertura folicular assimetricamente pigmentada, estruturas romboidais. C e D) MC imagem em 300 μm : células dendríticas nucleadas infiltrando o folículo piloso (seta amarela), dendritos interfoliculares (seta azul) e queratinócitos pigmentados (setas vermelhas). E e F) Anatomopatológico ao HE (aumento de 100X e 200X respectivamente): presença de melanócitos atípicos na epiderme em padrão lentiginoso. G e H) Imunoistoquímica. Melan – A HE (aumento de 100X): marcação da melanina citoplasmática em melanócitos e queratinócitos. I e J) CD1A (aumento de 100X e 200X respectivamente): presença de células dendríticas de Langerhans na epiderme. L) MITF - p63 (aumento de 100X): marcação dos queratinócitos em vermelho e do núcleo dos melanócitos em marrom. Diagnóstico: lentigo maligno. Escore pelo nomograma: 75%.

6 DISCUSSÃO

O diagnóstico do LM ou LMM ainda permanece um desafio ao dermatologista, principalmente na sua diferenciação das lesões benignas pigmentadas planas da face, mesmo com o auxílio de técnicas complementares como a dermatoscopia e a microscopia confocal.

As características do LM na pele fotoexposta são diferentes dos demais melanomas e até a origem desta neoplasia é questionável. ACKERMAN et al. (1991) descreveram melanócitos infiltrando o folículo piloso como critério para diferenciar o melanoma da pele fotoexposta de hiperplasia atípica actínica. Na mesma década, WEYERS et al. (1996) observaram este mesmo fenômeno em 96% dos LM e apenas 12% das hiperplasias melanocíticas actínicas. Em um estudo mais recente, foi proposto que a origem do lentigo maligno ocorre nas células-tronco da bainha externa do epitélio folicular, diferenciando-se do desenvolvimento dos demais melanomas que ocorreria a partir de melanócitos da camada basal da epiderme (ZALAUDEK et al. 2008). Mais recentemente, STAR e GUITERA em 2016, citam o LM como uma doença que se apresenta como um espectro na qual há um estágio pré-maligno com aumento do número dos melanócitos na JDE, assim como é visto na pele severamente danificada pelo sol, e que o lentigo solar com hiperplasia melanocítica atípica seria um precursor do LM.

Sobre a epidemiologia do melanoma da face, em nosso estudo houve um discreto predomínio de pacientes do sexo masculino (51,92%) e predomínio de pacientes de baixo fototipo (I e II correspondem a 53,85% dos casos), assim como

é descrito na literatura (GUITERA et al. 2010). Observamos pacientes com fototipo mais alto, sendo 42,31% de fototipo III e 3,85% de fototipo IV, este resultado difere do que encontramos em estudos europeus, australianos e norte-americanos, aonde a grande maioria dos pacientes acometidos por melanoma tem pele clara (TIODOROVIC-ZIVKOVIC et al. 2005). Este fato pode ser justificado pela miscigenação presente em nosso país, somado à localização tropical e altos índices de ultravioleta (NASER 2011). Todos os pacientes com melanoma são da raça branca.

No estudo multicêntrico de TIODOROVIC-ZIVKOVIC et al. (2005), a região malar foi a mais acometida no sexo feminino, já no sexo masculino a incidência foi maior no couro cabeludo e orelhas. A topografia mais prevalente em nosso estudo foi a região malar (49,5%), em concordância com a literatura seguida pela região frontal (24,8%) (**Tabela 4**). Este achado pode ser justificado pela incidência da radiação ultravioleta, pois a face está sempre exposta e não protegida por roupas (DIMITRIOU et al. 2018). Na análise dos melanomas a topografia também seguiu a mesma ordem decrescente de prevalência: região malar, frontal, nasal, mentoniana, periorbital e perioral, as duas últimas com a mesma frequência. Como foram incluídas apenas lesões na face, não temos a frequência da topografia em orelhas, couro cabeludo e cervical, regiões habitualmente acometidas por tumores cutâneos principalmente no sexo masculino.

A média de idade no grupo com melanoma foi de 65 anos (29 a 89 anos) com desvio padrão de 13,53; e, no grupo sem melanoma foi de 63 anos (27 a 89 anos) com desvio padrão de 14,13. Esta idade é esperada para este grupo de pacientes já que o lentigo maligno acomete pacientes com idade mais avançada quando comparado aos pacientes com os outros subtipos de melanoma

(FERRARA et al. 2008). Este achado é condizente com o estudo de DIMITRIOU et al. 2018 com média de idade de 64 anos para os pacientes com melanoma.

O impacto da MC no diagnóstico de LM e lesões maculares da face que podem mimetizar o melanoma foi descrito por GUITERA et al. em 2010 em um estudo multicêntrico com 219 pacientes e 81 lentigos malignos. Neste estudo 29% dos LM e 21% das lesões benignas exibiram o padrão favo de mel atípico. Ao passo que em nosso trabalho foram 7,7% dos melanomas que apresentaram o padrão favo de mel atípico e 18,9% das lesões não-melanoma; ambos os trabalhos com $p > 0,05$. Este resultado é esperado já que o padrão favo de mel corresponde à atipia de ceratinócitos na epiderme, que pode ser resultado de dermatoses benignas e malignas. Como critério isolado, ele geralmente é valorizado em lesões de origem ceratinocítica, como por exemplo ceratose actínica e carcinoma espinocelular (AGOZZINO et al. 2018).

No nosso estudo, os critérios da microscopia confocal que apresentaram significância estatística ($p < 0,05$) para o diagnóstico de melanoma foram célula redonda atípica na epiderme, célula dendrítica na epiderme, disseminação pagetóide, célula atípica na JDE, ninhos juncionais atípicos, célula dendrítica folicular e *sheets of cells* (**Tabela 8**).

Após a exclusão dos dois critérios que não apresentaram significância estatística (*cords* e padrão em favo de mel atípico) foi realizado o modelo de Regressão Logística Múltipla com os demais 8 critérios avaliados pela microscopia confocal que apresentaram $p < 0,05$.

A Regressão Logística Múltipla definiu 3 critérios estatisticamente significativos: célula redonda atípica na epiderme, disseminação pagetóide e célula dendrítica folicular (**Tabelas 9**). Com esses achados, foi elaborado um

nomograma para expressar a chance, em percentual, do paciente apresentar o diagnóstico de melanoma de acordo com a presença ou ausência das alterações celulares encontradas na microscopia confocal (**Figura 18**).

