

**DETERMINAÇÃO DOS PADRÕES DA MICROSCOPIA
CONFOCAL *IN VIVO* DOS CARCINOMAS
BASOCELULARES PIGMENTADOS E COMPARAÇÃO
COM A DERMATOSCOPIA E HISTOPATOLOGIA EM
CORTES PERPENDICULARES E TRANSVERSAIS**

JULIANA ARÊAS DE SOUZA LIMA BELTRAME FERREIRA

**Dissertação apresentada à Fundação Antônio
Prudente para obtenção do título de mestre em
Ciências**

Área de concentração: Oncologia

Orientadora: Dra. Gisele Gargantini Rezze

**Co-Orientadora: Dra. Maria Dirlei Ferreira de
Souza Begnami**

São Paulo

2013

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da Fundação Antônio Prudente

Ferreira, Juliana Arêas de Souza Lima Beltrame

Determinação dos padrões da microscopia confocal *in vivo* dos carcinomas basocelulares pigmentados e comparação com a dermatoscopia e histopatologia em cortes perpendiculares e transversais / Juliana Arêas de Souza Lima Beltrame Ferreira – São Paulo, 2013.

55p.

Dissertação (Mestrado)-Fundação Antônio Prudente.

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

Orientadora: Gisele Gargantini Rezze

Descritores: 1. DERMATOSCOPIA. 2. MICROSCOPIA CONFOCAL. 3. CARCINOMA BASOCELULAR.

DEDICATÓRIA

A Deus

Aos meus pais Irineu e Lenita

Ao meu esposo Daniel

À minha filha Beatriz

Ao meu irmão Irineu Júnior

“Obrigada por fazerem parte da minha vida”

AGRADECIMENTOS

A Deus

“Agradeço por cuidar de mim com tanto amor e estar sempre ao meu lado”

Aos meus pais Irineu e Lenita

“Meus exemplos de dedicação, retidão, bondade e fé. Bases da minha educação, que cuidaram com carinho do meu crescimento pessoal e profissional. Agradeço pelo amor, apoio e cuidado comigo e com minha filha. Não teria conseguido terminar esse trabalho sem vocês.”

Ao meu amado esposo Daniel

“Agradeço pelo amor, companheirismo, incentivo, apoio e suporte emocional, além das concessões e sacrifícios. Agradeço pelo cuidado comigo e com nossa filha no decorrer desse trabalho.”

À minha filha Beatriz

“Por me ensinar o que é o amor incondicional.”

Ao meu irmão Irineu Júnior

“Meu amigo, companheiro, meu exemplo de idoneidade. Agradeço o incentivo e apoio no decorrer desse projeto.”

A toda minha família

“Pelas orações e torcida”.

À Professora Dra. Gisele Gargantini Rezze

“Um exemplo de amor à profissão e à pesquisa, transmite aos seus alunos motivação, inspiração, alegria, força e garra. Agradeço pela confiança desde o início da minha carreira, pela oportunidade, compreensão, amizade e todos os ensinamentos transmitidos.”

À Dra. Maria Dirlei Ferreira de Souza Begnami, à Dra. Mariana Petaccia e ao Departamento de Anatomia Patológica do A.C. Camargo Cancer Center

“Agradeço pela colaboração na realização desse projeto.”

Ao Dr. João Pedreira Duprat

“Agradeço pela confiança em meu trabalho.”

Ao Severino

“Agradeço por confeccionar as lâminas sempre com alegria.”

À querida amiga Juliana Casagrande

“Agradeço por estar sempre ao meu lado, por me ajudar em todas as etapas desse trabalho e por compartilhar sua vida e família comigo.”

À querida amiga Juliana Machado

“Agradeço pelo incentivo, companheirismo, ajuda e amizade verdadeira.”

À Suely Francisco e à Ana Paula

“Pela ajuda na formatação final da dissertação”

A todos os meus colegas do Núcleo do Câncer de Pele e Dermatologia do A.C.Camargo Cancer Center Marco Antônio de Oliveira, Adriana Mendes, Bianca Costa S. Sá, Elimar Gomes, Ivana Lameiras, Eduard Brechtbühl, Fernando Parro, Marcelo Inada, Mariane Campagnari, André Molina, Débora Castanheira, Eduardo Bertolli, Tatiana Blumetti, Cristiano Horta e Fernanda Berti pelo apoio profissional e pela ajuda imprescindível para a realização dessa pesquisa.

Aos amigos do mestrado Adriana, Thais, Raquel e Diego pela ajuda na realização desse projeto.

À equipe do centro cirúrgico ambulatorial do A.C. Camargo Cancer Center, Gilmar, Sabrina, Arthur, Cecília, Quitéria e Marcos pela ajuda na realização dessa pesquisa.

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

Ao Dr. Fernando Duarte pelo apoio e compreensão durante o período de realização deste trabalho.

Às pessoas que direta ou indiretamente auxiliaram o desenvolvimento e conclusão deste trabalho.

RESUMO

Ferreira JASLB. **Determinação dos padrões da microscopia confocal *in vivo* dos carcinomas basocelulares pigmentados e comparação com a dermatoscopia e histopatologia em cortes perpendiculares e transversais.** São Paulo, 2013. [Dissertação de Mestrado Fundação Antônio Prudente].

Introdução: O carcinoma basocelular (CBC) pigmentado muitas vezes se assemelha ao melanoma cutâneo por apresentar pigmentação assimétrica e padrão de crescimento irregular. Nessas situações, são necessários métodos diagnósticos auxiliares como a dermatoscopia, a histopatologia e, mais recentemente, a Microscopia Confocal (RCM) *in vivo*. A RCM é um método não invasivo, em tempo real, que fornece imagens instantâneas e permite visualizar estruturas microanatômicas no plano paralelo à pele, diferentemente dos cortes histológicos convencionais. Sua interpretação baseia-se na morfologia celular e no reconhecimento de padrões, ainda em estudo, associados aos achados dermatoscópicos e histopatológicos.

Objetivos: Descrever os achados celulares dos CBCs pigmentados observados no exame de RCM, estabelecer os padrões diagnósticos desta técnica para essas lesões e correlacionar tais achados com as características dermatoscópicas e histopatológicas. **Material e métodos:** Foram selecionadas 34 lesões sugestivas de CBC pigmentado. Os pacientes participantes foram recrutados no Núcleo de Câncer de Pele e Dermatologia do A.C.Camargo Cancer Center no período de junho de 2011 a julho de 2012. Todos os pacientes foram avaliados quanto ao sexo, idade, cor da pele e localização anatômica da lesão. Após a suspeita diagnóstica de CBC, realizou-se a dermatoscopia e a RCM da lesão e somente uma área contendo uma característica dermatoscópica de interesse foi selecionada para o estudo histopatológico em cortes perpendiculares e transversais. Para a descrição da RCM foram utilizados termos previamente estabelecidos

no Consenso de Terminologia da Microscopia Confocal. A metodologia utilizada para realização dos cortes perpendiculares e transversais foi baseada no método de Headington. **Resultados:** As características dermatoscópicas como área em folha, área em raio de roda, grandes ninhos ovóides azul-acinzentados e múltiplos glóbulos azul-acinzentados correlacionaram-se na RCM às ilhas de células tumorais com células dendríticas de formato e tamanhos variados. As telangiectasias arboriformes da dermatoscopia se correlacionaram aos vasos ramificados horizontais e calibrosos da RCM. **Conclusão:** Foram definidos os padrões do CBC pigmentado na RCM *in vivo*. Também foi possível correlacionar os achados celulares encontrados nas RCM com as estruturas dermatoscópicas e histopatológicas.

SUMMARY

Ferreira JASLB. [**Determination of confocal microscopy patterns *in vivo* in pigmented basal cell carcinomas and comparison with dermoscopy and histopathology in perpendicular and cross sections**]. São Paulo; 2013. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antônio Prudente].

Introduction: Pigmented Basal cell carcinoma (BCC) often resembles melanoma skin by presenting asymmetrical pigmentation and irregular growth pattern. In these situations, auxiliary diagnostic methods are needed such as dermoscopy, histopathology and, more recently, confocal microscopy *in vivo* (RCM). RCM is a non invasive method which provides real-time instant imagens and allows visualizing the microanatomic structures parallel to the skin, differently from conventional sections. Its interpretation is based on the morphology cell and on pattern identification associated with dermatoscopy and histopathology findings. **Objectives:** Describe BCC structure cells observed in RCM, establish diagnostic methods for each and match such findings with dermatoscopy and histopathology features. **Material and Methods:** We selected 34 lesions suggestive of pigmented BCC. Patients were recruited from the Skin Cancer Division of A.C.Camargo Cancer Center from June 2011 to July 2012. All patients were analysed as for their sex, age, skin type and anatomical location of the lesion. After the diagnosis of BCC was held dermoscopy and RCM of the lesion and only an area containing a characteristic dermoscopic of interest was selected for histopathological study. For the RCM *in vivo* description we use the Confocal Microscopy Terminology established on Confocal Microscopy Terminology Consensus. For the histopathological study we used the Headington method. **Results:** The characteristics such as mapleleaf like area, spoke-wheels area, large blue-gray ovoid nests and multiple blue-gray globules correlated in the RCM to the islands of tumor cells with dendritic cells of different shapes and sizes. Arborizing telangiectasias are correlated with branched and horizontal vessels in RCM. **Conclusion:** The pigmented BCC were defined in confocal microscopy. It was also possible to correlate the cells findings in the confocal microscopy with dermatoscopic and histopathological structures.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fotos dermatoscópicas dos critérios clássicos dos CBCs.....	5
Figura 2	Correlação entre RCM e histopatologia na pele normal.....	10
Figura 3	Alguns achados da RCM no CBC.....	12
Figura 4	VivaScope 1500.....	23
Figura 5	Método de Headington.....	27
Figura 6	Características dos CBCs pigmentados na RMC <i>in vivo</i>	31
Figura 7	Correlação entre área em folha na dermatoscopia, RCM e histopatologia.....	37
Figura 8	Correlação entre área em raio de roda na dermatoscopia, RCM e histopatologia.....	38
Figura 9	Correlação entre ninhos ovóides azul-acinzentados na dermatoscopia, RCM e histopatologia.....	40
Figura 10	Correlação entre múltiplos glóbulos azul-acinzentados na dermatoscopia, RCM e histopatologia.....	42
Figura 11	Correlação entre as telangiectasias arboriformes na dermatoscopia, e RCM.....	44
Figura 12	Caso 4: Carcinoma epidermóide <i>in situ</i> pigmentado/ doença de Bowen.....	47

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1	Classificação em relação ao sexo.....	28
Tabela 2	Classificação em relação à raça.....	29
Tabela 3	Classificação em relação à localização anatômica.....	29
Tabela 4	Características dermatoscópicas analisadas.....	30
Tabela 5	Características dos CBCs pigmentados na RCM.....	32
Tabela 6	Características histopatológicas encontradas nos cortes perpendiculares.....	33
Tabela 7	Características histopatológicas encontradas nos cortes transversais.....	34
Quadro 1	Características dermatoscópicas do CBC.....	4
Quadro 2	Características da pele normal na microscopia confocal (RCM).....	9
Quadro 3	Achados do CBC na RCM.....	11
Quadro 4	Correlação entre a Dermatoscopia, Microscopia Confocal e Histopatologia nos CBCs pigmentados.....	48

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Definição.....	1
1.2	Dermatoscopia	2
1.2.1	Características dermatoscópicas dos carcinomas basocelulares.....	3
1.3	Limitações da Dermatoscopia e Importância da Microscopia Confocal <i>In Vivo</i> (RCM)	6
1.4	Microscopia Confocal (RCM).....	7
1.4.1	Microscopia Confocal da pele normal.....	8
1.4.2	Microscopia Confocal dos Carcinomas Basocelulares	10
1.5	Características Dermatoscópicas, da Microscopia Confocal e Histologia em Cortes Perpendiculares e Transversais nos Carcinomas Basocelulares	13
2	JUSTIFICATIVA.....	16
3	OBJETIVOS	17
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	18
4.1	Material.....	18
4.1.1	Tipo de Estudo	18
4.1.2	População de Estudo	18
4.2	Casuística.....	19
4.2.1	Critérios de Inclusão	19
4.2.2	Critérios de Exclusão.....	19
4.3	Métodos.....	19
4.3.1	Dermatoscopia e Microscopia Confocal	19
4.3.2	Exame dermatoscópico	20
4.3.3	Realização do exame de Microscopia Confocal e princípios físicos.....	20
4.3.4	Exame histopatológico	25

4.3.5	Análise dos dados	27
5	RESULTADOS.....	28
5.1	Características dos CBCs Pigmentados na Microscopia Confocal <i>In Vivo</i>	30
5.2	Características dos CBCs Pigmentados nos Cortes Histológicos	32
6	DISCUSSÃO	35
7	CONCLUSÕES	49
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

ANEXOS

Anexo 1 Termo de informação e consentimento livre e esclarecido

Anexo 2 Carta de aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa (CEP)

Anexo 3 Protocolo da Microscopia Confocal

Anexo 4 Protocolo da Histopatologia

Anexo 5 Tabela geral descritiva das características dermatoscópicas, da Microscopia Confocal e da Histopatologia

1 INTRODUÇÃO

1.1 DEFINIÇÃO

O Carcinoma Basocelular (CBC) é o câncer cutâneo mais comum na população branca, atingindo principalmente caucasianos. Sua incidência vem crescendo no mundo, estima-se que esse aumento seja de aproximadamente 60 % nas últimas três décadas. É um tumor de crescimento lento que raramente origina metástases. Sua morbidade resulta de invasão e destruição de tecidos locais (THISSEN et al. 1999; CEILLEY et al. 2006; TELFER et al. 2008).

Os fatores etiológicos mais importantes são a predisposição genética e a exposição à radiação ultravioleta. As áreas foto expostas como cabeça e pescoço são os locais mais acometidos. Os fatores de risco para desenvolvimento do CBC incluem: exposição solar na infância, pacientes com pele clara, imunossupressão, exposição a arsênico e exposição a bronzeamento artificial (THISSEN et al. 1999; CEILLEY et al. 2006; TELFER et al. 2008).

Aproximadamente 7% dos CBCs são pigmentados. Clinicamente essa variante do CBC se apresenta como uma placa, pápula ou nódulo, que pode estar ulcerado, com variável pigmentação melânica. Desse modo, um importante diagnóstico diferencial clínico do melanoma cutâneo (neoplasia cutânea que apresenta comportamento agressivo) se dá pela apresentação

de pigmentação assimétrica e padrão de crescimento irregular (MALONEY et al. 1992; BETTI et al. 1997, MENZIES et al. 2000; MENZIES 2002).

