

## A TEXTURA DO COLÁGENO E IMUNOEXPRESSION DO PRAME NOS NEVOS DISPLÁSICOS : RELAÇÃO COM O MELANOMA

### RESUMO

**Introdução:** indivíduos com nevos displásicos (NDs) são mais propensos a desenvolver melanoma cutâneo (MC). Os NDs apresentam algumas das características do MC e devem se distinguir dele. Pacientes com muitos NDs necessitam ser examinados periodicamente e toda lesão que muda suas características deve ser removida para afastar a possibilidade de se tratar de um MC que, a princípio, havia sido considerado como ND. Dentre as características histológicas dos NDs destaca-se a fibroplasia da derme subjacente. Nós estudamos a densidade e textura do tecido conjuntivo subepidérmico e a expressão do PRAME (Preferentially expressed Antigen in MElanoma) em NDs, de pacientes sob acompanhamento, por apresentarem muitas destas lesões.

**Metodologia:** foram selecionadas 56 amostras de NDs de 15 pacientes diferentes. Das observações clínicas foram extraídas as seguintes informações: idade, sexo, histórico pessoal e familiar de MC e de outros tipos de câncer cutâneo, localização anatômica e dimensões dos NDs, à clínica. Às colorações de rotina, os NDs foram subdivididos em 2 tipos histológicos, de forma cega: 1-achados histológicos clássicos; 2-atípicas citoarquiteturais variáveis e mais intensas. Às colorações pelo *Sirius red*, sob polarização, em imagens digitalizadas, foram estudados a densidade óptica, segundo momento angular, contraste, entropia e anisotropia, por meio do programa ImageJ (disponível em: <http://rsb.info.nih.gov/ij>). Por métodos imunoistoquímicos convencionais, cortes adicionais foram tratados pelo anti-PRAME. Os resultados foram tratados por métodos estatísticos por meio do SAS System for Windows. **Resultados:** 9 pacientes eram do sexo feminino e 6 do masculino; 8 (53%) apresentaram MC em algum período da vida e 51/56 NDs foram diagnosticados até os 40 anos de idade. No seguimento, nenhum dos NDs recidivou. O colágeno sob os NDs dos pacientes com histórico pessoal de MC apresentou valores significativamente maiores de densidade óptica ( $P=0,0259$ ), comparativamente com aqueles sem este histórico, denotando textura mais compacta. Trinta e seis lesões eram axiais e 20 se desenvolveram nos membros. Às colorações de rotina, 32/56 lesões apresentavam morfologia clássica de ND. Os ND de subtipo 2 ( $N=24$ ) apresentaram valores significativamente menores de contraste ( $P=0,0140$ ) e entropia ( $P=0,0353$ ), refletindo maior organização, comparativamente com os demais NDs. Apenas um pequeno número de células dos NDs se marcou pelo PRAME, e em apenas 5 dos 24 NDs tipo 2. **Conclusões:** a amostra estudada reflete o padrão populacional descrito na literatura e confirma a maior predisposição destes pacientes ao MC. O PRAME não é superexpresso em ND de pacientes com risco de MC. NDs de indivíduos com histórico pessoal

de MC e NDs de tipo não-clássico, em relação ao grupo controle, apresentam diferenças de textura do colágeno, o que pode indicar diferenças biológicas.

**Palavras-chave:** nevo displásico; melanoma; colágeno; densidade óptica; textura; imunoistoquímica; PRAME

## INTRODUÇÃO

Indivíduos com vários nevos displásicos (NDS) são mais propensos a desenvolver melanoma cutâneo (MC) e pessoas com histórico familiar de MC são mais propensas a desenvolver NDs<sup>1</sup>. A incidência de MC cutâneo vem aumentando em todo o mundo<sup>2</sup>. O diagnóstico histológico dos NDs depende de uma combinação de achados como desordem arquitetural, atipia citológica dos melanócitos, hiperplasia da epiderme, fusão apical dos cones epiteliais, derme papilar subjacente com maior número de fibroblastos e de fibras colágenas delgadas, arranjadas de forma concêntrica e compacta ao redor das cristas epidérmicas, infiltrado linfocitário perivascular, melanófagos e hipervascularização<sup>3</sup>. Assim, nota-se que os NDs compartilham algumas das características com o MC, e a distinção entre ND e MC pode ser desafiadora, especialmente naqueles NDs que exibem morfologia não-clássica, com maior grau de alterações citoarquiteturais. Atualmente, o exame histopatológico é considerado o padrão ouro no diagnóstico de tumores melanocíticos. Porém, os estudos mostram baixa reprodutibilidade e precisão nos diagnósticos de NDs e MCs entre patologistas<sup>4</sup>. Com relação ao tecido conjuntivo espesso que se forma sob o ND, por estímulo das suas próprias células, pergunta-se: há diferenças na sua densidade e textura quando comparados NDs de indivíduos que desenvolveram MC em algum período da sua vida com os NDs de quem nunca o desenvolveu ou quando se comparam NDs com morfologia clássica com aqueles com mais alterações citoarquiteturais (não-clássicos)? É conhecido que há substancial subjetividade na avaliação histológica dos NDs, mas técnicas digitais de imagem poderiam reduzir este componente individual da análise. Com o uso dessas técnicas, a forma com que as fibras colágenas se orientam ao redor de vários tipos de neoplasias tem sido usada como instrumento para prever o seu comportamento biológico e prognóstico<sup>5,6</sup>. Após a aquisição da imagem, análises quantitativas podem ser realizadas, por meio de *softwares* específicos, para avaliar o teor, distribuição, densidade e padrões de orientação das fibras colágenas.