A vantagem deste tipo de análise é que os critérios recebem pontuações diferentes de acordo com o valor de cada critério presente, permitindo uma análise mais individualizada da lesão. No nosso estudo, esperamos um resultado que pudesse ser reproduzido na prática clínica do consultório, de maneira rápida e factível, de modo a auxiliar o diagnóstico diferencial do LM.

De acordo com o nomograma, a presença de célula atípica redonda na epiderme corresponde a 75 pontos, disseminação pagetóide equivale a 100 pontos e célula dendrítica folicular a 58 pontos. Portanto, se um paciente apresentar estes 3 critérios à microscopia confocal, soma-se 233 pontos e resultamos em 98% de probabilidade do diagnóstico de melanoma. Um paciente que apresenta apenas disseminação pagetóide apresenta pontuação 100, o que corresponde a 53% de probabilidade de apresentar melanoma. Quando os critérios célula redonda atípica e disseminação pagetóide estão presentes, a pontuação é 175 e a probabilidade para melanoma é 91%. Se apresentar célula dendrítica folicular isoladamente a chance de ter melanoma nivela-se a 25%, se associado à célula redonda atípica na epiderme passa a ser 75%. Célula dendrítica folicular e disseminação pagetóide correspondem a 86% de probabilidade para melanoma. A presença de célula redonda atípica isoladamente equipara-se a 36% de probabilidade para melanoma. (**Tabela 11**). Desta maneira, torna-se fácil e rápido estimar a probabilidade da lesão em investigação ser maligna, baseada nestes 3 critérios descritos na MC.

Avaliando o escore pelo nomograma dos casos em que a imunoistoquímica foi realizada, nota-se que 4 dos LM exibiram 75% de probabilidade de ser melanoma devido à presença de célula redonda atípica na epiderme e de célula dendrítica folicular. Um LM apresentou 98% de probabilidade de corresponder à melanoma, pois os três critérios da confocal estavam presentes. E o outro LM apresentou 25% de probabilidade para melanoma pois apenas célula dendrítica folicular estava presente. A HPM também apresentou 25% de probabilidade para melanoma pela presença de célula dendrítica folicular. Já o nevo atípico e as ceratoses actínicas pigmentadas apresentaram zero de probabilidade para melanoma. Isto mostra que o nomograma é de grande auxílio para os casos difíceis de lesão pigmentada preditoras de melanoma.

Os critérios com significância estatística no estudo de GUITERA et al. (2010) foram células atípicas na JDE (presentes em 86% dos LM e 37% das lesões benignas), células pagetóides redondas (presentes em 75% dos LM e 28% das lesões benignas), células dendríticas pagetóides (presentes em 54% dos LM e 16% das lesões benignas) e células dendríticas foliculares (presentes em 25% dos LM e 7% das lesões benignas). Com estes resultados, o escore definido para lentigo maligno de acordo com GUITERA et al. (2010) foi: **2 pontos** para papilas não demarcadas e célula pagetóide redonda maior do que 20 μ m; **1 ponto** para: mais de 3 células atípicas na JDE em 5 imagens, célula pagetóide folicular ou célula atípica na JDE e célula nucleada dentro da papila dérmica; 1 fator protetor (subtrair 1 ponto) para padrão favo de mel típico. O resultado de dois ou mais pontos apresentou sensibilidade de 85% e especificidade de 76% para o diagnóstico de LM (GUITERA et al. 2010) (**Quadro 2**).

O único critério, no nosso estudo, que se apresentou como fator protetor

pelo *odds ratio* foi a presença de ilhas tumorais ou silhuetas escuras. Este dado é esperado e compatível com a prática clínica pois ilha tumoral, um achado com alta especificidade para carcinoma basocelular, não é observado no melanoma. No entanto, vale salientar a importância da avaliação de todos os níveis da pele com a execução correta do exame, já que células dendríticas atípicas podem ser encontradas na epiderme de lesões de carcinoma basocelular pigmentado (AHLGRIMM-SIESS et al. 2018).

Comparando os nossos achados com os critérios dos autores supramencionados, notamos que a presença de célula redonda atípica na epiderme foi de 82% no nosso estudo (OR:14) e 58% (OR:6) em GUITERA et al. (2010). Células dendríticas na epiderme estiveram presentes em 94% dos nossos casos de melanoma e 43% em não melanoma com OR:21 e, no estudo de GUITERA et al. (2010) em 54% dos LM e 16% das lesões benignas com OR:6. Disseminação pagetóide foi observada em 76% dos melanomas e 3% de não melanomas do nosso estudo, e em 35% dos melanomas no estudo comparado. Observamos assim, que a prevalência dos achados epidérmicos à MC foram maiores no nosso estudo do que no estudo GUITERA et al. (2010), tanto para lesão maligna quanto benigna. Podemos atribuir o OR maior, devido à menor população avaliada, ou pelo fato do nosso estudo não incluir exclusivamente LM.

Avaliando a JDE no nosso estudo, célula atípica estava presente em 57% dos melanomas e 11% dos não melanomas com OR:10 e no estudo de GUITERA et al. (2010) em 88% dos LM e 36% das lesões benignas com OR:13. *Sheets of cells* foi visto em 75% dos nossos melanomas e em 5% dos não melanomas com OR:50 enquanto GUITERA et al. (2010) observaram em 8% dos LM com OR:6. A presença de célula dendrítica folicular na nossa casuística foi de 86%, sendo o

segundo critério mais prevalente, com OR:36; e, GUITERA et al. (2010) encontraram 25% de célula dendrítica folicular com OR:4 (**Tabela 8 e 12**). GUITERA et al. (2010) encontraram maior prevalência de célula atípica na JDE, tanto em lesão benigna quanto maligna, os demais critérios, como *sheets of cells* e célula dendrítica folicular, foram mais prevalentes no nosso estudo. É importante salientar que não há padronização quantificável para os critérios na MC, e que há trabalhos que determinam uma quantidade mínima de células alteradas para o critério ser considerado como presente. Optamos por não determinar o número de células na lesão para a análise ser mais qualitativa e lógica durante a prática clínica do consultório. Portanto, no nosso estudo, por exemplo, uma única célula dendrítica folicular já é considerado critério presente.