Algumas lesões pigmentadas da pele muitas vezes não são diagnosticadas por suas características clínicas, mesmo por um profissional experiente. Dessa forma, critérios adicionais são necessários para o seu diagnóstico com maior acurácia (DAL POZZO et al. 1999; SOYER et al. 2001). Nas últimas décadas houve disseminação de uma técnica de baixo custo e não invasiva para realização do diagnóstico precoce das lesões pigmentadas, a dermatoscopia (ARGENZIANO et al. 2003).

A dermatoscopia dos CBCs apresenta características bem definidas, que podem auxiliar no diagnóstico do CBC pigmentado. No entanto, a histologia ainda é necessária para confirmar o diagnóstico de CBC (MENZIES et al. 2000). Recentemente, a Microscopia Confocal *in vivo* (RCM) tem propiciado aumento na acurácia do diagnóstico dos CBCs pigmentados, particularmente quando usada como complemento da dermatoscopia na avaliação de lesões suspeitas (WURM et al. 2012).

1.2 DERMATOSCOPIA

A dermatoscopia, também chamada de microscopia de superfície, dermoscopia ou ainda, microscopia de epiluminescência, é um método não invasivo, *in vivo*, que permite a visualização de características morfológicas não vistas a olho nu, apresentando como principal indicação o estabelecimento do diagnóstico das lesões pigmentadas da pele. Utiliza uma

lente de magnificação de 10 a 20 vezes que permite uma acurácia diagnóstica de até 90% (PELLACANI et al. 2008; SENEL 2011).

As estruturas dermatoscópicas e as cores associadas à sua distribuição oferecem ajuda na diferenciação entre as lesões melanocíticas e não melanocíticas, além da diferenciação entre as lesões melanocíticas malignas e benignas (MALVEHY et al. 2007).

O conhecimento das características dermatoscópicas é de fundamental importância, pois é utilizado nos modelos elaborados para o diagnóstico das lesões pigmentadas através do exame dermatoscópico. Os modelos diagnósticos propostos são utilizados de acordo com a preferência de cada profissional (REZZE et al. 2006a; REZZE et al. 2008).

1.2.1 Características dermatoscópicas dos Carcinomas Basocelulares (CBC)

As características dermatoscópicas foram primeiramente padronizadas pelo Consenso de Hamburgo de 1989 e no ano 2000 foram atualizadas pelo *Consensus Net Meeting on Dermoscopy* (ARGENZIANO et al. 2003). Estas características foram comparadas aos achados microscópicos em cortes histopatológicos habituais (perpendiculares à epiderme) em inúmeras publicações, gerando ocasional dificuldade de interpretação, pois as características vistas à Dermatoscopia são em um plano horizontal (YADAV et al. 1993; TABANLIOĞLU ONAN et al. 2010). Por esta razão, REZZE et al. (2006a) realizaram um trabalho que foi considerado pioneiro com o objetivo de correlacionar algumas das características

dermatoscópicas com os achados histopatológicos em cortes transversais em lesões de melanoma cutâneo, porém com uma tímida casuística (23 casos).

Em 2000, MENZIES et al. elaboraram um modelo diagnóstico dermatoscópico para o CBC pigmentado que mostrou sensibilidade de 97% e especificidade de 93%. Esse modelo se baseia em uma característica negativa e uma ou mais características positivas. A característica negativa é a ausência de rede pigmentar. Consideram-se positivas a presença de uma ou mais das seguintes características dermatoscópicas: áreas em folha, áreas em raio de roda, grandes ninhos ovóides azul-acinzentados, múltiplos glóbulos azul-acinzentados, telangiectasias arboriformes e ulceração (MENZIES et al. 2000) (**Quadro 1 e Figura 1**).

Quadro 1 - Características dermatoscópicas do CBC

Característica negativa (não deve estar presente)
Rede pigmentar
Características positivas (pelo menos uma deve estar presente)
Áreas em folha Áreas em raio de roda Grandes ninhos ovóides azul-acinzentados Múltiplos glóbulos azul-acinzentados Telangiectasias arboriformes Ulceração

Fonte: Modificado de MENZIES et al. (2000)

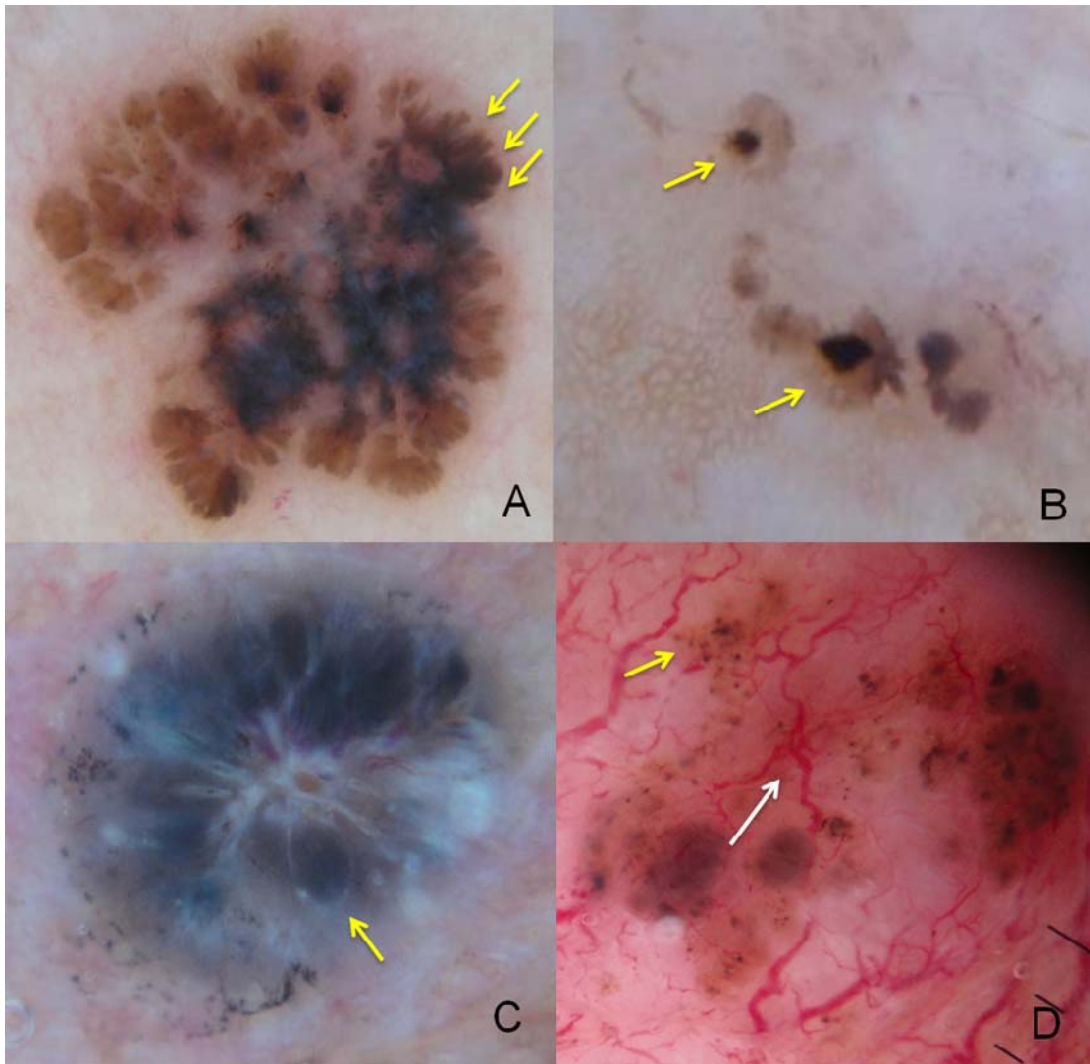


Figura 1 - Fotos dermatoscópicas dos critérios clássicos dos CBCs (10x). **A.** As setas amarelas evidenciam áreas em folha. **B.** As setas amarelas sinalizam áreas em raio de roda. **C.** A seta amarela mostra o grande ninho ovóide azul-acinzentado. **D.** A seta amarela aponta para os múltiplos glóbulos azul-acinzentados e a seta branca mostra telangiectasia arboriforme.

1.3 LIMITAÇÕES DA DERMATOSCOPIA E IMPORTÂNCIA DA MICROSCOPIA CONFOCAL *IN VIVO* (RCM)

A existência de limitações do exame dermatoscópico na realização do diagnóstico de lesões consideradas duvidosas levou à utilização da RCM como um método diagnóstico auxiliar não invasivo para o estudo *in vivo* de condições fisiológicas e patológicas da pele (GERGER et al. 2005; PELLACANI et al. 2005; BRAGA et al. 2009; GUITERA et al. 2009).

Em 2006, AGERO et al. observaram algumas características de RCM nos CBCs pigmentados, porém sua casuística era pequena (5 casos) e apenas histologicamente classificados como nodulares. Em 2011, CASARI et al. descreveram outras características de RCM nos CBCs pigmentados, contudo, eram apenas dois relatos de casos. Em 2012, GUITERA et al. descreveram um algoritmo para diagnóstico de CBC pigmentado e melanoma com uma boa casuística (119 CBCs), porém não abordaram particularidades dos diferentes tipos de CBCs, nem a correlação dos achados de RCM com a dermatoscopia e histologia. Assim, mais pesquisas poderão contribuir com novos conhecimentos para esta metodologia tão promissora (AGERO et al 2006; CASARI et al. 2011; GUITERA et al. 2012).

1.4 MICROSCOPIA CONFOCAL (RCM)

A RCM tem a finalidade de fornecer imagens instantâneas, em tempo real, de alta resolução, *in vivo*, permitindo a visualização das estruturas microanatômicas (células, núcleos e arquitetura tecidual) da pele em uma resolução próxima à histopatológica. As imagens obtidas por este método são em planos paralelos à pele, diferente dos cortes histológicos convencionais e, por esta razão, a correlação entre estes dois métodos é considerada um desafio (BUSAM et al. 2001; LANGLEY et al. 2001; SCOPE et al. 2007).

Tradicionalmente, os microscópios confocais que utilizam marcadores fluorescentes têm sido considerados ferramentas importantes no estudo dos processos biológicos celulares.

Atualmente, os microscópios confocais representam uma oportunidade única no exame não invasivo da pele sem a necessidade de utilização dos marcadores fluorescentes ou corantes teciduais. O contraste das imagens confocais ocorre devido às variações naturais do índice de refração das organelas e microestruturas nas diferentes camadas da pele. A ceratina epidérmica, por exemplo, apresenta diferentes índices de refração dependendo do estado de diferenciação do ceratinócito. Conforme a maturação do ceratinócito na epiderme, o peso molecular da ceratina dentro destes aumenta, tornando-os mais refringentes, assim aumentando seu índice de refração e resultando em uma imagem confocal mais brilhante com ceratinócitos bem definidos (RAJADHYAKSHA et al. 1995).

A pigmentação melânica na epiderme também tem um índice de refração alto, de fato, mais alto que o dos ceratinócitos. Clínica e dermatoscopicamente a melanina é vista como uma coloração preta ou marrom devido à absorção da luz visível. Quando iluminada pela luz infravermelha, a absorção é bem menor. Esta baixa absorção combinada ao seu alto índice de refração leva ao aumento da luz refletida e dispersada e, conseqüentemente, a melanina à RCM aparece como uma coloração branca e brilhante (RAJADHYAKSHA et al. 1999).

Com a RCM *in vivo* é possível a visualização não só dos ceratinócitos epidérmicos e dos melanócitos, mas também dos eritrócitos e leucócitos dos capilares da papila dérmica e bandas de colágeno na derme. A interpretação das imagens confocais baseia-se na morfologia celular e no reconhecimento de padrões, ainda em estudo, associados aos achados histopatológicos e dermatoscópicos (RAJADHYAKSHA et al. 1995).

1.4.1 Microscopia Confocal da pele normal

O estrato córneo consiste de células grandes (10 -30 μm), poligonais, brilhantes e anucleadas e apresenta fissuras e rugas de coloração escura (dermatóglifos). A camada granulosa se localiza 15 - 20 μm abaixo do estrato córneo e apresenta células brilhantes grandes (25 - 35 μm) com citoplasma granuloso e grande núcleo oval escuro. A camada espinhosa apresenta o padrão em "favo de mel" com células poligonais (10 - 25 μm) com núcleo escuro, citoplasma brilhante e se localiza 20 - 100 μm abaixo do estrato córneo. A camada suprapapilar (basal) é formada por células basais

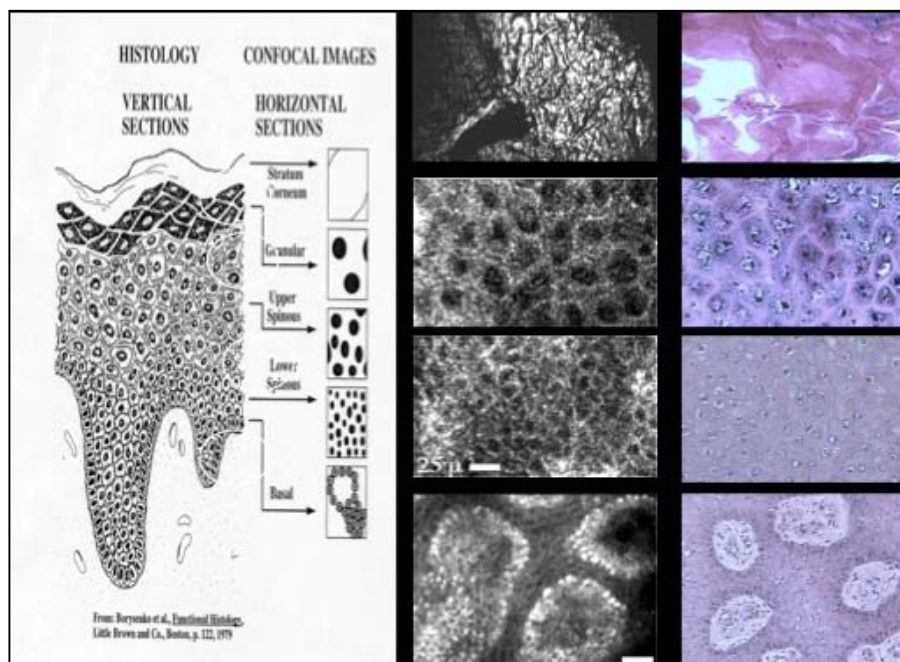
brilhantes contendo melanina e agrupadas na região do topo da papila configurando o padrão em "pedra de calçamento".