O PRAME (*P*referentially expressed *A*ntigen in *M*elanoma) é um antígeno associado ao melanoma que foi isolado por células T autólogas em paciente com melanoma. Embora a expressão frequente de mRNA de PRAME seja bem documentada em melanomas cutâneos e

oculares, a sua expressão em outras lesões ainda é pouco estudada. É descrito que 13% dos nevos melanocíticos de qualquer tipo apresenta imunomarcagem de algum grau.<sup>7</sup>

Esse trabalho teve por objetivo estudar a densidade e textura do tecido conjuntivo subepidérmico e a expressão do PRAME em NDs, de pacientes sob acompanhamento, por apresentarem muitas destas lesões.

## **METODOLOGIA**

Foram resgatados, dos arquivos do laboratório de Anatomia Patológica do Hospital das Clínicas da Instituição de origem dos autores, entre 1994 e 2018, todos os exames anátomo-patológicos de pele com diagnóstico de ND. Todos os espécimes histopatológicos foram revisados, para confirmar o diagnóstico de ND. Os critérios de exclusão aplicados foram: 1) amostras de pacientes que removeram menos de 3 nevos; 2) amostras de NDs compostos; 3) as com preparados de má qualidade; 4) aquelas em que, à revisão histológica, houvesse dúvidas quanto à sua natureza biológica (diagnóstico diferencial entre ND e MC). Foram incluídos espécimes cujo material, incluído em parafina, apresentava volume de tecido suficiente para recorte de, pelo menos, 1 nevo por paciente. Foram finalmente selecionadas 56 amostras de 15 pacientes diferentes. Dos prontuários foram coletadas as informações sobre sexo, cor da pele, idade do paciente no momento da coleta das biopsias, histórico pessoal e familiar de MC, histórico pessoal de outros cânceres de pele, e outras doenças e comportamento biológico das lesões, posteriormente à sua excisão. Os blocos de cada amostra selecionada foram seccionados (4µm), e os cortes corados pela hematoxilina e eosina (H&E) e pelo sirius red [kit *Picrosirius Red*(PSR), Erviegas]<sup>8</sup>. Sob luz polarizada, o método do PSR permite avaliar o colágeno, qualitativa e quantitativamente. Isto se deve à diferença na emissão de cores, na intensidade e na birrefringência dos tecidos corado.<sup>9,10</sup>. É aceito que o método do PSR é excelente para este estudo, devido à sua disponibilidade comercial e porque permite que se isole especificamente o contraste de colágeno com polarizadores lineares, em um microscópio de campo claro. Além disso, por esta estratégia, se geram imagens quantificáveis, a partir de *softwares* existentes, comparando-se ao SHG (*Second Harmonic Generation*), que é atualmente considerado o padrão-ouro para avaliação do colágeno<sup>10</sup>. Os cortes seriados de cada amostra, corados por H&E, foram analisados, de forma cega, para classificar as lesões. No grupo 1 foram incluídas as amostras com achados clássicos de ND, a saber **(Fig. 1 a 5)**: 1-comparativamente com a pele adjacente, hiperplasia da epiderme, com alongamento dos cones epiteliais; 2- pequenos agregados de células melanocíticas na junção dermoepidérmica, algumas áreas lentiginosas e aparência de fusão destes agregados no ápice dos cones epiteliais; 3-extensão destes agregados à

parte superficial dos anexos; 4-uniformidade no volume, distância e polaridade destes agregados; 5- relativa simetria na sua distribuição: agregados mais volumosos no centro das lesões e progressivamente menores nas bordas; 6- pigmento melânico grosseiro nos melanócitos; 7- atipias citológicas descontínuas; 8- fibrose concêntrica da derme papilar, sob os cones epiteliais; 9- focos de hipervascularização, infiltrado linfóide e melanófagos sob a epiderme. No grupo 2 foram incluídas as amostras com um ou mais achados que, em alguns pontos, destoavam das características clássicas de nevo displásico, a saber **(Fig. 6 a 9)**: 1-certa irregularidade na hiperplasia da epiderme; 2- agregados maiores de células melanocíticas na junção dermoepidérmica ou mais áreas lentiginosas; 3-certa irregularidade no volume, distância e polaridade destes agregados; 4- pigmento melânico uniforme, fino (“*dusty*”) no citoplasma; 7- atipias citológicas mais acentuadas e menos descontínuas; 8- certa assimetria com relação à hipervascularização, infiltrado linfóide e melanófagos sob a epiderme.



Figura 1: ND intraepidérmico, lesão incipiente, lentiginosa. À esquerda, a margem da amostra, está reparada com nanquim (seta preta). Comparativamente com a pele adjacente, na área do nevo (amarelo), nota-se hiperplasia da epiderme, com alongamento dos cones epiteliais. A pele normal, adjacente ao nevo, está delimitada em vermelho. H&E, aumento original X40.