Um achado bastante discutido na literatura na tentativa de diferenciar o LM/LMM do seu principal simulador, a QAP, é célula dendrítica folicular. NASCIMENTO et al. (2014) descreveram estas células em ambas as lesões, mas apenas nos LM infiltravam o epitélio folicular, em uma casuística pequena com 5 LM. PERSECHINO et al. (2018) observaram foliculotropismo, com a presença de estruturas em “cabeça de medusa” (envolvendo toda a circunferência do folículo), em 62% dos LM/LMM e em apenas 7% das QAP, sendo 76 LM/LMM e 28 QAP avaliadas. Em nosso estudo célula dendrítica folicular, ou seja, no epitélio infundibular, estava presente em 86% dos melanomas e em 15% das lesões benignas ($p < 0,05$), sendo compatível com os principais trabalhos publicados.

Uma dificuldade que persiste nos dias atuais é a distinção entre célula dendrítica melanocítica e célula dendrítica inflamatória (célula de Langerhans - CL) à MC (MENDES et al. 2015). A teoria da diferenciação entre os melanócitos, por apresentarem dendritos longos e espessos, e as células de Langerhans, com

dendritos curtos e finos, muitas vezes, não se aplica na prática (HASHEMI et al. 2012; AHLGRIMM-SIESS et al. 2018). Além deste fato, na pele com fotodano há aumento do número de CL na epiderme, e isto dificulta o diagnóstico acurado de lesões preditoras de lentigo maligno na face (LONGO et al. 2012; AGOZZINO et al. 2018). Este desafio, em diferenciar o melanócito da CL na microscopia confocal, ocorre porque ambas as células são dendríticas e podem infiltrar o folículo (HASHEMI et al. 2012; LONGO et al. 2012; AHLGRIMM-SIESS et al. 2018). Sendo assim, tivemos em nosso estudo casos discordantes entre o diagnóstico à MC e o resultado anatomopatológico, os quais foram elucidados pelo exame de imunistoquímica.

MENGE et al. (2016) analisaram 17 lesões da face suspeitas de LM, pigmentadas ou amelanóticas, primárias ou recidivadas, nas quais foram realizadas 63 fragmentos de biopsia incisional, e publicaram os achados, concordantes ou não para LM, comparando o diagnóstico pela MC e o resultado do exame anatomopatológico. Ele obteve 89% de concordância e 7 casos de falsos-positivos em 3 pacientes (ceratose actínica, ceratose seborreica pigmentada e traumatizada, lentigo solar, melanocitose dérmica e dermatoheliose) que apresentaram células atípicas na JDE e folicular. Dentre os sete casos, três tinham célula redonda pagetóide e apenas um exibiu padrão favo de mel típico (MENGE et al. 2016). Estes autores reproduziram o algoritmo da GUITERA et al. (2010) e encontraram sensibilidade de 100% e especificidade de 71% no diagnóstico de lentigo maligno. Nos sete casos falso-positivos, a imunistoquímica com Melan-A e Sox-10 elucidaram o diagnóstico (MENGE et al. 2016). Portanto, assim como no nosso estudo, MENGE et al. (2016) sinalizam que

a imunistoquímica pode ser de grande auxílio nos casos de dúvida diagnóstica após a realização da MC e exame anatomopatológico pelo HE.

Apesar das tecnologias recentes, como a microscopia confocal e a dermatoscopia, auxiliarem no diagnóstico do melanoma, existem os casos de lentigo maligno que geram dificuldade mesmo ao patologista experiente. Isto ocorre por alterações na pele fotoexposta já descritas anteriormente neste trabalho (melanócitos hiperplásicos, atipia citológica, aumento do número de células dendríticas inflamatórias, ceratinócitos atípicos aumentados de tamanho nas camadas basal e espinhosa inferior que se assemelham ao melanócito ao HE, por apresentar núcleo oval, citoplasma basofílico e mesmo tamanho celular) que também são desafiadoras e permitem múltiplas interpretações tanto no diagnóstico pela MC quanto pela análise anatomopatológica (MENGE et al. 2016). Por isso, incluímos casos com realização de estudo imunistoquímico a fim de contribuir para o acurado diagnóstico.

Em nosso trabalho, foi observado que algumas alterações visualizadas na MC expressavam dificuldade diagnóstica tanto no exame de MC quanto na patologia ao HE. Estas alterações foram elucidadas através de critérios avaliados pela imunistoquímica. Tal dificuldade é exemplificada pela presença da célula pagetóide (folicular e epidérmica), que é um marcador para melanoma, não estar presente em todos os LM e, ambas as células pagetóides (folicular e epidérmica), estarem presentes na HMA. Isto reforça que nenhum critério é exclusivo do LM, HMA ou QAP.

A presença de atipia citológica e disseminação pagetóide em uma proliferação melanocítica atípica da pele cronicamente exposta ao sol é de extrema importância, podendo evoluir para o lentigo maligno (STAR e GUITERA

2016). Melanocitose pagetóide é um termo utilizado na patologia para descrever a disseminação ascendente de melanócitos para a epiderme superficial, sem ser necessária a semelhança com a célula da doença de Paget (HAUPT e STERN 1995). Apesar de ser um critério importante para o diagnóstico de melanoma à histopatologia, a melanocitose também pode ocorrer em lesões benignas (MCGOVERN 1970; RIVERS et al. 1990; VERONESE e MARQUES 2004; PELLACANI et al. 2005). Para distinguir lesões benignas de malignas, a imunohistoquímica é frequentemente usada em busca de proliferação lentiginosa de melanócitos ao longo da junção dérmica-epidérmica, o que sugere a fase de crescimento radial do melanoma (MCGOVERN 1970).

Melan-A, um marcador citoplasmático, é comumente usado para identificar melanócitos por ter alta sensibilidade e especificidade (NYBAKKEN et al. 2013). O fator de transcrição associado à microftalmia (MITF) é um marcador nuclear melanocítico, mais recente, que permite estimativa precisa do número de melanócitos da epiderme, pois apresenta menos interferência do pigmento de melanina citoplasmática. Quando associado ao p-63, um marcador de células mioepiteliais, aumenta a acurácia diagnóstica, pois este cora os ceratinócitos em cor divergente, permitindo assim, melhor diferenciação com os melanócitos (NYBAKKEN et al. 2013).