Na junção dermo-epidérmica, os melanócitos e os ceratinócitos basais (células pequenas de 7 - 12 μm) apresentam-se com formato redondo, formando anéis de células brilhantes ao redor de uma área escura (padrão riniforme). Esta área escura corresponde à derme papilar com vasos centrais (CALZAVARA-PINTON et al. 2008; NEHAL et al. 2008).

Na derme papilar há presença de fibras colágenas reticuladas ou em feixes e melanófagos ao redor de pequenos vasos. Os melanófagos apresentam-se como células grandes, globosas, com bordas definidas e brilhantes na derme superior (CALZAVARA-PINTON et al. 2008; NEHAL et al. 2008; MALVEHY et al. 2012) (**Quadro 2 e Figura 2**).

Quadro 2 - Características da pele normal na Microscopia Confocal (RCM)

1 – Camada epidérmica 1. Estrato córneo: presença de células grandes poligonais brilhantes anucleadas 2. Camada granulosa: células grandes brilhantes com citoplasma granuloso e núcleo oval escuro 3. Camada espinhosa: padrão em “favo de mel”; células poligonais com núcleo escuro e citoplasma brilhante 4. Camada basal: células basais brilhantes contendo melanina agrupadas no topo da papila formando o padrão em “pedra de calçamento”
2 – Junção dermo-epidérmica 1. Melanócitos e ceratinócitos basais pequenos e com formato redondo formando anéis de células brilhantes ao redor de uma área escura (padrão riniforme)
3 – Derme papilar 1. Fibras colágenas reticuladas ou em feixes 2. Melanófagos: células grandes e brilhantes com bordas bem definidas ao redor de pequenos vasos



Fonte: Modificado de MARGHOOB et al. (2003)

Figura 2 - Correlação entre RCM e histopatologia na pele normal.

1.4.2 Microscopia Confocal dos Carcinomas Basocelulares

Os achados descritos na literatura para o diagnóstico de CBC pela RCM são: pleomorfismo e desarranjo arquitetural da epiderme subjacente (indicativo de dano actínico ou decorrente da presença do tumor); ilhas de células tumorais refráteis com núcleos basalóides monomórficos alongados através da espessura da epiderme (estes núcleos são polarizados ao longo do mesmo eixo de orientação, rompendo o padrão normal em “favo de mel” da epiderme e a arquitetura da papila dérmica); vasculatura dérmica aumentada com vasos sanguíneos tortuosos e dilatados, podendo mostrar a movimentação/rolamento de leucócitos e sua adesão ao endotélio; infiltrado inflamatório proeminente entre as células tumorais e bandas de colágeno espessas e brilhantes próximas às ilhas tumorais (fibrose reacional) (GONZALEZ e TANNOUS 2002) (**Quadro 3** e **Figura 3**).

Um estudo retrospectivo multicêntrico com 83 lesões demonstrou que a presença de pelo menos dois destes critérios resultou em uma sensibilidade de 100% para o diagnóstico de CBC. Conforme o número de critérios era maior, a especificidade aumentava, de modo que, quando pelo menos quatro critérios estavam presentes a especificidade foi de 95,7%, apresentando a melhor concordância entre alta sensibilidade e alta especificidade. O critério isolado de maior sensibilidade e especificidade foi a presença de núcleos polarizados (91,6 e 97%, respectivamente). Estes resultados apresentaram pouca variação segundo a localização e subtipos de CBC (NORI et al. 2004).

Alguns outros achados foram associados aos CBCs na RCM, são eles: espaços escuros peritumorais ou fendas; presença de sombras ou silhuetas escuras; vasos sanguíneos lineares e horizontais e presença de células dendríticas e melanófagos (nos CBCs pigmentados) (CHARLES et al. 2002; AGERO et al. 2006; CASARI et al. 2011; GUITERA et al. 2012) (**Quadro 3 e Figura 3**).

Quadro 3 - Achados do CBC na RCM

- | |
|---|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. Orientação dos núcleos das células tumorais ao longo do mesmo eixo ("polarização") 2. Ilhas de células tumorais monomórficas com núcleos alongados 3. Pleomorfismo dos ceratinócitos com desarranjo da arquitetura epidérmica em "favo de mel" 4. Vasculatura aumentada com vasos sanguíneos dilatados e tortuosos ou lineares e horizontais e rolamento de leucócitos 5. Infiltrado inflamatório entre as células tumorais 6. Fendas peritumorais 7. Silhuetas escuras 8. Células dendríticas e melanófagos (nos CBCs pigmentados) |
|---|

Fonte: Modificado de GONZALEZ e TANNOUS (2002) e AGERO et al. (2006)

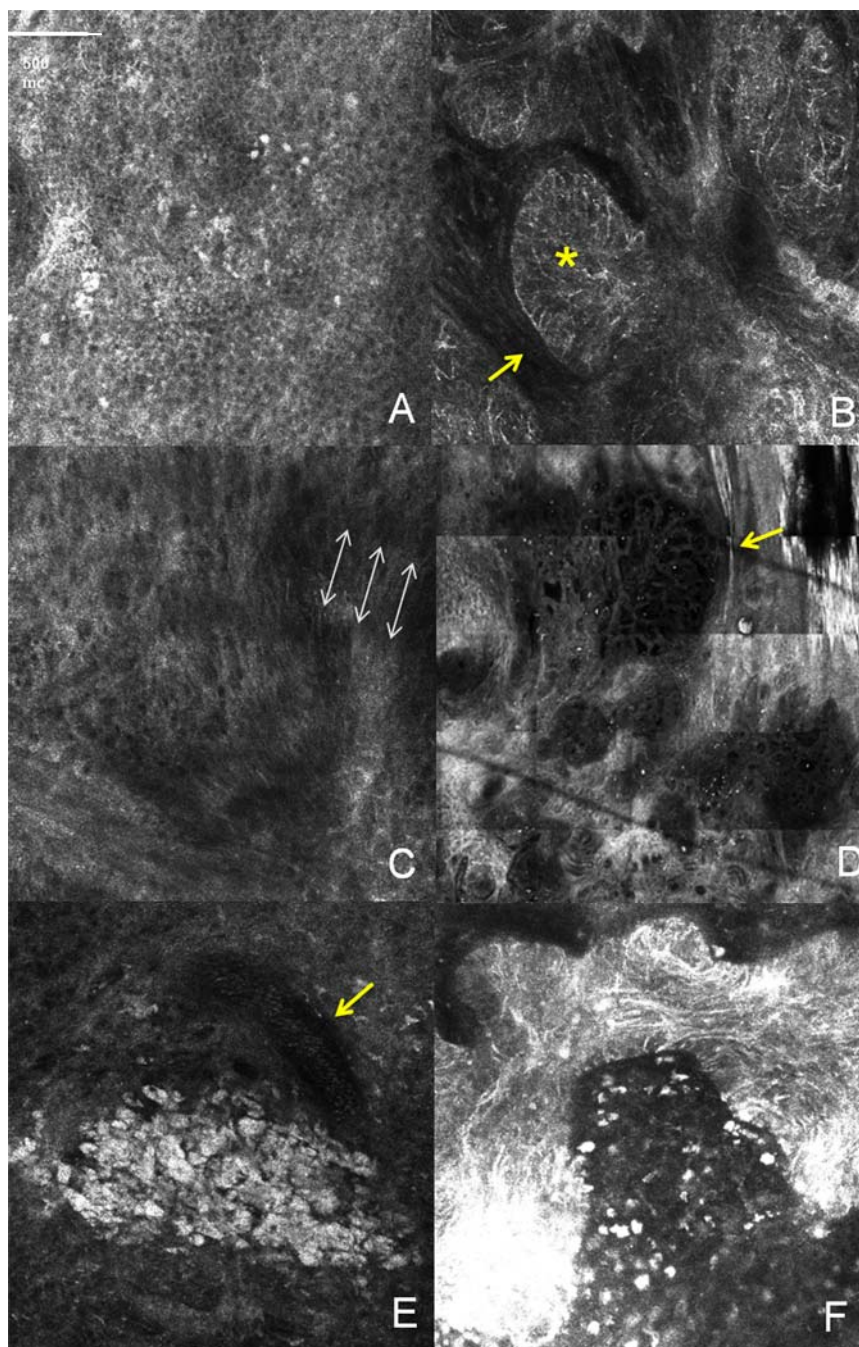


Figura 3 - Alguns achados da RCM no CBC. **A.** Padrão em “favo de mel” atípico, desarranjo da arquitetura epidérmica. **B.** Ilhas de células tumorais com paliçada na periferia (asterisco amarelo) e fenda peritumoral (seta amarela). **C.** Polarização (setas brancas mostram orientação dos núcleos ao longo do mesmo eixo). **D.** Silhueta escura (seta amarela). **E** Agregado de células globosas brilhantes (melanófagos) e um vaso calibroso (seta amarela). **F.** Ilhas de células tumorais com células dendríticas e infiltrado inflamatório.

1.5 CARACTERÍSTICAS DERMATOSCÓPICAS, DA MICROSCOPIA CONFOCAL E HISTOLOGIA EM CORTES PERPENDICULARES E TRANSVERSAIS NOS CARCINOMAS BASOCELULARES

Para a interpretação das imagens confocais é necessário um conhecimento profundo da dermatoscopia e seu significado histopatológico, pois os critérios descritos na RCM têm correspondência precisa com as características dermatoscópicas por se apresentarem no mesmo plano, o plano horizontal (PELLACANI et al. 2005).

Algumas características dermatoscópicas foram estudadas e correlacionadas com a histopatologia em cortes perpendiculares (TABANLIOĞLU ONAN et al. 2010). São elas:

- **Áreas de folha:** São ninhos tumorais multifocais conectados multifocalmente, uns aos outros através de extensões lobulares e à epiderme, localizados na derme papilar e raramente na derme reticular.
- **Áreas em raio de roda:** São ninhos de células tumorais multifocais que apresentam múltiplas conexões à epiderme por extensões digitiformes, localizados superficialmente na epiderme e/ou na derme papilar ou ninhos de células tumorais com extensões radiais na maioria das vezes localizadas na derme papilar.

- **Ninhos ovóides azul-acinzentados:** São ninhos tumorais bem delimitados, multifocais com alguns pequenos brotos na periferia. Esses ninhos tumorais, alguns dos quais originários da epiderme, contêm pigmentos agregados no interior e estão localizados na derme papilar ou reticular.
- **Múltiplos glóbulos azul-acinzentados:** São pequenos ninhos tumorais arredondados com pigmento no interior e/ou no estroma tumoral, localizados na derme papilar e/ou reticular.
- **Telangiectasias arboriformes:** Vasos dilatados dispersos na derme.
- **Ulceração:** Perda superficial da epiderme.

Existem poucos trabalhos publicados na literatura médica internacional que comparam as características dermatoscópicas com os achados da RCM dos CBCs pigmentados e a histopatologia em cortes perpendiculares.

Recentemente houve a publicação de quatro casos clínicos envolvendo lesões de face suspeitas em pele severamente danificada pelo sol, na qual a RCM mostrou-se útil como adjuvante na acurácia e precisão do diagnóstico na lesão suspeita. Os autores correlacionaram as características observadas na RCM com as características dermatoscópicas e histopatológicas das lesões. Um dos casos citados tratava-se de uma

lesão com características clínicas e dermatoscópicas sugestivas de queratose seborréica, porém a pigmentação assimétrica das aberturas foliculares levou a realização de RCM na lesão que mostrou, na junção dermo-epidérmica, estruturas semelhantes a cordões com paliçadas na periferia e fendas. A histopatologia confirmou o diagnóstico de CBC (WURM et al. 2012).

CHARLES et al. descreveram em 2002 uma lesão pigmentada irregular com diagnóstico dermatoscópico de CBC pigmentado (com ausência de rede pigmentar e áreas em folha) que foi submetida à RCM para avaliação e posterior correlação com a histopatologia. Os achados da RCM foram semelhantes aos histopatológicos, com ilhas tumorais e melanófagos de permeio.

Não existem relatos da comparação entre as características dermatoscópicas, a RCM e os achados histopatológicos em cortes transversais (mesmo plano da dermatoscopia e RCM) nos CBCs pigmentados, como proposto neste estudo.

2 JUSTIFICATIVA

A comparação entre a RCM *in vivo*, a histopatologia em cortes transversais e a dermatoscopia poderá trazer novos conhecimentos em relação aos CBCs pigmentados, favorecendo o diagnóstico de lesões que são extremamente duvidosas à dermatoscopia e também contribuirá na determinação dos padrões diagnósticos que atualmente estão sendo estudados.

Este projeto tem por meta estudar as bases da RCM dos CBCs pigmentados baseado nas características dermatoscópicas já padronizadas e amplamente utilizadas e nos achados histopatológicos em cortes transversais.

3 OBJETIVOS

1. Descrever os achados celulares e arquiteturais dos CBCs pigmentados observados no exame de RCM *in vivo* e estabelecer os padrões diagnósticos para cada lesão;
2. Correlacionar os achados da RCM *in vivo* com as características dermatoscópicas encontradas nos CBCs pigmentados e com os achados histopatológicos em cortes perpendiculares e transversais.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Tipo de Estudo

Trata-se de um estudo prospectivo, observacional e não aleatório.

4.1.2 População de Estudo

Os participantes deste estudo prospectivo foram recrutados durante a consulta médica realizada no ambulatório do Núcleo de Câncer de Pele e Dermatologia do A.C.Camargo Cancer Center, São Paulo, durante o período de junho de 2011 até julho de 2012. Após o consentimento pós-informado assinado (**Anexo 1**), as informações referentes aos pacientes foram registradas em um protocolo preenchido durante a consulta médica. Foram incluídos a identificação, os dados demográficos, os antecedentes pessoais e informações relativas à história clínica.

Foram incluídos CBCs pigmentados de paciente submetidos aos exames clínico, dermatoscópico, de RCM e histopatológico das lesões.

4.2 CASUÍSTICA

Esperava-se um total de 30 casos de CBCs pigmentados. Foram obtidos 33 CBCs pigmentados e 1 carcinoma epidermóide *in situ*/doença de Bowen, pigmentado que foi incluído pois a dermatoscopia e a RCM eram sugestivas de CBC pigmentado.

4.2.1 Critérios de Inclusão

- 1 Lesões com diagnóstico clínico e dermatoscópico de CBC pigmentado.
- 2 Os casos em que os pacientes concordaram com o estudo e assinaram o termo de consentimento pós-informado (**Anexos 1 e 2**);

4.2.2 Critérios de Exclusão

- 1 Pacientes que não desejaram participar da pesquisa;
- 2 As lesões em região do couro cabeludo (região de difícil acesso para a dermatoscopia e RCM).