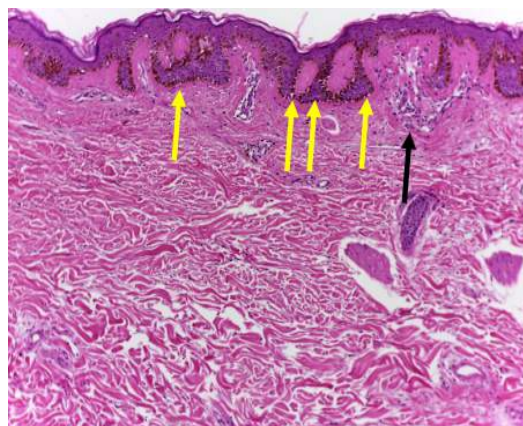


Figura 2: ND intraepidérmico, lesão incipiente, lentiginosa. Nota-se hiperplasia da epiderme, com alongamento dos cones epiteliais, focos de hipervascularização da derme subjacente, com leve infiltrado linfóide (seta preta) e melanócitos isolados na junção dermoepidérmica, em arranjo “lentiginoso” (setas amarelas). Nota-se simetria na distribuição dos melanócitos e da epiderme. H&E, aumento original x100.

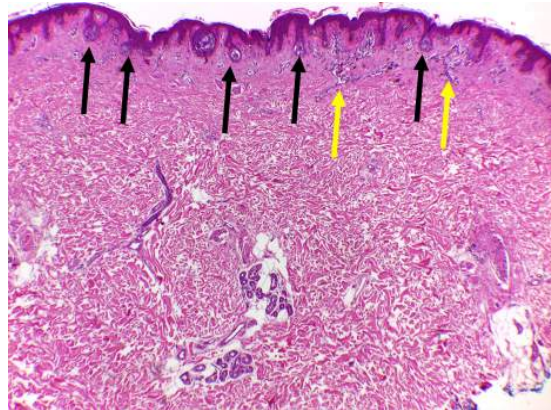


Figura 3: ND intraepidérmico: Hiperplasia da epiderme, com alongamento dos cones epiteliais, agregados de melanócitos na junção dermoepidérmica, formando “ninhos” (setas pretas), em distribuição simétrica. Hipervascularização e leve infiltrado linfóide da derme subjacente (setas amarelas). H&E, aumento original x40.

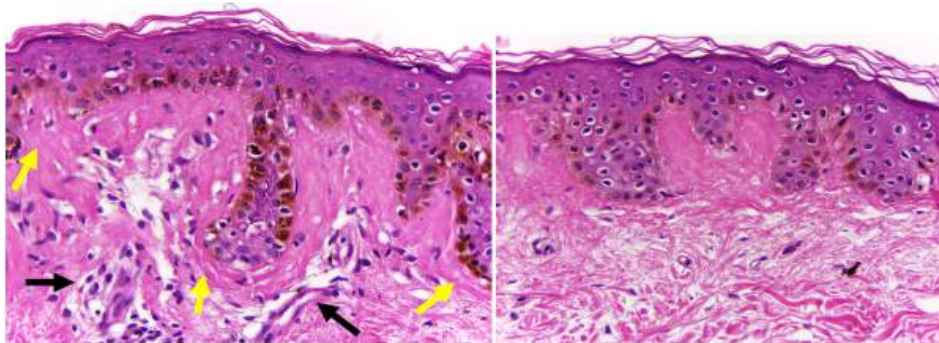


Figura 4: ND intraepidérmico (esquerda) e pele sã adjacente (direita). Hiperplasia da epiderme, com alongamento dos cones epiteliais, fibroplasia da derme papilar sob o nevo (setas amarelas) e aumento do número de vasos, com infiltrado linfóide (setas pretas) sob a lesão. H&E, aumento original x 400 (ambas as imagens).

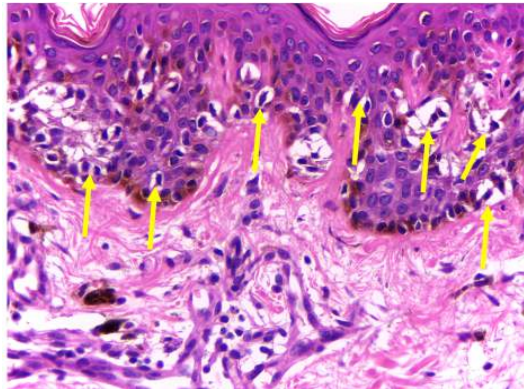


Figura 5: ND intraepidérmico. Nesta amostra, as células melanocíticas (setas) estão com o citoplasma e núcleo levemente aumentados de volume (atipia), têm volume uniforme, estão isoladas ou em pequenos agrupamentos. H&E, aumento original x400.

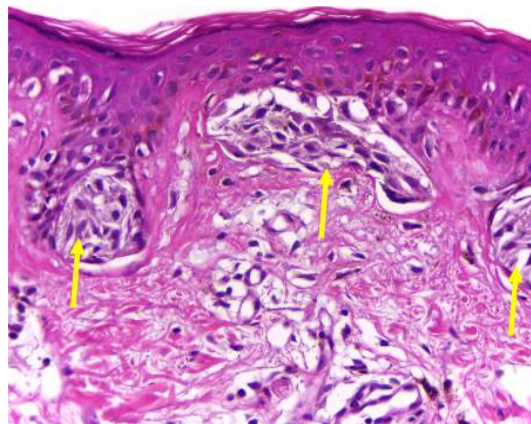


Figura 6: ND intraepidérmico. As células melanocíticas (setas) estão com o citoplasma e núcleo aumentados de volume, são fusiformes, têm características relativamente uniformes e estão dispostas em agrupamentos maiores que os da amostra anterior. H&E, aumento original x400.