Em nosso trabalho, a imunohistoquímica do Melan-A e do MITF com p-63 evidenciou que a densidade de melanócitos em uma unidade folicular estava presente em grande quantidade (grau 3 – distribuição difusa) em um dos LM e na HMA. No entanto, apresentou-se como célula isolada (grau 1) em 4 LM, e, ausente (grau 0) em 1 LM, no nevo atípico e nas QAP. Já a quantidade de células pagetóides por mm^2 no folículo foi de 10, 4 e 3 em três lesões de LM; zero em três

LM e nos demais diagnósticos. Nota-se que a densidade de melanócitos na unidade folicular foi maior na HMA do que em alguns LM, assim como a quantificação de células pagetóides no folículo piloso estava ausente em alguns LM. Tais achados demonstram que estes critérios não diferenciam lesão maligna de benigna, uma vez que não há achado patognomônico na MC ou IMH para identificar o LM (**Tabela 12**).

O marcador CD1A mostrou que o nevo atípico apresentou maior número de células pagetóides, tanto folicular quanto epidérmica, do que os LM dificultando o diagnóstico diferencial com melanoma. Este achado na microscopia confocal permanece um desafio para o dermatologista, conforme já descrito anteriormente (GUITERA et al. 2010; COLLGROS et al. 2015; MENGE et al. 2016; AGOZZINO et al. 2018). O nosso estudo comprova que a distribuição esparsa e focal de células pagetóides em lesão benigna, contraposto à disseminação pagetóide difusa em lesão maligna às vezes não se aplica, uma vez que o nevo melanocítico atípico foi a lesão que apresentou maior quantidade e densidade de células pagetóides epidérmicas e foliculares, enquanto que um dos LM exibiu 25% da quantidade de célula pagetóide folicular encontrada no nevo atípico, e 27% da densidade de células pagetóides epidérmicas. Vale ressaltar que outros fatores influenciam na quantidade de células inflamatórias na pele, como a idade biológica, a exposição à radiação ultravioleta e a terapia de *reposição hormonal* (ZEGARSKA et al. 2017).

Não houve alteração de diagnóstico após a análise da imunoistoquímica, no entanto, a maioria dos casos já possuía algum marcador imunoistoquímico, pois este exame de complementação para a avaliação anatomopatológica, é realizado na prática rotineira do serviço de anatomia patológica do A. C. Camargo

Cancer Center quando há o diagnóstico de melanoma ou casos que suscitam dúvida ao HE.

Contudo, é notável atentar-se para lesões pigmentadas da face que apresentarem célula atípica redonda na epiderme, disseminação pagetóide e/ou célula dendrítica folicular à MC. Quanto maior a associação destes critérios, maior a probabilidade de tratar-se de lesão maligna, e portanto, justifica-se a necessidade de intervenção cirúrgica.

Este estudo apresenta limitação por não ser exclusivo sobre LM/LMM, por haver melanoma extensivo superficial e um melanoma nodular na amostragem das lesões da face.

Sugerimos estudos futuros com a aplicação do nomograma em LM/LMM da face, e posterior, validação do nomograma na prática clínica. Assim como, aumentar a casuística da análise anatomopatológica e imunoistoquímica, com inclusão de estatística, a fim de contribuir na elucidação do diagnóstico do complexo LM da face.

7 CONCLUSÃO

Depreende-se que os achados da microscopia confocal mais relevantes para o diagnóstico de melanoma da face são: células atípicas redondas na epiderme, disseminação pagetóide e célula dendrítica folicular. O nosso estudo viabilizou uma estimativa de probabilidade por intermédio de um percentual executável para o referido diagnóstico de melanoma da face, de acordo com a presença, ausência e concomitância destes critérios, de maneira prática e factível à aplicação no cotidiano do consultório. Sugerimos, em um futuro próximo, reproduzir esta análise com maior amostragem de casos.

Alguns casos permanecem como desafio diagnóstico à microscopia confocal, principalmente, LM com hiperproliferação melanocítica atípica e proliferação melanocítica actínica. A imunoistoquímica com quantificação celular mostrou-se um diferencial considerável na elucidação destas circunstâncias. Aconselhamos outros estudos com maior amostra de casos para ratificar a significância estatística destes achados e, assim, apresentar um escore que proporcione o diagnóstico acurado do melanoma.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[ACS] American Cancer Society. **About melanoma skin cancer**. Last Medical Review: May 19, 2016 Last Revised: January 4, 2018. Available from: <URL:<https://bit.ly/2XrmbkV>> [2018 set 12].

Ackerman AB, Borghi S. "Pagetoid melanocytic proliferation" is the latest evasion from a diagnosis of "melanoma in situ". **Am J Dermatopathol** 1991; 13:583-604.

Agozzino M, Russo T, Ardigo M, et al. Challenging facial pigmented lesions: values and limits of confocal microscopy. **Dermatol Pract Concept** 2018; 8:188-90.

Ahlgrimm-Siess V, Hofmann-Wellenhof R, Cao T, Oliviero M, Scope A, Rabinovitz HS. Reflectance confocal microscopy in the daily practice. **Semin Cutan Med Surg** 2009; 28:180-9.

Ahlgrimm-Siess V, Laimer M, Rabinovitz HS, et al. Scope a. confocal microscopy in skin cancer. **Curr Derm Rep** 2018; 7:105-18.

Akay BN, Kocyigit P, Heper AO, Erdem C. Dermoscopy of flat pigmented facial lesion: diagnostic challenge between pigmented actin keratosis and lentigo maligna. **Br J Dermatol** 2010; 163:1212-7.

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.

Bergman R, Azzan H, Sprecher E, Manov L, Munichor M, Friedman-Birnbaum R. A comparative immunohistochemical study of MART-1 expression in spitz nevi, ordinary melanocytic nevi and malignant melanoma. **J Am Acad Dermatol** 2000; 42:496-500.

Bollea-Garlatti LA, Galimberti GN, Galimberti RL. Lentigo maligno. Claves en el diagnóstico dermatoscópico. **Actas Dermosifiliogr** 2016; 107:489-97.

Braun RP, Rabinovitz H, Oliviero M, Kopf AW, Saurat JH. Dermoscopic diagnosis of seborrheic keratosis. **Clin Dermatol** 2002; 20:270-2.

Braun RP, Rabinovitz HS, Oliviero M, Kopf AW, Saurat JH. Dermoscopy of pigmented skin lesions. **J Am Acad Dermatol** 2005; 52:109-21.