4.3 MÉTODOS

4.3.1 Dermatoscopia e microscopia confocal

Após a coleta dos dados iniciais, o paciente foi submetido ao exame clínico, dermatoscópico e de RCM. O exame dermatoscópico e o exame de

RCM *in vivo* foram realizados nas lesões selecionadas utilizando-se câmera digital Sony® Cyber Shot DSC-W290 12.1 MP acoplado ao dermatoscópio DermLite II Pro HR (DermLite®) com uso do adaptador (DermLite® II/III adapters) e o VivaScope® 1500 e VivaCam® Dermoscope (Lucid-Tech, Rochester, New York, EUA), respectivamente.

4.3.2 Exame dermatoscópico

Durante o exame dermatoscópico, foram selecionadas as áreas contendo os critérios dermatoscópicos de interesse para serem analisadas nos cortes perpendiculares e transversais, como descrito por REZZE et al. (2006b). Foram avaliadas as seguintes estruturas dermatoscópicas do CBC: áreas em folha, áreas em raio de roda, grandes ninhos ovóides azul-acinzentados, múltiplos glóbulos azul-acinzentados e telangiectasias arboriformes (MENZIES et al. 2000 e **Quadro 1**).

4.3.3 Realização do exame de RCM e princípios físicos

Para a realização do exame, seleciona-se a lesão cutânea de interesse e sobre ela é aplicado um anel metálico acoplado a um disco adesivo com o centro transparente utilizando-se um óleo na interface entre o anel e a pele.

O microscópio confocal possui um braço articulado que permite um melhor encaixe ao anel metálico e 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 melhor qualidade de imagem.

O índice de refração da epiderme é de aproximadamente 1.375 e do estrato córneo é próximo de 1.470. A melanina tem um índice de refração por volta de 1.700. Para obter imagens de qualidade, é necessária a utilização de um fluido de contato com índice de refração entre 1.330 e 1.500. Assim, pode ser utilizado água ou gel de ultrassom (RAJADHYAKSHA et al. 1999).

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 pequena área da lesão de interesse e é refletida e dispersada devido às variações no índice de refração de organelas e estruturas teciduais e devido aos elementos teciduais com o mesmo comprimento de onda da fonte de luz, resultando no contraste das imagens confocais (imagens em preto e branco).

Utilizando-se o comprimento de luz de 830nm, os melanossomos e a melanina produzem intensa refração e dispersão. Assim, os melanócitos e os ceratinócitos basais, que são ricos em melanina e melanossomos, se apresentam extremamente brilhantes (NEHAL et al. 2008).

As imagens obtidas com o microscópio confocal permitem a visualização de detalhes celulares das diferentes camadas da pele no plano horizontal com resolução lateral de 0,5 a 1,0 μm e resolução axial entre 1 e 5 μm (espessura da secção óptica) e uma profundidade máxima de 300 a 400 μm (derme papilar) (MARGHOOB et al. 2003; RAJADHYAKSHA et al. 2009).

Após passar pela lente objetiva, a luz incide sobre a área de interesse e é refletida e dispersada. A luz refletida e dispersada atravessa novamente

a lente objetiva e alcança a abertura seletiva (*pinhole*) que impede a passagem da luz fora do foco (*out of focus*). A confocalidade do microscópio é proveniente basicamente do diâmetro da abertura seletiva (*pinhole*) que determina a resolução axial. Quanto menor a abertura, maior é a qualidade da imagem (RAJADHYAKSHA et al. 2009).

O microscópio confocal disponível para comercialização é produzido pela Lucid-Tech, em Rochester, NY, EUA. O microscópio confocal Vivascope 1500® utiliza uma lente objetiva de imersão em água (índice de refração da água é semelhante ao índice de refração da epiderme, resultando em menor dispersão) com aumento de 30 vezes, abertura de 0,9NA. Sua imagem tem campo de visão de 0,5 x 0,5 mm. A imagem de todo o campo pode ser capturada e armazenada. Os campos são capturados em sequência formando uma imagem total (mosaico) com área de 4 x 4 mm (magnificação aproximadamente de 4 vezes). Atualmente, este equipamento produz mosaicos com campos de visão de 8 x 8 mm (magnificação aproximadamente de 2 vezes) (NEHAL et al. 2008).



Figura 4 - VivaScope 1500

O microscópio confocal também pode produzir imagens verticais (*Z stacks*) com a captura de 16 imagens desde a superfície até a profundidade de 200 μm . Com a utilização de um *software*, as imagens verticais podem

ser animadas simulando imagens em tempo real *in vivo* (RAJADHYAKSHA et al. 2009).

O exame de RCM foi baseado na utilização de um protocolo com a descrição de todas as características encontradas na lesão de interesse e na área de interesse. Foram utilizados termos previamente estabelecidos pelo consenso de Terminologia da Microscopia Confocal (PELLACANI et al. 2009), além de descrições de outras literaturas sobre o assunto (GONZALEZ e TANNOUS 2002; CHARLES et al. 2002; NORI et al. 2004; AGERO et al. 2006; CASARI et al. 2011; WURM et al. 2012; GUITERA e al. 2012; MALVEHY et al. 2012) (**Anexo 3**).

Foi realizado o armazenamento das imagens em 6 diferentes níveis da epiderme: camada córnea/granulosa, espinhosa, suprabasal, junção dermo-epidérmica, derme papilar e início da derme reticular.

Os CBCs pigmentados foram avaliados quanto à presença das seguintes características na RCM:

A. EPIDERME: (1) adelgaçamento de epiderme; (2) números *stacks* até sumir epiderme; (3) padrão favo de mel típico; (4) padrão favo de mel atípico; (5) padrão “pedra de calçamento” típico; (6) padrão “pedra de calçamento” atípico; (7) padrão “pedra de calçamento” ausente e (8) polarização.

B. JUNÇÃO DERMO-EPIDÉRMICA: (1) papila demarcada; (2) papila não demarcada; (3) ausência de papila e (4) presença de células em paliçada.

C. **DERME:** (1) células dendríticas; (2) ilhas tumorais; (3) silhuetas escuras; (4) fendas; (5) pontos brilhantes e pequenas células brilhantes (infiltrado inflamatório); (6) células globosas brilhantes esparsas; (7) células globosas brilhantes agregadas; (8) estruturas de colágeno (fibras reticuladas ou em feixes) e (9) vasos.

4.3.4 Exame histopatológico

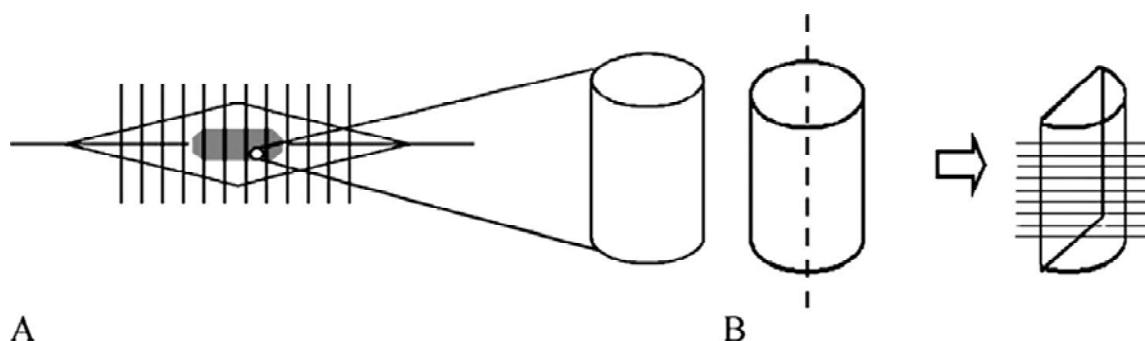
Após o diagnóstico dermatoscópico das lesões de interesse, somente uma área, contendo uma característica dermatoscópica de interesse, foi selecionada. A marcação da região a ser biopsiada, foi realizada com um fio de sutura mononylon 6-0 e posteriormente confirmada com a dermatoscopia *ex vivo* da peça.

Todas as lesões foram excisadas cirurgicamente e encaminhadas para o exame anatomopatológico seguindo a rotina do Departamento de Anatomia Patológica do A.C. Camargo Cancer Center, São Paulo. A lesão foi totalmente excisada e a peça cirúrgica obtida foi fixada em formol tamponado 10%, por no mínimo 24 horas. Posteriormente, a área a ser estudada foi retirada da peça excisada, utilizando-se um *punch* de 4 mm, para realização dos cortes histológicos perpendiculares e transversais.

A peça cirúrgica restante, sem o cilindro obtido pelo *punch* foi processada como padronizado pelo Departamento de Anatomia Patológica do A.C. Camargo Cancer Center, São Paulo.

O cilindro obtido com o *punch* (espécime) foi seccionado no sentido longitudinal, perpendicular à epiderme, em dois fragmentos de tamanhos

semelhantes. Uma metade foi incluída, transversalmente, no bloco de parafina com a superfície de corte sendo a epiderme. Parafina extra foi adicionada à superfície de corte para evitar o desgaste do estrato córneo nas primeiras fatias. No tecido emblocado, secções consecutivas (5 µm) foram realizadas das camadas mais superficiais do estrato córneo em direção à derme, e então, coradas com Hematoxilina e Eosina para posterior correlação com os achados da RCM. A outra metade foi utilizada para a realização de cortes perpendiculares à epiderme, semelhantes aos da rotina diagnóstica, para assegurar que o diagnóstico final não foi prejudicado pela biópsia (*punch*). Esta metodologia baseada no método de Headington se mostrou de fácil execução e permitiu a realização dos cortes histológicos transversais sem causar prejuízo para os pacientes e resultou em uma publicação em revista médica indexada (HEADINGTON 1984; REZZE et al. 2006b) (**Figura 5**).



Fonte: Modificado por REZZE et al. (2006b).

Figura 5 - Método de Headington. A. A peça cirúrgica é fixada em formol tamponado 10% por no mínimo 24 horas. Posteriormente, a área a ser estudada é retirada da peça excisada, utilizando-se um *punch* de 4 mm, para realização dos cortes histológicos perpendiculares e transversais. B. O cilindro obtido com o *punch* (espécime) é seccionado em duas metades: um desses fragmentos é incluído no bloco de parafina e secções consecutivas (5 µm) são realizadas das camadas mais superficiais do estrato córneo em direção à derme, e então, coradas com Hematoxilina e Eosina.

Também foi criado um protocolo para análise da histopatologia de cada lesão. Foram analisadas a epiderme, derme e anexos e ao final foi realizado o diagnóstico histopatológico de cada corte (perpendicular e transversal) (**Anexo 4**).

4.3.5 Análise dos dados

A caracterização da população do estudo foi realizada através de uma análise descritiva entre a dermatoscopia, a RCM e a histopatologia em cortes transversais e perpendiculares.

5 RESULTADOS

Foram avaliadas 34 lesões de 28 pacientes do Núcleo de Câncer de Pele e Dermatologia do A.C.Camargo Cancer Center, São Paulo, no período de junho de 2011 a julho de 2012, nas quais foram realizados o exame de dermatoscopia, a RCM e o processamento anatomopatológico. Todos os pacientes foram analisados quanto ao sexo, idade, cor da pele e localização do CBC pigmentado.

Dos 34 casos obtidos, 21 eram do sexo masculino (62%) e 13 do sexo feminino (38%). A idade ao diagnóstico variou de 37 a 93 anos com uma média de 68,9 anos.

Tabela 1 - Classificação em relação ao sexo

Sexo	Frequência	Porcentagem
Feminino	13	38,0
Masculino	21	62,0
Total	34	100,0

Das 34 lesões avaliadas, 32 (94%) estavam presentes em pacientes brancos e 2 (6%) em amarelos, nenhum paciente pardo ou negro.

Tabela 2 - Classificação em relação à raça

Raça	Frequência	Porcentagem
Branca	32	94,0
Amarela	2	6,0
Total	34	100,0

No que se refere à localização anatômica das lesões, das 34 lesões avaliadas, 17 (50%) estavam localizadas no tronco, 12 (35%) na cabeça e pescoço e 5 (15%) nos membros.

Tabela 3 - Classificação em relação à localização anatômica

Localização	Frequência	Porcentagem
Cabeça/Pescoço	12	35,0
Tronco	17	50,0
Membros	5	15,0
Total	34	100,0

No que diz respeito ao diagnóstico anatomopatológico, 33 casos eram CBCs e um carcinoma epidermóide *in situ* pigmentado, que foi incluído por interesse de estudo visto que suas características dermatoscópicas e de RCM eram muito semelhantes aos CBCs pigmentados.

Quanto às características dermatoscópicas analisadas, 19 (56%) foram áreas em folha, 10 (29%) grandes ninhos ovóides azul-acinzentados, 3 (9%) áreas em raio de roda, 1 (3%) múltiplos glóbulos azul-acinzentados e 1 (3%) de telangiectasias arboriformes.

Tabela 4 - Características dermatoscópicas analisadas

Característica		
Dermatoscópica	Frequência	Porcentagem
Área em folha	19	56,0
Área em raio de roda	3	9,0
Grandes Ninhos Ovóides	10	29,0
Glóbulos azul-acinzentados	1	3,0
Telangiectasias arboriformes	1	3,0
Total	34	100,0

5.1 CARACTERÍSTICAS DOS CBCS PIGMENTADOS NA RMC *IN VIVO*

Na camada epidérmica encontramos “padrão favo de mel” atípico em 33 (97,1%) lesões, representando a maioria dos casos. Adelgaçamento de epiderme foi encontrado em 25 (73,5%) lesões. O padrão “pedra de calçamento” atípico foi visualizado em 7 (20,6%) lesões e a polarização em 12 (35,3%) dos casos.

Na junção dermo-epidérmica foram vistas 11 (32,4%) lesões com papilas demarcadas e 6 (17,6%) lesões apresentavam papilas demarcadas alargadas com os núcleos organizados em paliçada na periferia que denominamos “papila em paliçada” (**Figura 6**).

Na derme papilar foram encontradas células dendríticas em 30 (88,2%) lesões. Trinta e uma (91,2%) lesões apresentavam ilhas tumorais, 13 (38,2%) lesões exibiam silhuetas escuras, 16 (47,1%) lesões mostravam fendas (**Figura 6**). Infiltrado inflamatório foi visto em 30 (88,2%) lesões, células globosas brilhantes esparsas em 27 (79,4%) casos e células

globosas brilhantes agregadas em 21 (61,8%) lesões. O colágeno se apresentou em fibras reticulares em 5 (14,7%) lesões e em feixes em 13 (38,2%) (**Figura 6**). Foram visualizados vasos em 16 (47,1%) lesões, sendo que em 6 dessas lesões foi observado o fenômeno de rolamento dos leucócitos nos vasos.