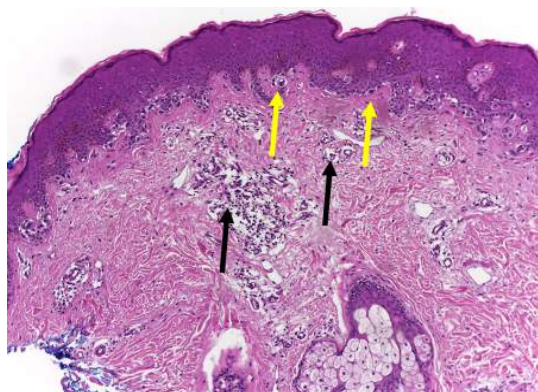


Figura 7: ND intraepidérmico. Os melanócitos distribuem-se ao longo da junção dermoepidérmica, raramente formando ninhos. Células melanocíticas epitelióides atípicas (setas

amarelas) foram demonstradas em maior aumento na figura 8. A atipia citológica, em que pese ser acentuada, não é contínua. As setas pretas mostram focos de hipervascularização e infiltrado linfóide, típicos dos nevos displásicos. H&E, aumento original x100.

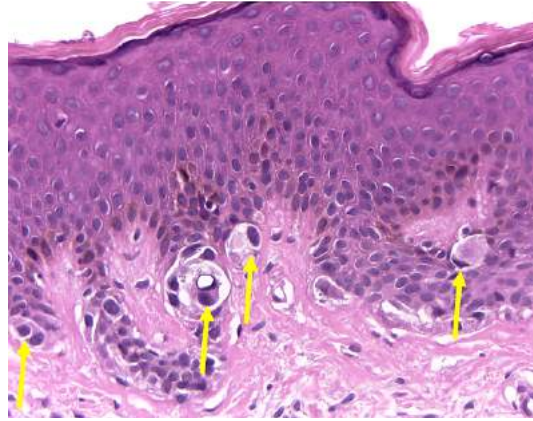


Figura 8: ND intraepidérmico. As setas apontam células melanocíticas atípicas epitelióides, mas, na integridade do nevo, as atipias são descontínuas. H&E, aumento original x400.

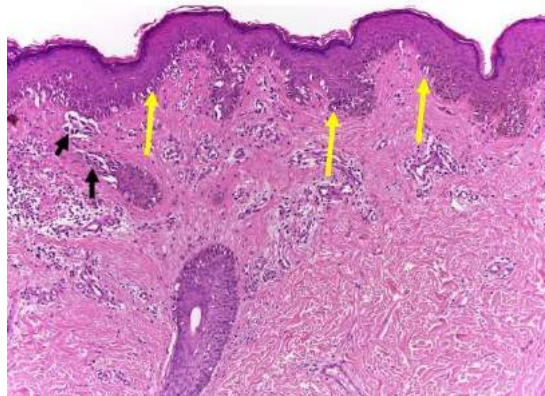


Figura 9: ND intraepidérmico. Os melanócitos, na epiderme, com variados graus de atipia, estão proliferando em caráter lentiginoso (setas amarelas), formando raros ninhos (setas pretas), há fibrose, hipervascularização e infiltrado linfóide na derme.

Dos cortes em PSR foram obtidas imagens sob luz polarizada (Axiophot 2 Photomicroscope Carl Zeiss; Oberkochen, Germany) com a câmera Olympus modelo DP72, 16 mega pixel. As fotografias dos vários campos foram feitas visando sempre um fundo escuro e a birrefringência máxima das cores verde e vermelha, com a plataforma de aquisição cellSens (Olympus Corp.), nas seguintes padronizações: aumento da objetiva de 40 vezes, com tempo de exposição de 1/182 s, sob birrefringência 5,5, com filtro polarizador à 30°. Dimensões de 4140 x 3096 pixels, resolução vertical e horizontal de 72 dpi, intensidade de bits 24. As imagens foram salvas em 37,1 MB cada em extensão TIF. Foram captadas de 5 a 15 imagens por biópsia, em regiões que

evidenciaram o colágeno da derme sob o nevo displásico. Dentre elas, foram selecionadas de 3 a 9 imagens referentes a cada nevo analisado, inteirando 198 imagens (**Fig. 10**).