Busam KJ, Charles C, Lee G, Halpern AC. Morphologic features of melanocytes, pigmented keratinocytes, and melanophages by in vivo confocal scanning laser microscopy. **Mod Pathol** 2001; 14:862-8.

Calzavara-Pinton P, Longo C, Venturini M, Sala R, Pellacani G. Reflectance confocal microscopy for in vivo skin imaging. **Photochem Photobiol** 2008; 84:1421-30.

Campos-do-Carmo G, Ramos-e-Silva M. Dermoscopy: basic concepts. **Int J Dermatol** 2008; 47:712-9.

Carrera C, Puig S, Malvehy J. In vivo confocal reflectance microscopy in melanoma. **Dermatologic Ther** 2012; 25:410-22.

Charifa A, Chen CSJ. **Cancer, melanoma, lentigo maligna**. 2018 Oct 27. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019 Jan-. Available from: <URL:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482163>.

Chen LL, Scope A, Carvalho N, Rabinovitz HS, Pellacani G. Difficult-to-diagnose facial melanomas: utility of reflectance confocal microscopy in uncovering the diagnosis. **JAAD Case Rep** 2017; 3:379-83.

Cinotti E, Labeille B, Debarbieux S, et al. Dermoscopy vs. reflectance confocal microscopy for the diagnosis of lentigo maligna. **J Eur Acad Dermatol Venereol** 2018; 32:1284-91.

Ciudad C, Avilés JA, Suárez R, Lázaro P. Utilidad de la dermatoscopia en el diagnóstico de las queratosis actínicas pigmentadas. **Actas Dermosifiliogr** 2011; 102:623-6.

Cohen LM. The starburst giant cell is useful for distinguishing lentigo maligna from photodamaged skin. **J Am Acad Dermatol** 1996 35:962-8.

Collgros H, Lamas-Doménech N.FR-Lentigo maligno, actualización en técnicas diagnósticas y terapéuticas. **Actas Dermosifiliogr** 2015; 106:135-6.

Costa-Silva M, Calistru A, Barros AM, Lopes S, Esteves M, Azevedo F. Dermoscopy of flat pigmented facial lesions-evolution of lentigo maligna diagnostic criteria. **Dermatol Pract Concept** 2018; 8:198-203.

Cronin JC, Watkins-Chow DE, Incao A, et al. SOX10 ablation arrests cell cycle, induces senescence, and suppresses melanomagenesis. **Cancer Res** 2013; 73:5709-18.

Dalton SR, Gardner TL, Libow LF, Elston DM. Contiguous lesions in lentigo maligna. **J Am Acad Dermatol** 2005; 52:859-62.

de Carvalho N, Farnetani F, Ciardo S, et al. Reflectance confocal microscopy correlates of dermoscopic patterns of facial lesions help to discriminate lentigo maligna from pigmented nonmelanocytic macules. **Br J Dermatol** 2015; 173:128-33.

Dessinioti C, Dimou N, Geller AC, et al. Distinct clinicopathological and prognostic features of thin nodular primary melanomas: an international study from 17 centers. **J Natl Cancer Inst** 2019 Mar 13. [Epub ahead of print]

Dimitriou F, Krattinger R, Ramelyte E, et al. The world of melanoma: epidemiologic, genetic, and anatomic differences of melanoma across the globe. **Curr Oncol Rep** 2018; 20:87.

Duarte AF, Sousa-Pinto B, Barros AM, Haneke E, Correia O. Lentigo maligna-not always a face and neck disease of the elderly. **Dermatology** 2018; 234:37-42.

Elder DE, Elenitsas R, Murphy GF, Xiaowei X. Benign pigmented lesions and malignant melanoma. In: Elder DE, editor. **Lever's histopathology of the skin**. Philadelphia: Lippincott Williams & Williams; 2005. p.715-803.

Ferrara G, Ligrone L, Zalaudek I, Mordente I, Argenziano G. Lentigo maligna in a young adult. **Dermatology** 2008; 217:66-8.

Geller AC, Annas GD. Epidemiology of melanoma and nonmelanoma skin cancer. **Semi Oncol Nurs** 2003 19:2-11.

Ghazawi FM, Cyr J, Darwich R, et al. Cutaneous Malignant Melanoma Incidence and Mortality Trends in Canada: a comprehensive population-based Study. **J Am Acad Dermatol** 2019; 80:448-59.

Greveling K, van der Klok T, van Doorn MB, Noordhoek Hegt V, Prens EP. Lentigo maligna - anatomic location as a potential risk factor for recurrences after non-surgical treatment. **J Eur Acad Dermatol Venereol** 2017; 31:450-454.

Guitera P, Pellacani G, Longo C, Seidenari S, Avramidis M, Menzies SW. In vivo reflectance confocal microscopy enhances secondary evaluation of melanocytic lesions. **Invest Dermatol** 2009; 129:131-8.

Guitera P, Pellacani G, Crotty KA, et al. The impact of in vivo reflectance confocal microscopy on the diagnostic accuracy of lentigo maligna and equivocal pigmented and nonpigmented macules of the face. **J Invest Dermatol** 2010; 130:2080-91.

Guitera P, Pellacani G, Longo C, Seidenari S, Avramidis M, Menzies SW. In vivo reflectance confocal microscopy enhances secondary evaluation of melanocytic lesions. **Invest Dermatol** 2009; 129:131-8.

Guitera P, Moloney FJ, Menzies SW, et al. Improving management and patient care in lentigo maligna by mapping with in vivo confocal microscopy. **JAMA Dermatol** 2013; 149:692-8.

Gulia A, Altamura D, De Trane S, Micantonio T, Fagnoli MC, Peris K. Pigmented reticular structures in basal cell carcinoma and collision tumours. **Br J Dermatol** 2010; 162:442-4.

Hashemi P, Pulitzer MP, Scope A, Kovalyshyn I, Halpern AC, Marghoob AA. Langerhans cells and melanocytes share similar morphologic features under in vivo reflectance confocal microscopy: a challenge for melanoma diagnosis. **J Am Acad Dermatol** 2012; 66:452-62.

Haupt HM, Stern JB. Pagetoid melanocytosis: histologic features in benign and malignant lesions. **Am J Surg Pathol** 1995; 19:792-7.

Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. **N Engl J Med** 2010; 363:711-23.