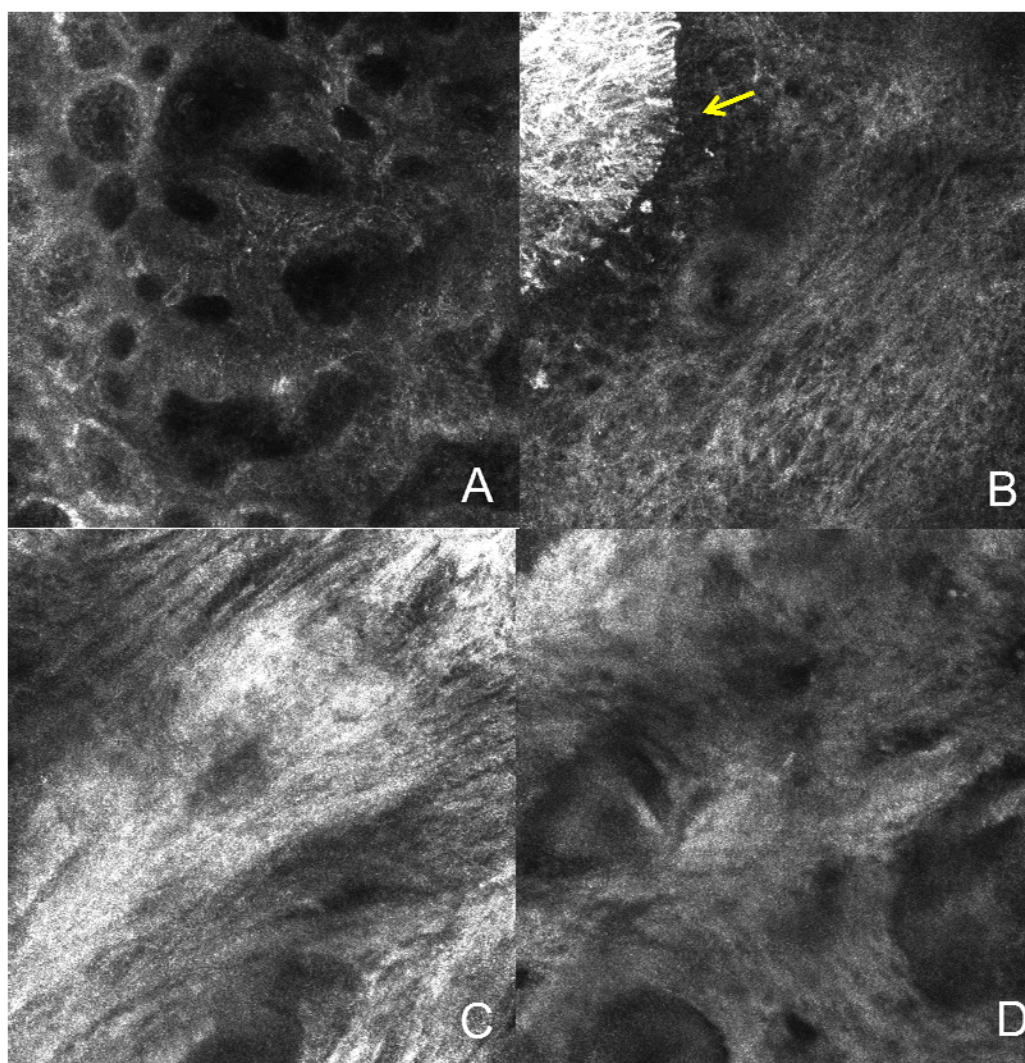


Figura 6 - Características dos CBCS pigmentados na RMC *in vivo*. **A.** Papilas demarcadas alargadas com os núcleos organizados em paliçada na periferia (“papila em paliçada”). **B.** Ilha tumoral exibindo paliçada periférica, fenda peritumoral (seta amarela) e pequenas células brilhantes (infiltrado inflamatório). **C e D:** Feixes colágenos entre as ilhas tumorais.

Tabela 5 - Características dos CBCs pigmentados na RCM

Característica	Número de casos	Porcentagem
Padrão “favo de mel” atípico	33	97,1
Adelgaçamento de epiderme	25	73,5
Padrão “pedra de calçamento” atípico	7	20,6
Polarização	12	35,3
Papilas demarcadas	11	32,4
“Papila em paliçada”	6	17,6
Células dendríticas	30	88,2
Ilhas tumorais	31	91,2
Silhuetas escuras	13	38,2
Fendas peritumorais	16	47,1
Infiltrado inflamatório	30	88,2
Células brilhantes globosas esparsas	27	79,4
Células brilhantes globosas agregadas	21	61,8
Colágeno em fibras reticulares	5	14,7
Colágeno em feixes	13	38,2
Vasos	16	47,1
Rolamento dos leucócitos	6	17,6
Total de Lesões	34	100,0

5.2 CARACTERÍSTICAS DOS CBCS PIGMENTADOS NOS CORTES HISTOLÓGICOS

Nos 34 cortes perpendiculares na epiderme, 4 (11,8%) apresentavam retificação, 14 (41,2%) apresentavam queratose actínica e 1 (2,9%) mostrava proliferação melanocítica. Na derme, 31 (91,2%) exibiam blocos de tumor, 15 (44,1%) apresentavam fendas peritumorais, 11 (32,4%) exibiam derrame pigmentar, 25 (73,5%) mostravam certo grau de infiltrado

inflamatório. Vasos foram visualizados em 10 (29,4%) cortes. Um (2,9%) apresentou fusão das cristas epidérmicas. Um (2,9%) caso mostrou proliferação de células escamosas, este foi o carcinoma epidermoide *in situ*/doença de Bowen, que foi incluído uma vez que apresentava estruturas semelhantes às ilhas tumorais e fendas peritumorais dos CBCs.

Tabela 6 - Características histopatológicas encontradas nos cortes perpendiculares

Característica	Número de casos	Porcentagem
Retificação da epiderme	4	11,8
Queratose actínica	14	41,2
Proliferação melanocítica	1	2,9
Blocos de tumor	31	91,2
Fendas peritumorais	15	44,1
Derrame pigmentar	11	32,4
Infiltrado inflamatório	25	73,5
Vasos	10	29,4
Fusão das cristas epidérmicas	1	2,9
Proliferação de células escamosas	1	2,9
Total de Lesões	34	100,0

Nos 34 cortes transversais, na epiderme 2 (5,9%) apresentavam retificação, 9 (26,5%) apresentavam queratose actínica e 1 (2,9%) mostrava proliferação melanocítica. Na derme, 30 (88,2%) exibiam blocos de tumor, 17 (50%) apresentavam fendas peritumorais, 2 (5,9%) casos apresentaram fibrose ao redor do tumor.

Dezesseis cortes (47,1%) exibiam derrame pigmentar, 22 (64,7%) mostravam certo grau de infiltrado inflamatório. Vasos foram visualizados em

5 (14,7%) dos cortes. Três cortes (8,8%) apresentaram fusão das cristas epidérmicas. Nenhum caso apresentou proliferação de células escamosas.

Tabela 7 - Características histopatológicas encontradas nos cortes transversais

Característica	Número de casos	Porcentagem
Retificação da epiderme	2	5,9
Queratose actínica	9	26,5
Proliferação melanocítica	1	2,9
Blocos de tumor	30	88,2
Fendas peritumorais	17	50,0
Derrame pigmentar	16	47,1
Infiltrado inflamatório	22	64,7
Vasos	5	14,7
Fusão das cristas epidérmicas	3	8,8
Fibrose ao redor do tumor	2	5,9
Total de Lesões	34	100,0

Foi feita uma tabela geral descritiva das características dermatoscópicas, da RCM e da histopatologia encontradas em todos os 34 casos estudados (**Anexo 5**).

6 DISCUSSÃO

Na maioria dos casos o exame clínico é suficiente para diagnosticar os CBCs pigmentados. Contudo, existem lesões clínicas de difícil diagnóstico que podem se assemelhar ao melanoma cutâneo. Para estes casos podemos utilizar técnicas diagnósticas não invasivas antes mesmo da realização de biópsia para a avaliação histopatológica. Dentre estas técnicas está a dermatoscopia e, mais recentemente, a RCM *in vivo*.

Algumas lesões podem permanecer duvidosas mesmo com a utilização da dermatoscopia. Nestas situações, podemos utilizar a RCM como complemento à dermatoscopia. A RCM é uma técnica não invasiva, *in vivo* que tem a capacidade de analisar com mais detalhe a morfologia celular, com uma resolução aproximada à histopatologia. Desse modo, a RCM veio para ocupar um espaço entre a dermatoscopia e a histopatologia.

Tanto na dermatoscopia como na RCM, as imagens são obtidas no plano horizontal e com os cortes transversais do nosso estudo conseguimos analisar e correlacionar as características dermatoscópicas, da RCM e da histopatologia dos CBCs pigmentados no mesmo plano.

Neste estudo examinamos um total de 34 lesões sugestivas de CBCs pigmentados na Dermatoscopia e correlacionamos estes achados com a RCM e os cortes histológicos (perpendicular e transversal).

As áreas em folha apresentam-se à dermatoscopia como discretas extensões bulbosas pigmentadas formando um desenho semelhante a uma

folha (ALTAMURA et al. 2010). TABANLIOĞLU ONAN et al. (2010) correlacionam estas estruturas com ninhos de células tumorais pigmentados na papila dérmica na histopatologia. RABINOVITZ et al. (2012) correlacionam as áreas em folha na dermatoscopia com ilhas de tumor circundadas por espaços escuros na RCM e ilhas tumorais de células basalóides contendo melanina na histopatologia (em cortes convencionais). Em concordância com estes autores, no presente estudo, encontramos correlação entre as áreas em folha na dermatoscopia, as ilhas tumorais em forma de folha na RCM e ninhos de células tumorais pigmentados na histopatologia, tanto nos cortes transversais como nos perpendiculares (**Figura 7**).

As áreas em raio de roda apresentam-se à dermatoscopia como projeções radiais bem circunscritas que se unem por um eixo central a uma área de pigmentação mais escura (ALTAMURA et al. 2010). KAYA e BRAUN (2005) correlacionam estas estruturas com ninhos de CBC irradiando a partir de um epitélio folicular na histopatologia. Em nosso estudo, encontramos correlação entre as áreas em raio de roda na dermatoscopia, as ilhas tumorais com projeções radiais conectadas por um centro escuro na RCM e ninhos de células tumorais pigmentados com o mesmo formato nos cortes transversais, também conectados por um centro arredondado que na histopatologia se mostra eosinofílico (**Figura 8**).

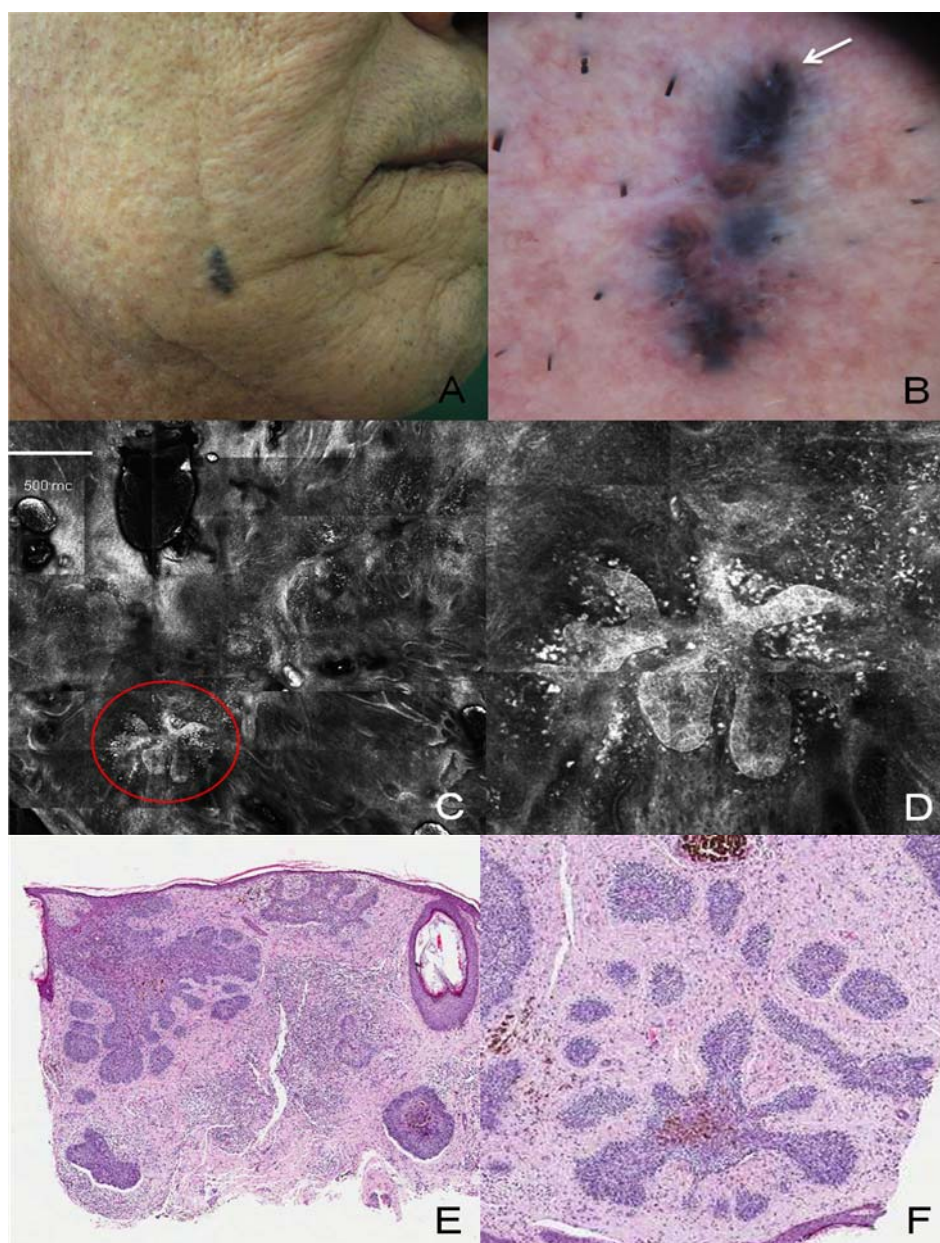


Figura 7 - Correlação entre área em folha na dermatoscopia, RCM e histopatologia. **A.** Foto clínica de uma placa enegrecida em região mandibular direita. **B.** Dermatoscopia da lesão evidenciando a área em folha (seta branca). **C.** Imagem em mosaico na RCM demonstrando ilha de células tumorais (círculo vermelho). **D.** Detalhe em maior aumento da estrutura dentro do círculo vermelho da foto C: ilha de células tumorais em formato de folha. **E.** Corte perpendicular evidenciando ninhos de células basalóides com pigmento (aumento 2,3x). **F.** Blocos de tumor pigmentados em formato de folha (aumento 2,5x).