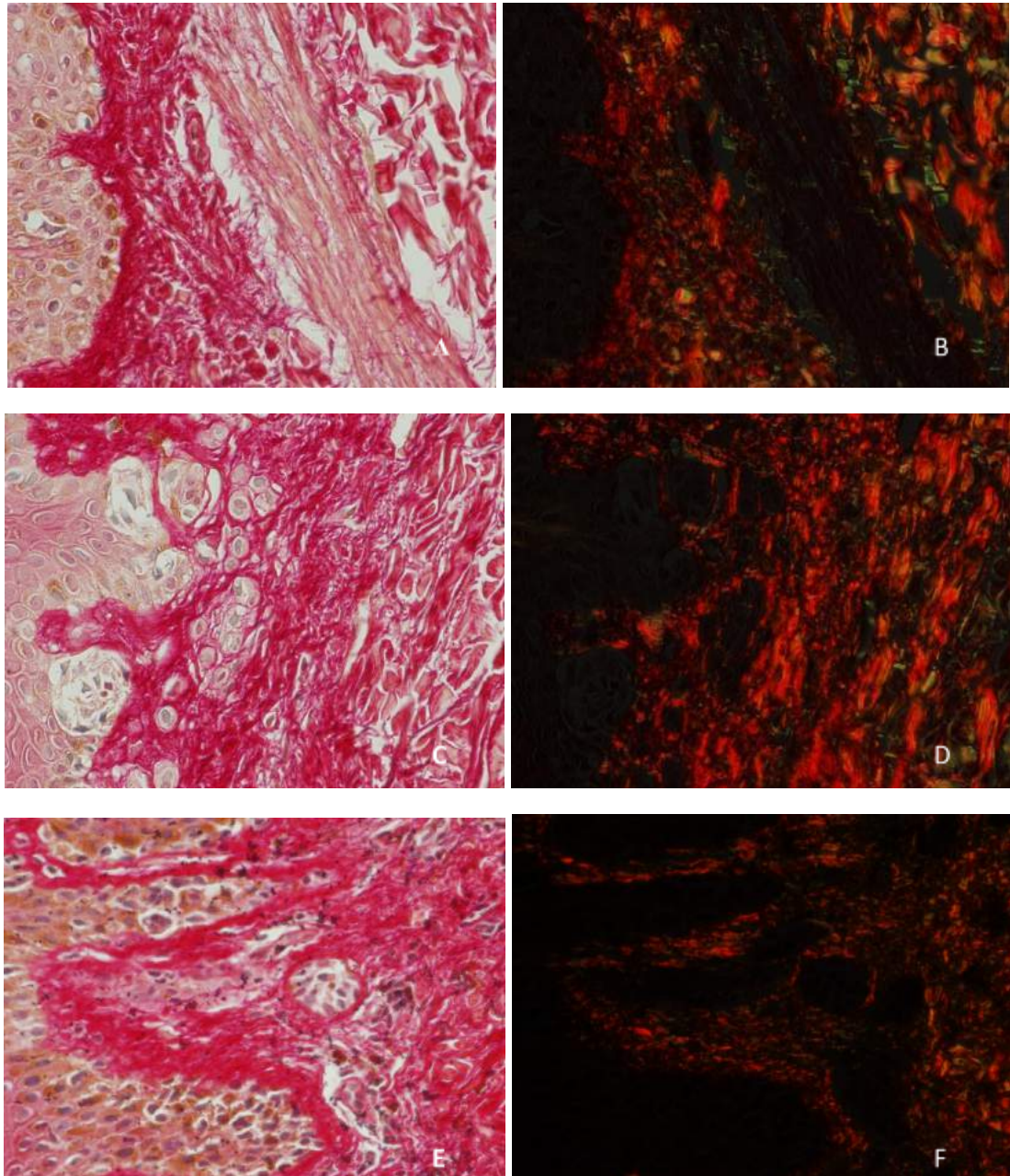


Figura 10: ND de 3 pacientes diferentes (tecido colágeno subepidérmico em área correspondente ao nevo). Imagens A, C e E (à esquerda): sem o filtro polarizador; imagens B, D e F (à direita): mesmos campos, sob filtro polarizador. Picrosirius Red, aumento original x400.

As imagens foram analisadas com auxílio software ImageJ (disponível em: <http://rsb.info.nih.gov/ij/>). Em cada imagem foi selecionada uma “região de interesse específica” (ROI, do inglês *region pinterest*) com área de 28.518.210, 198  $\mu^2$  ou 0.2852  $\text{cm}^2$ . De cada ROI selecionada, foram extraídos os valores da densidade óptica e textura do colágeno (GLCM -



Gray Level Cooccurrence Matrix: contraste, segundo momento angular e entropia) e da anisotropia (orientação das fibras). A GLCM inclui parâmetros extraídos diretamente da imagem original e não consideram os valores vizinhos, enquanto que as estatísticas de segunda ordem são derivadas de matriz (por exemplo, matriz de co-ocorrência de nível de cinza) que é construída sobre a correlação entre os pixels da imagem original, que depende dos arranjos espaciais das intensidades de pixels presentes na ROI<sup>12</sup>. A análise dos GLCM é amplamente utilizada para descrever a textura de imagem e foi desenvolvido por Haralik et al<sup>13</sup>. Para analisar a GLCM, se conta o número de ocorrências de um nível de cinza adjacente a outro nível de cinza, a uma distância e direção de pixel especificadas. Como resultado, forma-se uma matriz, com linhas e colunas representando os níveis de cinza e elementos contendo a probabilidade da co-ocorrência dos níveis de cinza. Altos níveis de contraste ocorrem quando uma imagem tem um elevado número de pares de pixels, com grandes diferenças no nível de cinza ocorrendo em uma orientação e distância específicas. A entropia é também um parâmetro de textura e tem sido associada ao grau de organização das fibras, sendo útil para a caracterização de vários tecidos e condições<sup>14</sup>. O segundo momento angular (SMA) tem valores mais altos em imagens com nível de cinza uniforme ou diferenças de nível de cinza uniformes numa determinada distância, sendo menor para aquelas com maior variação nos níveis de cinza. A densidade é calculada pela quantidade de colágeno na área da ROI. Pela anisotropia é possível estudar a orientação de fibras de feixes de colágeno e sua organização supramolecular. Quando as fibras estão bem organizadas, os valores tendem a 1 (um) e, quanto menor a organização, tendem a 0 (zero)<sup>15</sup>. Os espécimes foram também corados por métodos imunistoquímicos convencionais empregando o anticorpo anti-PRAME (MAb EPR20330; Abcam, #219650). As células melanocíticas imunomarcadas dos nevos foram contadas, em cada campo de 400 vezes, em relação ao número das não imunomarcadas, da seguinte forma: A-ausentes; B-1 a 5%; C- 6 a 10%.