Jaimes N, Marghoob AA. The morphologic universe of melanoma. **Dermol Clin** 2013, 31:599-613.

Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics 2010. **CA Cancer J Clin** 2010; 60:277-300.

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

Kvaskoff M, Siskiud V, Green AC. Risk factors of lentigo maligna melanoma compared with superficial spreading melanoma. **Arch Dermatol** 2012; 148:164-70.

Lallas A, Argenziano G, Moscarella E, Longo C, Simonetti V, Zalaudek I. Diagnosis and management of facial pigmented macules. **Clin Dermatol** 2014; 32:94-100.

LeBoit PE, Burg G, Weedon D, Sarasin A. **Classification of tumours. pathology and genetics of skin tumours**. Lyon: IARC Press; 2006. (WHO Classification of Tumours, 3rd Edition, Volume 6).

Longo C, Zalaudek I, Argenziano G, Pellacani G. New directions in dermatopathology in vivo confocal microscopy in clinical practice. **Dermatol Clin** 2012; 30:799-814.

Marghoob AA, Swindle LD, Moricz CZ, et al. Instruments and new technologies for the in vivo diagnosis of melanoma. **J Am Acad Dermatol** 2003; 49:777-97; quiz 798-9.

McGovern VJ. The classification of melanoma and its relationship with prognosis. **Pathology** 1970; 2:85-98.

Mendes FBR, Castro RPR, Macedo MP, Pinto CAL, Duprat-Neto JP, Rezze GG. Pseudomelanoma diagnostic through confocal microscopy: the challenge of the epidermal dendritic cells. **Surg Cosmet Dermatol** 2015; 7:246-8.

Menge TD, Hibler BP, Cordova MA, Nehal KS, Rossi AM. Concordance of handheld reflectance confocal microscopy (RCM) with histopathology in the diagnosis of lentigo maligna (LM): a prospective study. **J Am Acad Dermatol** 2016; 74:1114-20.

Micantonio T, Neri L, Longo C, et al. A new dermoscopic algorithm for the differential diagnosis of facial lentigo maligna and pigmented actinic keratosis. **Eur J Dermatol** 2018; 28:162-8.

Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Tipos de câncer: câncer de pele e melanoma**. Última modificação: 23/11/2018 Disponível em: <URL:<https://bit.ly/2HGYgKi>> [2018 jul 25]

Moscarella E, Rabinovitz H, Zalaudek I, et al. Dermoscopy and reflectance confocal microscopy of pigmented actinic keratoses: a morphological study. **J Eur Acad Dermatol Venereol** 2015; 29:307-14.

Naser N. Cutaneous melanoma: a 30-year-long epidemiological study conducted in a city in southern Brazil, from 1980-2009. **An Bras Dermatol** 2011; 86:932-41.

Nascimento MM, Shitara D, Enokihara MM, Yamada S, Pellacani G, Rezza GG. Inner gray halo, a novel dermoscopic feature for the diagnosis of pigmented actinic keratosis: clues for the differential diagnosis with lentigo maligna. **J Am Acad Dermatol** 2014; 71:708-24.

Navarrete-Dechent C, Liopyris K, Cordova M, Busam KJ, Marghoob AA, Chen CJ. Reflectance confocal microscopic and en face histopathologic correlation of the dermoscopic "circle within a circle" in lentigo maligna. **JAMA Dermatol** 2018; 154:1092-4.

Nicolson NG, Han D. Desmoplastic melanoma. **J Surg Oncol** 2019; 119:208-15.

Nybakken GE, Sargen M, Abraham R, Zhang PJ, Ming M, Xu X. MITF accurately highlights epidermal melanocytes in atypical intraepidermal melanocytic proliferations. **Am J Dermatopathol** 2013; 35:25-9.

O'Donnell AT, Kim CC. Imaging technologies for pigmented lesions. **Semin Cutan Med Surg** 2012; 31:38-44.

Ohsie SJ, Sarantopoulos GP, Cochran AJ, Binder SW. Immunohistochemical characteristics of melanoma. **J Cutan Pathol** 2008; 35:433-44.

Oliviero M, Rabinovitz H. Lichen planus-like keratosis. **Dermoscopedia** 2018; 20. Revision as of 21:40, 27 December 2018 by Ofer Reiter. Available from: <URL:<https://bit.ly/2V8RYcG>> [2018 set 15]

Orchard GE, Calonje E. The effect of melanin bleaching on immunohistochemical staining in heavily pigmented melanocytic neoplasm. **Am J Surg Pathol** 1998; 20:357-61.

Pehamberger H, Binder M, Steiner A, Wolff K. In vivo epiluminescence microscopy: improvement of early diagnosis of melanoma. **J Invest Dermatol** 1993; 100:356S-62S.

Pellacani G, Cesinaro AM, Seidenari S. Reflectance-mode confocal microscopy for the in vivo characterization of pagetoid melanocytosis in melanomas and nevi. **J Invest Dermatol** 2005; 125:532-7.

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; 171:1044-51.

Peris K, Maiorino A, Di Stefani A, Longo C, Piana S, Argenziano G. Brown globules in lentigo maligna (LM): A useful dermoscopic clue. **J Am Acad Dermatol** 2016; 75:429-30.

Persechino F, De Carvalho N, Ciardo S, et al. Folliculotropism in pigmented facial macules: Differential diagnosis with reflectance confocal microscopy. **Exp Dermatol** 2018; 27:227-32.

Pralong P, Bathelier E, Dalle E, Poulalhon N, Debarbieux S, Thomas I. Dermoscopy of lentigo maligna melanoma: report of 125 cases. **Br J Dermatol** 2012; 167:280-7.

Que SK, Grant-Kels JM, Rabinovitz HS, Oliviero M, Scope A. Application of handheld confocal microscopy for skin cancer diagnosis advantages and limitations compared with the wide-probe confocal. **Dermatol Clin** 2016; 34:469-75.

Rajadhyaksha M, Grossman M, Esterowitz D, Webb RH, Anderson RR: In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin: melanin provides strong contrast. **J Invest Dermatol** 1995; 104:946-52.

Rajadhyaksha M, Gonzalez S, Zavizlan JM, Anderson RR, Webb RH: In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin II: Advances in instrument and comparison with histology. **J Invest Dermatol** 1999; 113:101-13.

Rezze GG, Sá BCS, Neves RI. Dermatoscopia: o método de análise de padrões. **An Bras Dermatol** 2006; 81:261-8.