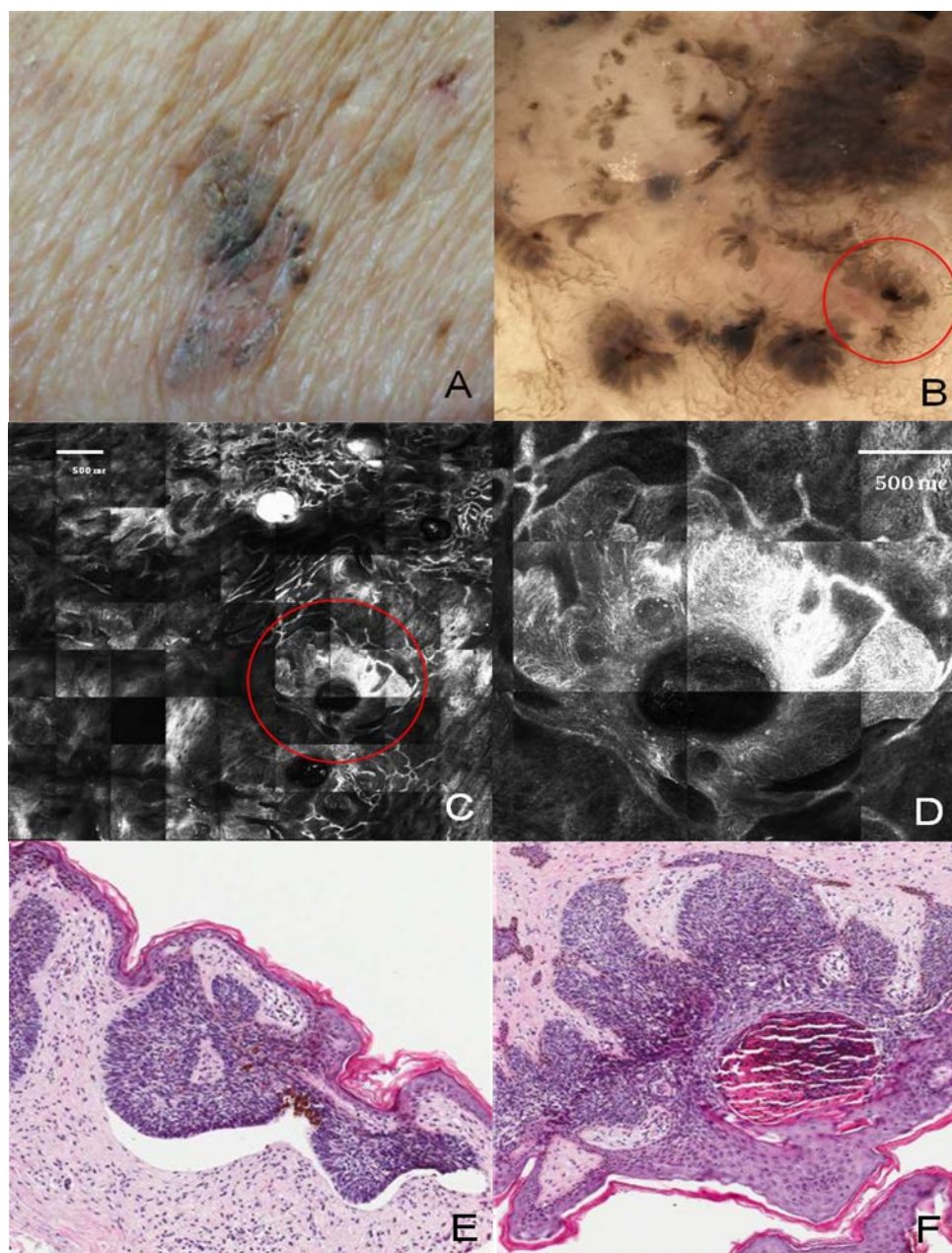


Figura 8 - Correlação entre área em raio de roda na dermatoscopia, RCM e histopatologia. **A.** Foto clínica de uma placa enegrecida no dorso. **B.** Dermatoscopia evidenciando a área em raio de roda (círculo vermelho). **C.** Imagem em mosaico na RCM demonstrando ilha de células tumorais conectadas por um centro escuro (círculo vermelho). **D.** Detalhe em maior aumento da estrutura destacada em C: ilha de células tumorais em formato de raio de roda. **E.** Corte perpendicular evidenciando ninhos de células basalóides com pigmento e fenda peritumoral (aumento 7,4x). **F.** Corte transversal, blocos de tumor pigmentados conectados por centro eosinofílico (aumento 6,3x).

Os grandes ninhos ovóides azul-acinzentados apresentam-se à dermatoscopia como áreas pigmentadas azul- acinzentadas ovaladas, bem circunscritas, maiores que os glóbulos (ALTAMURA et al. 2010). Na histopatologia, TABANLIOĞLU ONAN et al. (2010) correlacionam os grandes ninhos ovóides com ninhos de células tumorais pigmentados bem delimitados, multifocais que contém agregados de pigmento dentro das ilhas tumorais ou no estroma tumoral, situados na derme papilar ou reticular. RABINOVITZ et al. (2012) correlacionam os ninhos ovóides na dermatoscopia com ilhas de tumor circundadas por espaços escuros na RCM e ilhas tumorais de células basalóides contendo melanina na histopatologia (em cortes convencionais). Em concordância com estes autores, no presente estudo, encontramos correlação entre os grandes ninhos ovóides azul-acinzentados na dermatoscopia, as ilhas tumorais ovaladas na RCM e ninhos de células tumorais pigmentados alongados na histopatologia, tanto nos cortes transversais como nos perpendiculares **(Figura 9)**.

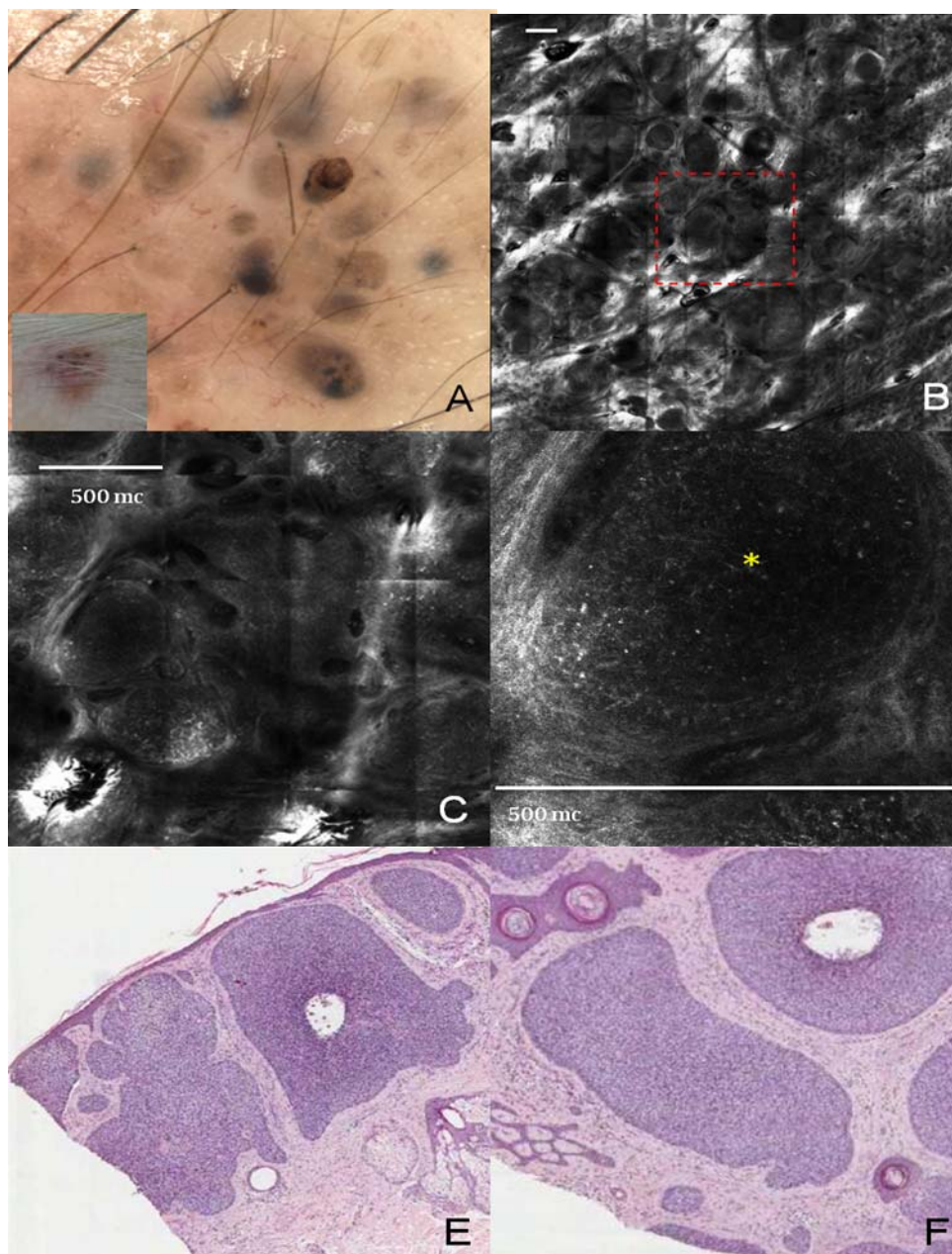


Figura 9 - Correlação entre ninhos ovóides azul-acinzentados na dermoscopia, RCM e histopatologia. **A.** Dermatoscopia da lesão evidenciando os grandes ninhos ovóides azul-acinzentados. No canto inferior esquerdo, foto clínica da lesão. **B.** Imagem em mosaico na RCM demonstrando ilha de células tumorais ovalada (quadrado tracejado vermelho). **C.** Imagem em mosaico, detalhe em maior aumento da estrutura destacada em B. **D.** Imagem do stack, ninho de célula tumoral na RCM (asterisco amarelo). **E.** Corte perpendicular evidenciando ninhos de células basalóides com pigmento (aumento 2,1x). **F.** Corte transversal que mostra blocos de tumor (aumento 2,2x).

Os múltiplos glóbulos azul-acinzentados apresentam-se à dermatoscopia como estruturas arredondadas azul-acinzentadas, menores que os ninhos ovóides (ALTAMURA et al. 2010). Na histopatologia, TABANLIOĞLU ONAN et al. (2010) correlacionam estas estruturas com ninhos de células tumorais pequenos, arredondados com pigmento dentro do tumor ou no estroma tumoral, situados na derme papilar ou reticular. RABINOVITZ et al. (2012) correlacionam os glóbulos azul-acinzentados na dermatoscopia com ilhas de tumor circundadas por espaços escuros na RCM e ilhas tumorais de células basalóides contendo melanina na histopatologia (em cortes convencionais). Em concordância com estes autores, no presente estudo, encontramos correlação entre os múltiplos glóbulos azul-acinzentados na dermatoscopia, as várias ilhas tumorais pequenas arredondadas na RCM e múltiplos ninhos de células tumorais pigmentados na histopatologia, tanto nos cortes transversais como nos perpendiculares (**Figura 10**).

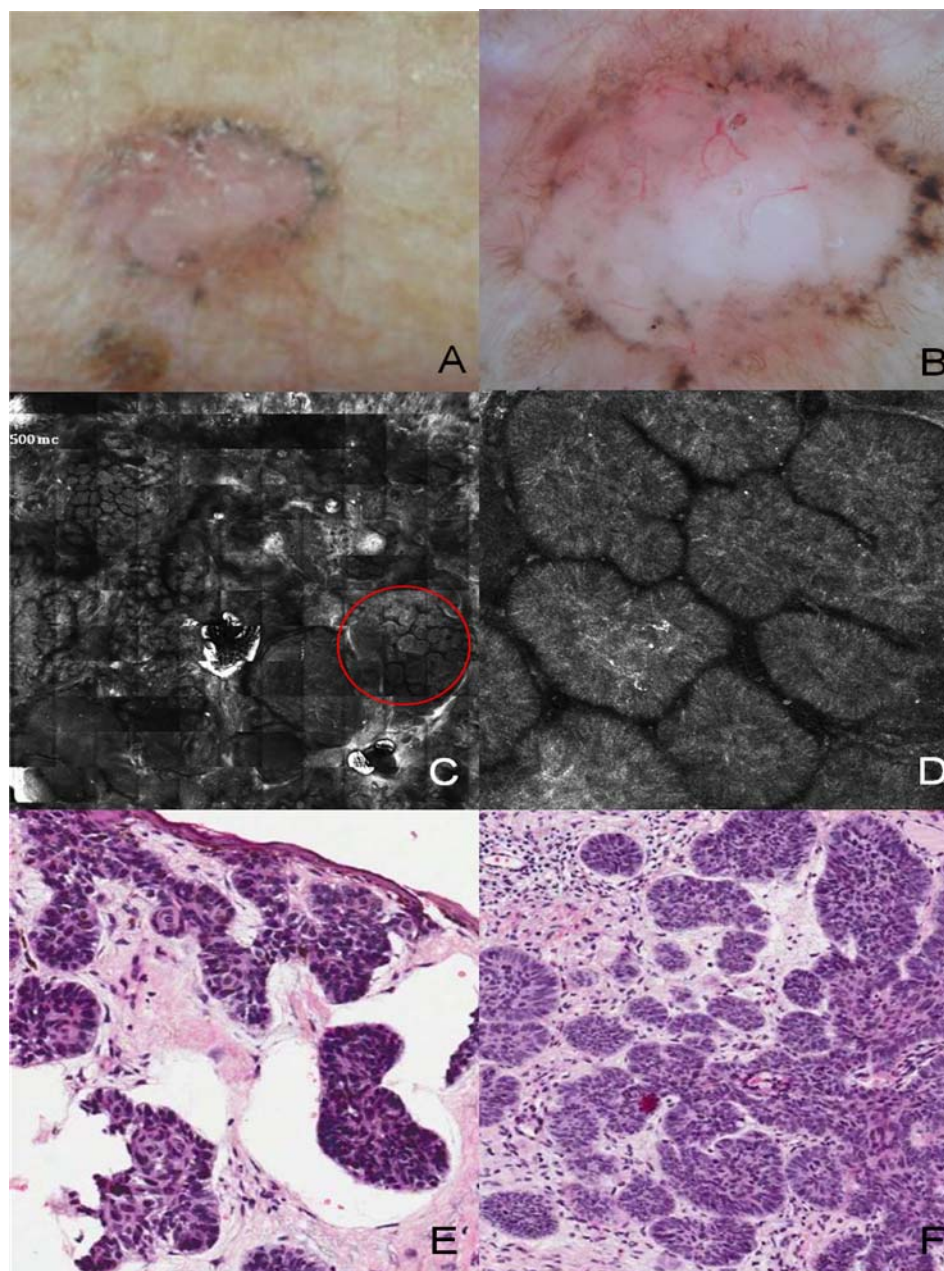


Figura 10 - Correlação entre múltiplos glóbulos azul-acinzentados na dermoscopia, RCM e histopatologia. **A.** Foto clínica de uma placa eritematosa com pontos escurecidos em tórax anterior. **B.** Dermatoscopia evidenciando múltiplos glóbulos azul-acinzentados. **C.** Imagem em mosaico na RCM: pequenas ilhas de células tumorais arredondadas (círculo vermelho). **D.** Detalhe das estruturas destacadas em C: ilhas de células tumorais em formato glóbulos. **E.** Corte perpendicular evidenciando ninhos de células basalóides com pigmento e fendas peritumorais (aumento 17,6x). **F.** Corte transversal, múltiplos blocos de tumor pigmentados arredondados (aumento 11,6x).