Foi realizada análise estatística descritiva, com tabelas de frequência para variáveis categóricas e medidas de posição e dispersão para variáveis contínuas (valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo). Para comparar os parâmetros em relação às variáveis de interesse foi utilizado o método das Equações de Estimação Generalizadas-EEG (Generalized Estimating Equations). As estimativas foram calculadas por máxima verossimilhança visando ponderar a diferença do número de nevos de cada paciente. O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5%<sup>15</sup>. O programa Computacional usado foi SAS System for Windows (Statistical Analysis System), versão 9.4. SAS Institute Inc, 2002-2012, Cary, NC, USA.

## **APECTOS ÉTICOS E LEGAIS REFERENTES À PESQUISA**

A aprovação do CEP foi obtida antes do início da coleta de dados (CAAE: 16621819.1.0000.5404; nº do parecer de aprovação: 3.548.935) em 02 de setembro de 2019).

## RESULTADOS

Nove pacientes eram do sexo feminino e 6 do masculino e todos eram brancos; 51 dos 56 NDs estudados foram diagnosticados nos pacientes até os 40 anos de idade e nenhum deles apresentava co-morbidades ou outros cânceres de pele. No seguimento, nenhum dos NDs recidivou. Oito pacientes (53%) apresentaram MC em algum período da vida e 7 não. Os NDs dos pacientes com histórico pessoal de MC apresentaram valores significativamente maiores de densidade óptica do colágeno subnévico ( $P=0,0259$ ), comparativamente com os pacientes sem histórico pessoal de MC, segundo as EEG, revelando textura mais compacta. (Tab. 1).

**Tabela 1-Análise descritiva e comparação dos parâmetros entre os grupos (1- nevo displásico clássico; 2-nevo displásico não clássico).**

Grupo	Variável	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo	Valor
1	Contraste	32	34457.91	17541.07	6500.000	38239.00	70216.67	0.0140*
	Entropia	32	6.4416	0.6144	5.0407	6.6047	7.3440	0.0353*
2	Contraste	23	23901.64	16609.05	4527.333	17184.33	62252.33	
	Entropia	23	6.0270	0.6975	4.5460	6.0077	7.1437	

**\* Método das Equações de Estimação Generalizadas-EEG por máxima verossimilhança**

Trinta e seis lesões se encontravam no pescoço e/ou tronco e 20 nos membros. Não foram encontradas diferenças significantes nos valores da densidade óptica e de GLCM, quando comparadas as duas localizações anatômicas ou os sexos. Por meio da análise histológica dos nevos, às colorações de rotina, 32 lesões foram classificadas como do grupo 1 (morfologia clássica de nevo displásico) e 24 como do grupo 2 (morfologia não clássica de nevo displásico). Os NDs com morfologia não clássica apresentaram valores significativamente menores de contraste ( $P=0,0140$ ) e entropia ( $P=0,0353$ ), comparativamente com os dos NDs com morfologia clássica, refletindo textura mais organizada do colágeno subnévico (Tab. 2).

**Tabela 2 – Análise descritiva e comparação da densidade óptica entre grupos- ausência (grupo 0) e presença (grupo 1) de histórico pessoal de melanoma**

Variável	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo	Valor-p
0	26	5060.664	1500.885	1812.588	5049.108	7727.969	0.0259*
1	29	6531.750	2166.764	2256.083	7114.217	9184.109	

**\* Método das Equações de Estimação Generalizadas-EEG por máxima verossimilhança**

Não foram encontradas diferenças significantes entre os grupos de NDs (clássicos ou não) e a idade, sexo, histórico pessoal e familiar de MC e outros tipos de câncer cutâneo, localização anatômica e dimensões dos nevos. Apenas 5 NDs, todos do tipo 2, se marcaram pelo PRAME, com índice inferior a 5%.