Rivers JK, Cockerell CJ, McBride A, Kopf AW: Quantification of histological features of dysplastic nevi. **Am J Dermatopathol** 1990; 12:42-50.

Salvio AG, Marques MEA. Imuno-histoquímica para identificação de células neoplásicas no infiltrado ativo de melanomas finos. **J Bras Patol Med Lab** 2006; 42:143-8.

Schiffner R, Schiffner-Rohe J, Vogt T, et al. Improvement of early recognition of lentigo maligna using dermatoscopy. **J Am Acad Dermatol** 2000; 42:25-32.

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.

Soyer HP, Argenziano G, Talamini R, Chimenti S. Is dermoscopy useful for the diagnosis of melanoma? **Arch Dermatol** 2001; 137:1361-3.

Star P, Guitera P. Lentigo maligna, macules of the face, and lesions on sun-damaged skin: confocal makes the difference. **Dermatol Clin** 2016; 34:421-429.

Stevenson AD, Mickan S, Mallett S, Ayya M. Systematic review of diagnostic accuracy of reflectance confocal microscopy for melanoma diagnosis in patients with clinically equivocal skin lesions. **Dermatol Pract Concept** 2013; 3:19-27.

Stolz W, Schiffner R, Burgdorf WH. Dermatoscopy for facial pigmented skin lesions. **Clin Dermatol** 2002; 20:276-8.

Thomas L, Phan A, Pralong P, Poulalhon N, Debarbieux S, Dalle S. Special locations dermoscopy facial, acral and nail. **Dermatol Clin** 2013; 31:615-24.

Todorovic-Zivkovic D, Argenziano G, Lallas A, et al. Age, gender, and topography influence the clinical and dermoscopic appearance of lentigo maligna. **J Am Acad Dermatol** 2015; 72:801-8.

Troya-Martín M, Blázquez-Sánchez N, Fernández-Canedo I, Frieyro-Elicegui M, Fúnez-Liébana R, Rivas-Ruiz F. Dermoscopic study of cutaneous malignant melanoma: descriptive analysis of 45 cases. **Actas Dermosifiliogr** 2008; 99:44-53.

Veronese LA, Marques MEA. Critérios anatomopatológicos para melanoma maligno cutâneo: análise qualitativa de sua eficácia e revisão da literatura. **J Bras Patol Med Lab** 2014; 40:99-112.

Xie C, Pan Y, McLean C, Mar V, Wolfe R, Kelly JW. Scalp melanoma: Distinctive high risk clinical and histological features. **Australas J Dermatol** 2017; 58:181-8.

Watson M, Johnson CJ, Chen VW, et al. Melanoma surveillance in the United States: overview of methods. **J Am Acad Dermatol** 2011; 65 (5 Suppl 1):S6-16.

Weyers W, Bonczkowitz M, Weyers I, Bittinger A, Schill WB. Melanoma in situ versus melanocytic hyperplasia in sun-damaged skin: assessment of the significance of histopathologic criteria for differential diagnosis. **Am J Dermatopathol** 1996; 18:560-6.

Wong A, Zon L. Melanocytes in development and cancer. **J Cell Physiol** 2010; 222:38-41.

Wurm EM, Curchin CE, Lambie D, Longo C, Pellacani G, Soyer HP. Confocal features of equivocal facial lesions on severely sun-damaged skin: four case studies with dermatoscopic, confocal, and histopathologic correlation. **J Am Acad Dermatol** 2012; 66:463-73.

Zalaudek I, Marghoob AA, Scope A, et al. Three roots of melanoma. **Arch Dermatol** 2008; 144:1375-9.

Zegarska B, Pietkun K, Giemza-Kucharska P, Zegarski T, Nowacki MS, Romańska-Gocka K. Changes of Langerhans cells during skin ageing. **Postepy Dermatol Alergol** 2017; 34:260-7.

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



Comitê de Ética em
Pesquisa - CEP

São Paulo, 10 de janeiro de 2014.

A
Dra. Gisele Gargantini Rezze.

Aluna: Fernanda Berti Rocha Mendes (Mestrado).

Ref.: Projeto de Pesquisa nº. 1524/11E

“A determinação dos padrões de microscopia confocal in vivo nos nevos melanocíticos atípicos (displásicos) e comparação com a dermatoscopia 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 26/11/2013, **tomaram conhecimento e aprovaram** os seguintes documentos:

- Solicitação de dispensa da submissão da documentação obrigatória e análise ética do projeto acima mencionado por se tratar de um projeto afiliado ao temático intitulado “Determinação dos padrões da microscopia confocal in vivo nas lesões pigmentadas da pele e comparação com dermatoscopia e histopatologia em cortes transversais”, registrado neste CEP sob nº 1524/11. O projeto afiliado em referência será a dissertação de Mestrado da aluna *Fernanda Berti Rocha Mendes*.
- Projeto de Mestrado, datado de Julho de 2013.

Atenciosamente,



Prof. Dr. Luiz Paulo Kowalski
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

Apêndice 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido-TCLE

Consentimento para participação em protocolo de pesquisa A.C.Camargo Cancer Center-Núcleo de Câncer de Pele e Dermatologia

Titulo do estudo: **Características dermatoscópicas de lesões faciais pigmentadas isoladas como preditoras de melanoma**

Investigador Principal: **Gisele Gargantini Rezze**

Instituição: A.C.Camargo Cancer Center

Telefone: 2189-5000 ramal 5119 ou 5135

Email: oncologiacutanea@gmail.com

Investigador: Fernanda Berti Rocha Mendes

Instituição: A.C.Camargo Cancer Center

Telefone: 2189-5000 ramal 5119 ou 5135

Email: oncologiacutanea@gmail.com

Enfermeira Pesquisadora: **Luciana Facure Moredo**

Instituição: A.C.Camargo Cancer Center

Telefone: (11) 2189-5135

Email: luciana.moredo@accamargo.org.br

Introdução:

Você está sendo convidado a participar voluntariamente de uma pesquisa.

Este consentimento contém informações importantes para que você possa decidir se quer ou não participar do estudo. Se após a leitura você ainda permanecer com alguma dúvida, por favor, questione o investigador principal (Dra Gisele) ou outro responsável (Dra Fernanda) pela pesquisa (Enfa Luciana) antes da assinatura.