As áreas em folha, as áreas em raio de roda, os grandes ninhos ovóides azul-acinzentados e os múltiplos glóbulos azul-acinzentados na dermatoscopia foram correlacionados com ilhas de células tumorais na RCM e blocos de tumor na histopatologia. Na maioria dos casos, as ilhas tumorais na RCM apresentavam células dendríticas de permeio. Este achado da RCM se correlacionou na histologia com blocos de tumor pigmentados. Tal como CHARLES et al. (2002) e RABINOVITZ et al. (2012), em algumas lesões observamos à dermatoscopia grânulos azul-acinzentados que se correlacionam às células globosas brilhantes entre as ilhas tumorais na RCM e aos melanófagos (derrame pigmentar) na histopatologia, tanto nos cortes perpendiculares como nos transversais.

Assim como RABINOVITZ et al. (2012), encontramos correlação entre a fenda peritumoral na histopatologia e os espaços escuros ao redor das ilhas tumorais na RCM, que corresponderiam a depósito de mucina peritumoral. Do mesmo modo, a paliçada na periferia do tumor, tanto na RCM como na histopatologia apresentaram boa correspondência. Em contrapartida, GONZALEZ e TANNOUN (2002) descrevem as fendas peritumorais e os núcleos em paliçada na periferia do tumor na histopatologia, porém as mesmas estruturas não foram identificadas na RCM, isto pode ser explicado pelo pequeno número de casos analisados, apenas oito.

As telangiectasias arboriformes apresentam-se à dermatoscopia como telangiectasias ramificadas semelhante aos galhos de uma árvore (ALTAMURA et al. 2010). TABANLIOĞLU ONAN et al. (2010) correlacionam estas estruturas com vasos dilatados na papila dérmica na histopatologia,

RABINOVITZ et al. (2012) correlacionam as telangiectasias arboriformes na dermatoscopia com vasos superficiais e horizontais ramificados na RCM e vasos entre os blocos tumorais na histopatologia (em cortes convencionais). Em concordância com estes autores, no presente estudo, encontramos correlação entre as telangiectasias arboriformes na dermatoscopia, os vasos horizontais ramificados e calibrosos na RCM (**Figura 11**) e vasos calibrosos entre os blocos de tumor na histopatologia, tanto nos cortes transversais como nos perpendiculares.

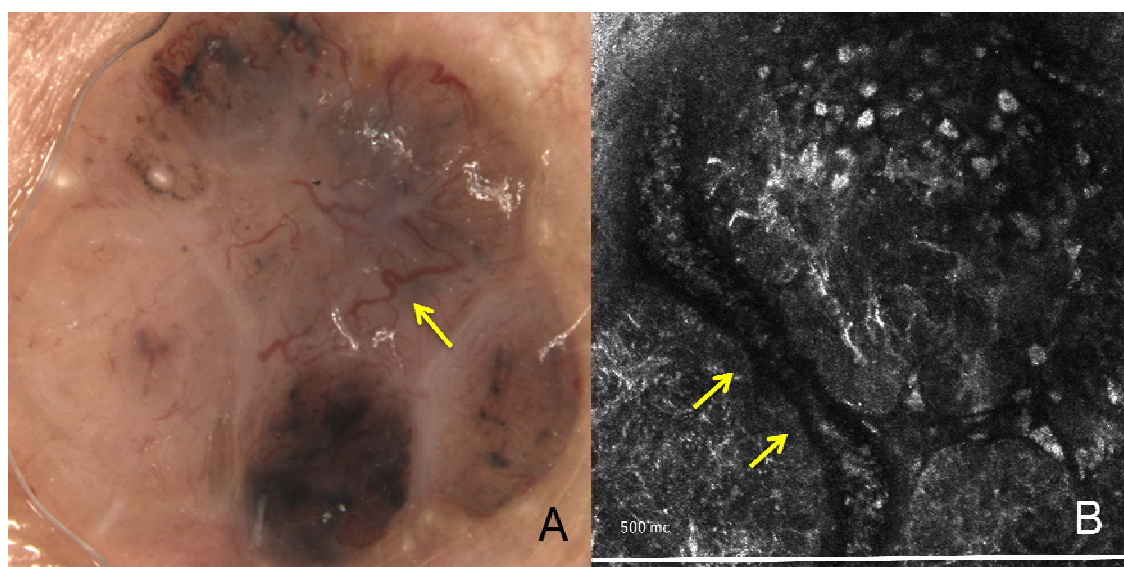


Figura 11 - Correlação entre as telangiectasias arboriformes na dermatoscopia, e RCM. A. Dermatoscopia evidenciando telangiectasias arboriformes (seta amarela). B. Imagem do stack na RCM: vasos calibrosos entre as ilhas de células tumorais (setas amarelas).

Tal como GONZALEZ e TANNOUS (2002), nossos achados de polarização na epiderme e rolamento dos leucócitos ao longo das paredes dos vasos sanguíneos da derme na RCM não apresentaram correspondência no exame histopatológico. A ausência de correlação deste

último fenômeno pode ser explicada pelo fato da RCM ser realizada *in vivo* e a histopatologia, *ex vivo*. RABINOVITZ et al. (2012) correlacionam os núcleos em paliçadas visualizados na RCM com a polarização das células basais na histopatologia, porém, assim como em nosso estudo, não conseguiram correlacionar esses achados a nenhuma característica dermatoscópica. Isso pode ser explicado pelo fato da RCM e da histopatologia permitirem avaliação da morfologia celular.

GONZALEZ e TANNOUS (2002) e AGERO et al. (2006) associam a desorganização da arquitetura da epiderme encontrada na RCM dos CBCs com o dano actínico identificado na histopatologia dessas lesões. Em nosso estudo, notamos que a maioria das lesões analisadas apresentava à RCM desorganização da arquitetura da epiderme, evidenciada pela presença do padrão em favo de mel atípico (97,1%) e adelgaçamento da epiderme (73,5%). Em algumas dessas lesões, conseguimos correlacionar esses achados da RCM com retificação da epiderme e presença de queratoses actínicas na histopatologia. Estas alterações tanto na RCM quanto na histopatologia são marcadoras de dano actínico e este se relaciona à exposição solar. Uma vez que a exposição solar é fator predisponente para desenvolvimento de CBC, podemos admitir que estes achados podem estar ligados à presença de tumor. Assim como descrito na literatura, nossos pacientes apresentaram em sua maioria, lesões em áreas fotoexpostas (THISSEN et al. 1999; CEILLEY et al. 2006; TELFER et al. 2008).

GONZALEZ e TANNOUS (2002) descrevem a presença de pequenos pontos brilhantes (infiltrado inflamatório) entre as ilhas tumorais na RCM

como um dos critérios para o diagnóstico do CBC. Em concordância com esses autores, em nosso trabalho, 30 dos 34 casos analisados (88,2%) apresentavam pequenos pontos brilhantes peritumorais na RCM. Estas células brilhantes na RCM apresentaram boa correlação com o infiltrado inflamatório peritumoral na histopatologia.

O único caso em que não foi realizado o diagnóstico histopatológico de CBC pigmentado foi o de número 4, um carcinoma *in situ* pigmentado/doença de Bowen. Esta lesão foi incluída em nosso estudo porque clinicamente se apresentava como uma placa enegrecida com áreas de pigmentação irregular e à dermatoscopia apresentava uma região que se assemelhava a área em folha, que correlacionamos a uma imagem semelhante na RCM, sugestiva de ilhas tumorais (**Figura 12**). DE GIORGI et al. (2009) descrevem estrias radiais distribuídas regularmente na periferia da lesão como um dos critérios dermatoscópicos sugestivos de doença de Bowen pigmentada. Provavelmente, consideramos como áreas em folha essas estruturas radiadas. Incluímos a lesão uma vez que o diagnóstico dermatoscópico e de RCM foi duvidoso e sugestivo de CBC pigmentado. Na histologia, a arquitetura dos blocos tumorais se mostrou semelhante à arquitetura dos CBCs, esboçando até uma paliçada onde estão os melanócitos pigmentados, o que diferencia é a célula tumoral. Desse modo, um patologista menos treinado poderia também ter dificuldade na diferenciação da lesão. Novos estudos correlacionando a Dermatoscopia, os achados de RCM e a histopatologia da doença de Bowen pigmentada podem facilitar o diagnóstico de lesões duvidosas como essa.

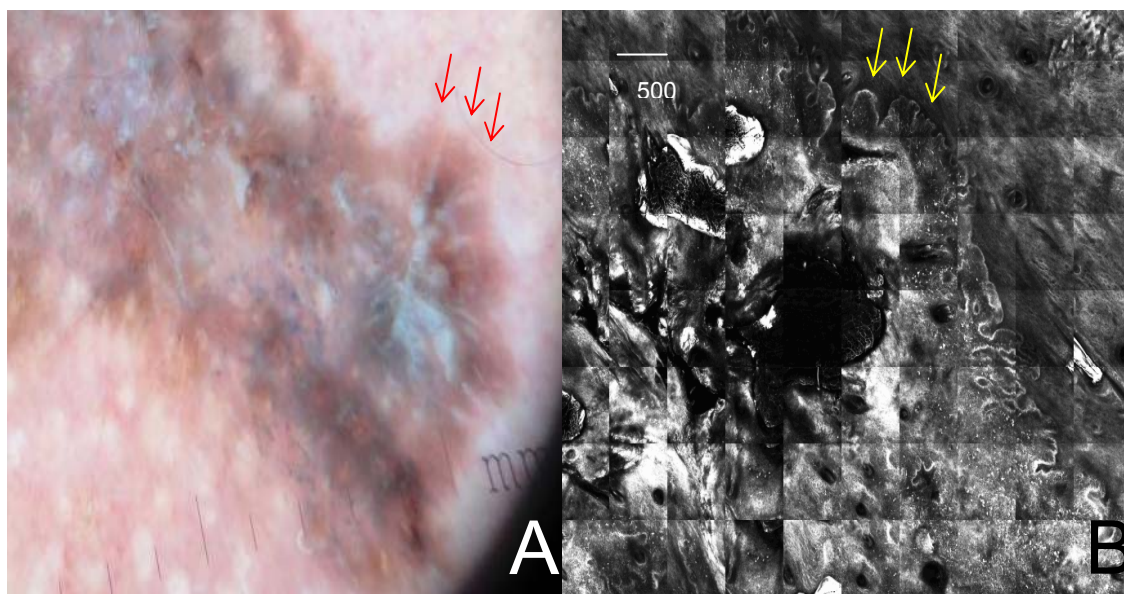


Figura 12 - Caso 4: carcinoma epidermóide *in situ* pigmentado/ doença de Bowen. **A.** Dermatoscopia evidenciando região sugestiva de áreas em folha (setas vermelhas). **B.** Imagem do mosaico, as setas amarelas mostram área sugestiva de ilhas tumorais.

Analisando nossos achados de CBC pigmentado à RCM, podemos definir alguns padrões característicos. São eles: padrão “favo de mel” atípico; polarização; “papilas em paliçada”; ilhas tumorais com fendas peritumorais e células dendríticas de permeio; silhuetas escuras; infiltrado inflamatório, células globosas brilhantes e fibras colágenas entre as ilhas de tumor além de vasos horizontais ramificados e calibrosos.

O **Quadro 4** resume nossos achados de correlação entre a dermatoscopia, a RCM e a histopatologia dos CBCs pigmentados.

Quadro 4 - Correlação das estruturas dermatoscópicas ds CBCs pigmentados com as características da RCM *in vivo* e da histopatologia, em cortes perpendiculares e transversais

Dermatoscopia	Descrição	RCM	Cortes perpendiculares	Cortes transversais
Áreas em folha	Extensões bulbosas pigmentadas em forma de folha	Ilhas tumorais brilhantes em forma de folha circundadas por espaços escuros	Blocos de células basalóides contendo melanina, com fendas ao redor	Blocos de células basalóides em forma de folha contendo melanina
Áreas em raio de roda	Projeções radiais circunscritas unidas por eixo central a uma área mais escura	Ilhas tumorais brilhantes com projeções radiais conectadas por centro escuro	Blocos de células basalóides contendo melanina, com fendas ao redor	Blocos de células basalóides contendo melanina conectados por centro eosinofílico
Grandes Ninhos ovóides azul-acinzentados	Áreas ovaladas azul-acinzentadas	Ilhas tumorais ovaladas	Blocos ovalados de células basalóides bem delimitados contendo melanina	Blocos ovalados de células basalóides bem delimitados contendo melanina
Múltiplos glóbulos azul-acinzentados	Pequenas estruturas arredondadas azul-acinzentadas	Várias ilhas tumorais arredondadas	Pequenos blocos arredondados de células basalóides contendo melanina, com fendas ao redor	Pequenos blocos arredondados de células basalóides contendo melanina, com fendas ao redor
Telangiectasias arboriformes	Telangiectasias ramificadas	Vasos horizontais e ramificados da derme, com rolamento de leucócitos	Vasos dilatados e ramificados na derme	Vasos dilatados e ramificados na derme

7 CONCLUSÕES

- 1 O estudo permitiu determinar os achados celulares e arquiteturais dos CBCs pigmentados observados no exame de RCM *in vivo* e padronizar o diagnóstico dessas lesões.
- 2 Diversas correlações foram identificadas entre os achados da RCM *in vivo* com as características dermatoscópicas encontradas nos CBCs pigmentados e os achados histopatológicos em cortes perpendiculares e transversais.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agero AL, Busam KJ, Benvenuto-Andrade C, et al. Reflectance confocal microscopy of pigmented basal cell carcinoma. **J Am Acad Dermatol** 2006; 54:638-43.