## DISCUSSÃO

Nevos melanocíticos são, por definição, neoplasias benignas, mas se acredita que 50% dos MCs se desenvolvem sobre nevos pré-existent<sup>17</sup>. Os nevos melanocíticos convencionais são comuns, especialmente nos indivíduos de pele clara, mais nas áreas expostas ao sol. Habitualmente são pequenos (menores que 6 mm), possuem borda regular, lisa e bem demarcada, e têm forma redonda ou oval<sup>18,19</sup>. Estas lesões têm cor uniforme, marrom escura ou preta e podem ser pilosas<sup>20</sup>. Eles se desenvolvem na infância e adolescência e, depois, regredem gradualmente, se tornam menos pigmentados, e muitos desaparecem completamente por volta dos 80 anos de idade<sup>21-24</sup>. A idade é considerado o fator de maior importância no declínio do número de nevos e, aparentemente, o grau de exposição solar não tem efeito dessa redução<sup>25</sup>. NDs são pigmentados, com características clínicas e histológicas que se assemelham às dos MCs. Estudos mostram que NDs costumam ser encontrados em áreas fotoexpostas, especialmente no tronco, geralmente têm início na puberdade, com maior prevalência na população de indivíduos com menos de 30-40 anos. Todavia, novas lesões podem surgir ao longo da vida<sup>20</sup>. Neste trabalho, 51 dos 56 NDs estudados foram diagnosticados até os 40 anos de idade, sendo 22 até os 30 anos e 8 até os 20 anos, ou seja, a amostra utilizada reflete essa prevalência em jovens. Em relação à localização dos nevos desta pesquisa, 36 se desenvolveram no pescoço e/ou tronco e 20 em membros, o que também reflete o padrão populacional.

Os nevos displásicos (ou atípicos) têm bordas irregulares, podem ser algo assimétricos quanto à forma, a cor e ao relevo e, geralmente, têm um diâmetro superior a 6 mm<sup>19</sup>. De acordo com o *National Cancer Institute*, indivíduos com essas lesões são mais propensos a desenvolver MCs<sup>2,12, 25,26</sup>. Pacientes com muitos destes nevos devem ser examinados periodicamente por um dermatologista treinado, de preferência, com o auxílio de dermatoscópios e registros fotográficos, para comparação temporal. Toda lesão que muda suas características e continua a crescer, deve ser removida, para afastar a possibilidade de se tratar de um MC que, a princípio, havia sido considerado como nevo displásico<sup>27</sup>. Assim, o prognóstico de MCs em pacientes com muitos nevos displásicos é melhor do que o daqueles pacientes com poucos nevos. Isto se deve principalmente ao fato de que pacientes com muitos nevos estão conscientizados quanto à importância de estar atentos à mudança nas características do que se pensava ser um nevo, buscando ajuda em fase inicial. Isto se mostrou como fator de maior influência neste prognóstico melhor do que as características biológicas intrínsecas dos MCs destes pacientes<sup>28</sup>. Neste trabalho foram estudados os NDs de pacientes que apresentavam muitas destas lesões e que, portanto, vinham sendo acompanhados periodicamente. Toda lesão que se modificava e/ou crescia, era extirpada. Infelizmente muitos dos nevos eram removidos em outro serviço e não tínhamos acesso às amostras cutâneas ou o material das biópsias não estava disponível para recorte. De qualquer forma, 56 lesões foram estudadas, de 15 pacientes e 53% deles haviam desenvolvido MC em alguma fase da vida. Os critérios histológicos mínimos que devem ser obedecidos para o diagnóstico de ND são em certo grau semelhantes às do MC e é necessário que se faça a distinção entre eles. A precisão no diagnóstico de lesões melanocíticas tem melhorado ao longo do tempo<sup>15</sup>, porque os critérios histológicos têm sido bem estudados<sup>16</sup>. Entretanto, distinguir um do outro pode ser difícil pelos métodos atualmente disponíveis<sup>28,29</sup>. Trabalhos que mostram o baixo nível de acurácia e reprodutibilidade inter- e intraobservador<sup>4,29,30</sup> revelam que não existem critérios clínicos, histopatológicos ou moleculares que permitam distinguir NDs de MCs precoces de forma acurada<sup>31</sup> e os erros diagnósticos referentes a isso contribuem com cerca de 10% das mortes de pacientes<sup>32</sup>. Os esforços para melhorar a abordagem clínica destes pacientes devem incluir o uso de um sistema de classificação padronizado, o reconhecimento da incerteza nos relatórios anátomo-patológicos e o desenvolvimento de ferramentas, como sistemas digitais e marcadores moleculares, para apoiar as avaliações visuais dos patologistas. Estudos mostram que nevos de um mesmo paciente tendem a se parecer uns com os outros, e a apresentarem maiores diferenças entre nevos de diferentes pacientes, seja ao exame por ectoscopia ou dermatoscopia. A esse fenômeno dá-se o nome de identidade névica. A partir dessa perspectiva, utiliza-se o termo “sinal do patinho feio”

para referir-se ao nevo com morfologia contrastante aos demais NDs do paciente. Esse conhecimento é utilizado hoje para identificar MCs em fases iniciais e, de fato, é de grande importância para eficácia no diagnóstico de MC, e espera-se, que a análise comparativa entre nevos de um mesmo paciente, usando o “sinal do patinho feio” em sistemas de diagnósticos auxiliados por computador ajude no desempanho<sup>33,34</sup>. Foi dividido, à análise histológica, pelas colorações de rotina, os 56 NDs da amostra em: grupo 1- aqueles com achados característicos deste tipo de nevo e grupo 2- aqueles com maior grau de atipias citoarquiteturais (não clássicos). Oito, dos 15 pacientes, apresentavam ao menos um ND do grupo 2, sendo que 4 NDs eram de pacientes com os maiores números de nevos. Esta forma (não clássica) de ND representaria, na verdade, MCs incipientes, ressecados em fase tratável? Esta é uma indagação que cabe ser formulada, haja vista estes nevos representarem o “patinho feio” dentre as lesões de 3 pacientes. Sob a análise por meio do PSR, observamos que as lesões do grupo 2 exibiam significante maior organização do colágeno que os de padrão clássico. Nos pacientes com histórico pessoal de MC, o colágeno subepidérmico era mais compacto, em relação ao do grupo sem este histórico. Como nos nossos espécimes, Lezcano et. al<sup>7</sup>. e Googe et. al<sup>35</sup>. só encontraram imunorreatividade focal para o PRAME em pouco mais que 10% dos nevos, incluindo os atípicos e displásicos.