Objetivo:

O objetivo desta pesquisa é estudar as características dermatoscópicas do melanoma da face e de lesões que simulem o melanoma. Este estudo também irá avaliar a significância das lesões isoladas pigmentadas da face, bem como o quanto estas lesões podem parecer um melanoma.

Dermatoscopia é uma técnica de imagem usada para visualizar estruturas abaixo da camada superficial da pele. Através dela é possível identificar tanto as características das manchas escuras (marrons, pretas) como não pigmentadas que as tornam suspeitas para diferentes tipos de câncer. Baseado em critérios dermatoscópicos bem definidos, várias abordagens têm sido utilizadas para ajudar a distinguir lesões benignas das malignas. Portanto um dos objetivos deste estudo também baseia-se na correlação das características dermatoscópicas das lesões suspeitas de câncer com o diagnóstico histopatológico.

Você está sendo convidado a participar deste estudo por ter lesão na face suspeita de câncer de pele e que requer biópsia, ou porque tem uma mancha escura isolada na face que não é suspeita de câncer.

Pacientes elegíveis são aqueles maiores de 18 anos e com mancha ou pinta escura na face suspeita de câncer e que será submetido à biópsia. Paciente também será elegível se tiver lesão benigna pigmentada na face e não necessitar biópsia.

Número de participantes

Estima-se que 100 pessoas sejam recrutadas para este estudo.

Duração da pesquisa

Este estudo terá duração aproximada para inclusão de pacientes de 6 meses. Depois da sua visita de hoje não haverá mais a necessidade de comparecer para visitas adicionais relacionadas especificamente a esta pesquisa.

Procedimentos da pesquisa

Sua pele será examinada em consultas- padrão, de rotina.

Se você tiver lesões faciais melanocíticas ou pigmentadas não melanocíticas que sejam suspeitas de malignidade (do ponto de vista dermatoscópico ou clínico) estas lesões serão biopsiadas, como padronizado pelo hospital (você assinará um outro termo de consentimento para este procedimento).

Então, as seguintes informações serão registradas: idade, sexo, raça, tipo de pele, tamanho e localização da lesão facial pigmentada, história pessoal e/ou familiar de melanoma, se a sua lesão está apresentando mudança, sua percepção em relação à lesão, características dermatoscópicas da lesão, e diagnóstico clínico da lesão. Fotos clínicas e dermatoscópicas da lesão também serão tiradas.

Seu nome será mantido no banco de dados até que obtenhamos o resultado do exame anatomopatológico. No momento em que o resultado da biópsia for inserido no banco de dados os seu nome será retirado.

Se a sua lesão não for suspeita de malignidade e, portanto, não necessitar de biópsia, as seguintes informações serão colhidas:

- 1) dados demográficos (idade, sexo, raça, tipo de pele);
- 2) localização anatômica das lesões;
- 3) diagnóstico clínico benigno;
- 4) características dermatoscópicas.

Riscos

Você será tratado da maneira padronizada pela instituição/ departamento de oncologia cutânea para lesões faciais pigmentadas.

Riscos como sangramento, infecção da ferida operatória e dificuldade de cicatrização estão envolvidos no procedimento padrão da biópsia e, portanto, estão descritos em consentimento específico da cirurgia ambulatorial.

Benefícios

De modo geral pesquisas são feitas em benefício da sociedade através do ganho de conhecimento. Esta pesquisa beneficiará outros pacientes no futuro.

Custos

Não há custos para participar desta pesquisa.

Retirada de Consentimento

A sua participação neste estudo é voluntária.

Você pode não aceitar participar desta pesquisa ou, se aceitar, pode solicitar para sair a qualquer momento. Esta decisão deverá ser comunicada ao médico responsável pela pesquisa e não afetará o seu tratamento.

O médico responsável pelo estudo também poderá solicitar a sua retirada do estudo a qualquer momento, o que também não afetará o seu tratamento na instituição.

Confidencialidade

Seus dados serão manipulados apenas pelo grupo de pesquisadores envolvidos nesta pesquisa. Os dados do trabalho deverão se tornar públicos, porém nenhum paciente será identificado.

Dúvidas:

Em caso de dúvidas, por favor tente esclarecê-las antes de assinar o consentimento. Ou questione o seu médico (**Dra Gisele Rezze, Dra Fernanda**) ou outro membro da equipe de pesquisa (**Enf. Luciana**) no momento da consulta no departamento de Oncologia Cutânea ou pelo telefone: (11) 2189-5135 das 07:30 às 11:30hs. Ou entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do A.C.Camargo Cancer Center pelo telefone: 2189-5020 das 8:00 às 17:00h.

Autorização

Para autorizar a sua participação neste estudo você deverá assinar este termo. Isto nos permitirá coletar e analisar suas informações. Sua autorização não tem um prazo de validade e suas informações serão mantidas pelo investigador por pelo menos 6 anos. Se decidir retirar sua autorização para a pesquisa favor comunicar a Dra Gisele Rezze, a Dra Fernanda, a Enf. Luciana.

() concordo que li e entendi a pesquisa que será realizada

() concordo em participar

Nome do paciente em letra legível

Assinatura do paciente

data

Nome do investigador principal

Assinatura do Investigador

data

Apêndice 2 – Resultados da dermatoscopia.

Tabela 14 - Frequência dos critérios dermatoscópicos observados nas lesões melanocíticas.

Variável	Número (n)	Frequência (%)
Glóbulos e pontos azul-acinzentados	52	49,5
Aberturas foliculares marrom- acinzentada	78	74,3
Estruturas romboidais	40	38,1
Círculo dentro de círculo	45	42,9
Hiperpigmentação perifolicular irregular	84	80,0
Áreas escuras sem estruturas sombreando as aberturas foliculares	30	28,6
Crisálidas	11	10,5
Véu azul-esbranquiçado	1	1,0

Tabela 15 - Frequência dos critérios dermatoscópicos observados nos melanomas.

Variável	Número (n)	Frequência (%)
Glóbulos e pontos azul-acinzentados	40	76,92
Aberturas foliculares marrom-acinzentada	52	100,00
Estruturas romboidais	30	57,69
Círculo dentro de círculo	38	73,08
Hiperpigmentação perifolicular irregular	51	98,08
Áreas escuras sem estruturas sombreando as aberturas foliculares	19	36,54
Crisálidas	4	7,59
Véu azul-esbranquiçado	1	1,92