Altamura D, Menzies SW, Argenziano G, et al. Dermatoscopy of basal cell carcinoma: morphologic variability of global and local features and accuracy of diagnosis. **J Am Acad Dermatol** 2010; 62:67-75.

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

Betti R, Gualandri L, Cerri A, Inselvini E, Crosti C. Clinical features and histologic pattern analysis of pigmented basal cell carcinomas in na Italian population. **J Dermatol** 1998; 25:691-4.

Braga JC, Scope A, Klaz I, et al. The significance of reflectance confocal microscopy in the assessment of solitary pink skin lesions. **J Am Acad Dermatol** 2009; 61:230-41.

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.

Casari A, Pellacani G, Seidenari S, et al. Pigmented nodular Basal cell carcinomas in differential diagnosis with nodular melanomas: confocal microscopy as a reliable tool for in vivo histologic diagnosis. **J Skin Cancer** 2011; 2011:406859.

Ceilley RI, Del Rosso JQ. Current modalities and new advances in the treatment of basal cell carcinoma. **Int J Dermatol** 2006; 45:489-98.

Charles CA, Marghoob AA, Busam KJ, Clark-Loeser L, Halpern AC. Melanoma or pigmented basal cell carcinoma: a clinical-pathologic correlation with dermoscopy, in vivo confocal scanning laser microscopy, and routine histology. **Skin Res Technol** 2002; 8:282-7.

Dal Pozzo V, Benelli C, Roscetti E. The seven features for melanoma: a new dermoscopic algorithm for the diagnosis of malignant melanoma. **Eur J Dermatol** 1999; 9:303-8.

de Giorgi V, Alfaioli B, Papi F, et al. Dermoscopy in pigmented squamous cell carcinoma. **J Cutan Med Surg** 2009; 13:326-9.

Gerger A, Koller S, Kern T, et al. Diagnostic applicability of *in vivo* confocal scanning laser microscopy in melanocytic skin tumors. **J Invest Dermatol** 2005; 124:493-8.

Gonzalez S, Tannous Z. Real-time, in vivo confocal reflectance microscopy of basal cell carcinoma. **J Am Acad Dermatol** 2002; 47:869-74.

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

Guitera P, Menzies SW, Longo C, Cesinaro AM, Scolyer RA, Pellacani G. In vivo confocal microscopy for diagnosis of melanoma and basal cell carcinoma using a two-step method: analysis of 710 consecutive clinically equivocal cases. **J Invest Dermatol** 2012; 132:2386-94.

Headington JT. Transverse microscopic anatomy of the human scalp a basis for a morphometric approach to disorders of the hair follicle. **Arch Dermatol** 1984; 120:449-56.

Kaya G, Braun RP. Histopathological correlation in dermoscopy. In: Marghoob AA, Braun RP, Kopf AW, editors. **Atlas of Dermoscopy**. London: Taylor & Francis; 2005. p.23-7.

Langley RG, Rajadhyaksha M, Dwyer PJ, Sober AJ, Flotte TJ, Anderson RR. Confocal scanning laser microscopy of benign and malignant melanocytic skin lesions in vivo. **J Am Acad Dermatol** 2001; 45:365-76.

Maloney M, Jones D, Sexton F. Pigmented basal cell carcinoma: investigation of 70 cases. **J Am Acad Dermatol** 1992; 27:74-8.

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

Malvehy J, Hanke-Martinez M, Costa J, Salerni G, Carrera C, Puig S. Semiology and pattern analysis in nonmelanocytic lesions In: Hofmann-Wellenhof R, Pellacani G, Malvehy J, Soyer HP, editors. **Reflectance confocal microscopy for skin diseases**. Berlin: Springer; 2012. p.239-52.

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.

Menzies SW, Westerhoff K, Rabinovitz H, Kopf AW, McCarthy WH, Katz B. Surface microscopy of pigmented basal cell carcinoma. **Arch Dermatol** 2000; 136:1012-6.

Menzies SW. Dermoscopy of pigmented basal cell carcinoma. **Clin Dermatol** 2002; 20:268-9.

Nehal KS, Gareau D, Rajadhyaksha M. Skin imaging with reflectance confocal microscopy. **Semin Cutan Med Surg** 2008; 27:37-43.

Nori S, Rius-Diaz F, Cuevas J, et al. Sensitivity and specificity of reflectance-mode confocal microscopy for in vivo diagnosis of basal cell carcinoma: a multicenter study. **J Am Acad Dermatol** 2004; 51:923-30.

Pellacani G, Cesinero AM, Longo C, Grana C, Seidenari S. Microscopic *in vivo* description of cellular architecture of dermoscopic pigment network in nevi and melanomas. **Arch Dermatol** 2005; 141:147-54.

Pellacani G, Longo C, Malvehy J, et al. In vivo confocal microscopic and histopathologic correlations of dermoscopic features in 202 melanocytic lesions. **Arch Dermatol** 2008; 144:1597-608.

Pellacani G, Vinceti M, Bassoli S, et al. Reflectance confocal microscopy and features of melanocytic lesions: an internet-based study of the reproducibility of terminology. **Arch Dermatol** 2009; 145:1137-43.

Rabinovitz H, Oliviero M, Malvehy J, Puig S. Dermoscopic and histopathologic correlations. In: Hofmann-Wellenhof R, Pellacani G, Malvehy J, Soyer HP, editors. **Reflectance confocal microscopy for skin diseases**. Berlin: Springer; 2012. p.253-8.

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, Zavislan JM, Anderson RR, Webb RH. In vivo confocal laser microscopy of human skin ii: advances in instrumentation and comparison with histology. **J Invest Dermatol** 1999; 113:293-303.

Rajadhyaksha M. Confocal microscopy of skin cancers: translational advances toward clinical utility. **Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc** 2009; 2009:3231-3.

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

Rezze GG, Scramim AP, Neves RI, Landman G. Structural correlations between dermoscopic features of cutaneous melanoma and histopathology using transverse sections. **Am J Dermatopathol** 2006b; 28:13-20.

Rezze GG, Soares de Sa BC. Os critérios dermatoscópicos. In: Rezze GG, Soares de Sa BC, Neves RI, editores. **Atlas de dermatoscopia aplicada**. São Paulo: Lemar; 2008. p.23-7.

Senel E. Dermoscopy of non-melanocytic skin tumors. **Indian J Dermatol Venereol Leprol** 2011; 77:16-22.

Scope A, Busam KJ, Malvey J, et al. Ex Vivo dermoscopy of melanocytic tumors: time for dermatopathologists to learn dermoscopy. **Arch Dermatol** 2007; 143:1548-52.

Soyer HP, Argenziano G, Ruocco V, Chimenti S. Dermoscopy of pigmented skin lesions (Part II). **Eur J Dermatol** 2001; 11:483-98.

Tabanlıoğlu Onan D, Sahin S, Gököz O, et al. Correlation between the dermoscopic and histopathological features of pigmented basal cell carcinoma. **J Eur Acad Dermatol Venereol** 2010; 24:1317-25.

Telfer NR, Colver GB, Morton CA. Guidelines for the management of basal cell carcinoma. British Association of Dermatologists. **Br J Dermatol** 2008; 159:35-48.

Thissen MR, Neumann MH, Schouten LJ. A systematic review of treatment modalities for primary basal cell carcinomas. **Arch Dermatol** 1999; 135:1177-83.

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

Yadav S, Vossaert KA, Kopf AW, Silverman M, Grin-Jorgensen C. Histopathologic correlates of structures seen on dermoscopy (epiluminescence microscopy). **Am J Dermatopathol** 1993; 15:297-305.

Anexo 1 - Termo de informação e consentimento livre e esclarecido

DETERMINAÇÃO DOS PADRÕES DA MICROSCOPIA CONFOCAL *IN VIVO* DOS CARCINOMAS BASOCELULARES PIGMENTADOS E COMPARAÇÃO COM A DERMATOSCOPIA E HISTOPATOLOGIA EM CORTES PERPENDICULARES E TRANSVERSAIS

TERMO DE INFORMAÇÃO E CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

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

Você está sendo admitido(a) neste Hospital para estabelecimento de diagnóstico e/ou tratamento de alguma forma de tumor. Para fins de diagnóstico e/ou como parte de seu tratamento, há necessidade da remoção do tumor e/ou material biológico relacionado à enfermidade. É prática rotineira deste hospital usar parte do tumor e/ou outro material biológico retirado, para exames clínicos laboratoriais, necessários para um diagnóstico definitivo. O restante do tumor que é retirado, ou do material biológico, não é utilizado, sendo então armazenado para novos exames se necessário. Caso contrário, são descartados, conforme Legislação Sanitária regulamentar sobre o assunto.

Estamos realizando pesquisa com carcinomas basocelulares, para comparar os achados dermatoscópicos (exame da lesão com lupa), achados no exame de microscopia confocal *in vivo* e aqueles realizados ao microscópio óptico utilizados para a confecção do diagnóstico definitivo da lesão. Parte da lesão será examinada separadamente com a finalidade de isolar parâmetros observados à dermatoscopia e microscopia confocal *in vivo* e observar as alterações ao microscópio. O material será examinado na sua totalidade, não havendo prejuízo para o diagnóstico e/ou tratamento a ser estabelecido.

O fragmento será identificado no laboratório por um código de números e letras, e, portanto, sua privacidade e identidade serão sempre preservadas. A eventual inclusão dos resultados em publicação científica será feita de modo a manter o anonimato do paciente.

Concordando com o uso do material para os fins acima descritos, é necessário esclarece-lo (a) que não existem quaisquer benefícios ou direitos financeiros a receber sobre os eventuais resultados decorrentes da pesquisa. Se você não concordar em doar o material para pesquisa, sua decisão não influenciará, de nenhum modo, no seu tratamento.

Caso você ainda tenha questões a fazer sobre este Termo de Consentimento ou alguma dúvida que não tenha sido esclarecida pelo seu médico, por gentileza, entre em contato com a pesquisadora principal, Dra. Gisele Gargantini Rezze pelo telefone 2189-5136 ou se o pesquisador responsável não fornecer as informações / esclarecimentos suficientes, por favor entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Fundação Antônio Prudente – Hospital do Câncer – A.C. Camargo/SP pelo telefone (11) 2189-5000, ramais 2069 ou 5020, de segunda-feira à quinta-feira das 7 horas às 18 horas e sexta-feira das 7 horas às 16 horas.

Você receberá uma via deste documento. Somente assine este termo, se consentir.

D E C L A R A Ç Ã O

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

São Paulo, de de

Responsável ou Paciente:

RG:

RGH:

Assinatura:

Nome do pesquisador responsável:

Assinatura:

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



Centro de Tratamento, Ensino e Pesquisa em Câncer

Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

São Paulo, 28 de Fevereiro de 2011.

A

Dra. Gisele Gargantini Rezze

Ref.: Projeto de Pesquisa nº. 1524/11

"Determinação dos padrões da microscopia confocal in vivo nas lesões pigmentadas da pele e comparação com a dermatoscopia e histopatologia em cortes transversais".

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 22/02/2011, aprovaram a realização do estudo em referência (versão 1), o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e tomaram conhecimento dos seguintes documentos:

- Folha de Rosto para Pesquisa Envolvendo Seres Humanos;
- Termo de Compromisso do Pesquisador com as Resoluções do Conselho Nacional de Saúde;
- Declaração sobre os Dados Coletados, Publicação dos Dados e Propriedade das Informações Geradas;
- Declaração sobre Uso e destino do Material Biológico, Publicação dos Dados e Propriedade das Informações Geradas;
- Declaração Sobre o Plano de Recrutamento dos Sujeitos de Pesquisa, Circunstâncias e Responsáveis pela Obtenção do TCLE;
- Orçamento Financeiro Detalhado;
- Divulgação de Resultado de Despacho processo FAPESP 2010/06455-1;
- Declaração de Infra-Estrutura e Instalações do Departamento de Oncologia Cutânea;
- Declaração de Ciência e Comprometimento do Departamento de Anatomia Patológica;
- Declaração de Ciência e Comprometimento do Departamento de Oncologia Cutânea.

Informações a respeito do andamento do referido projeto deverão ser encaminhadas à assistente do CEP dentro de 6 meses.

Atenciosamente,

Dr. Alexandre Sá de Andrade
2º Vice-Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

1/1

Anexo 3 - Protocolo Microscopia Confocal CBC**Identificação do paciente:**

Nome:

RGH:

Sexo:

Nascimento:

Data do exame:

Diagnóstico dermatoscópico:

Diagnóstico microscopia confocal:

Diagnóstico anátomo-patológico:

Estrutura analisada:

Idade ao diagnóstico:

Obs: 0-não 1- sim 9- não se aplica**A. EPIDERME:**

1. adelgaçamento de epiderme-----()
2. quantos stacks até sumir epiderme-----()
3. padrão favo de mel típico-----()
4. padrão favo de mel atípico-----()
5. padrão “pedra de calçamento” típico-----()
6. padrão “pedra de calçamento” atípico-----()
7. padrão “pedra de calçamento” ausente-----()
8. polarização-----()

B. JUNÇÃO DERMO EPIDÉRMICA:

1. papila dermacada-----()
2. papila não demarcada-----()
3. ausência de papila-----()
4. presença de células em paliçada-----()

C. DERME

1. células dendríticas-----()
2. ilhas tumorais-----()
3. silhuetas escuras-----()
4. fendas-----()
5. pontos brilhantes e pequenas células brilhantes (infiltrado inflamatório)-----()
6. células globosas brilhantes esparsas-----()
7. células globosas brilhantes agregadas-----()
8. estruturas de colágeno:
 - não encontradas-----()
 - fibras reticuladas-----()
 - em feixes-----()
9. vasos-----()

D. OBSERVAÇÕES

Anexo 4 - Protocolo Histopatologia**A. Identificação do paciente:**

Nome:

RGH:

Sexo:

Nascimento:

Data do exame:

Diagnóstico anátomo-patológico (laudo):

Diagnóstico cortes perpendiculares:

Diagnóstico cortes transversais:

Estrutura analisada:

Idade ao diagnóstico:

B. Corte perpendicular:

1. Epiderme:

2. Derme:

3. Anexos:

B. Cortes transversal:

1. Epiderme:

2. Derme:

3. Anexos:

Anexo 5 - Quadro descritivo das características dermatoscópicas, da RCM e da histologia nos cortes perpendiculares e transversais dos 34 casos estudados

[illegible]

Cont/ Anexo 5

[illegible]

Cont/ Anexo 5

[illegible]

Cont/ Anexo 5

[illegible]