## CONCLUSÃO

NDs de indivíduos com história pessoal de MC e NDs de tipo não-clássico, comparados com o grupo controle, apresentam diferenças de textura do colágeno, que pode ser reflexo de diferenças biológicas. O PRAME não é superexpresso em ND em pacientes com risco de melanoma.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.Friedman RJ, Farber MJ, Warycha MA, Papathasis N, Miller MK, Heilman ER. The "dysplastic" nevus. *Clin Dermatol*. 2009;27:103-115.
- 2.Silva JH, Sá BC, Avila AL, Landman G, Duprat Neto JP. Atypical mole syndrome and dysplastic nevi: identification of populations at risk for developing melanoma - review article. *Clinics (Sao Paulo)*. 2011;66:493-499.
- 3.Mooi WJ. The dysplastic nevus. *J Clin Pathol*. 1997;50(9):711-715. doi:10.1136/jcp.50.9.711
- 4.Elmore JG, Barnhill RL, Elder DE, et al. Pathologists' diagnosis of invasive melanoma and melanocytic proliferations: observer accuracy and reproducibility study [published correction appears in *BMJ*. 2017 Aug 8;358:j3798]. *BMJ*. 2017;357:j2813. Published 2017 Jun 28.
- 5.Conklin MW, Eickhoff JC, Riching KM, et al. Aligned collagen is a prognostic signature for survival in human breast carcinoma. *Am J Pathol*. 2011;178:1221-1232.

6. Adur J, Pelegati VB, Costa LF, et al. Recognition of serous ovarian tumors in human samples by multimodal nonlinear optical microscopy. *J Biomed Opt.* 2011;16:096017.
7. Lezcano C, Jungbluth AA, Nehal KS, Hollmann TJ, Busam KJ. PRAME Expression in Melanocytic Tumors. *Am J Surg Pathol.* 2018;42(11):1456-1465.
8. Junqueira LC, Bignolas G, Brentani RR. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem J.* 1979;11:447-455.
9. Montes GS. Structural biology of the fibres of the collagenous and elastic systems. *Cell Biol Int.* 1996;20:15-27.
10. Sweat F, Puchtler H, Rosenthal SI. Sirius Red F3BA as a stain for connective tissue. *Arch Pathol.* 1964;78:69-72.
11. Durgam S, Singh B, Cole SL, Brokken MT, Stewart M. Quantitative Assessment of Tendon Hierarchical Structure by Combined Second Harmonic Generation and Immunofluorescence Microscopy. *Tissue Eng Part C Methods.* 2020;26:253-262.
12. Bevk, M, Kononenko I. A statistical approach to texture description of medical images: a preliminary study. *Proceedings of 15th IEEE Symposium on Computer-Based Medical Systems. CBMS 2002.* Maribor, Slovenia, 2002, pp. 239-244.
13. Haralick RM, Shanmugam K, Dinstein I. Textural Features for Image Classification. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*; vol. SMC-3, no. 6, pp. 610-621, Nov. 1973.
14. Mostaço-Guidolin LB, Ko AC, Popescu DP, et al. Evaluation of texture parameters for the quantitative description of multimodal nonlinear optical images from atherosclerotic rabbit arteries. *Phys Med Biol.* 2011;56:5319-5334.
15. Adur J, Carvalho HF, Cesar CL, Casco VH. Nonlinear optical microscopy signal processing strategies in cancer. *Cancer Inform.* 2014;13:67-76. Published 2014 Apr 2.
16. Brown H, Prescott, R. Applied Mixed Models in Medicine. 2<sup>a</sup> ed. John Wiley & Sons Ltda. 2006; Inglaterra.
17. Sam AH, Sam JTH. *Rapid medicine.* London: Wiley; 2011.
18. Rajendran R. Benign and malignant tumors of the oral cavity. In: Rajendran R, Sivapathasundharam B, editors. Shafer's textbook of oral pathology. 6. Noida: Elsevier; 2009.
19. Tripp JM, Kopf AW. Dysplastic nevus (atypical mole). In: Marghoob AA, Braun RP, editors. *Atlas of dermoscopy.* London: Taylor and Francis; 2004.
20. Buxton PK, Morris-Jones R. ABC of dermatology. 5. Chichester: Blackwell; 2009.
21. Melanomas. *National Cancer Institute.* <http://www.cancer.gov/cancertopics/types/melanoma>. Accessed September 2012.

22. Jorh RH, Schachner LA. Nevocellular (melanocytic) nevi. In: Finberg L, Kleinman RE, editors. *Saunders manual of pediatric practice*. Philadelphia: Saunders; 2002.
23. Bataille V, Snieder H, MacGregor AJ, Sadieni P, Spector TD. Genetics of risk factors for melanoma: an adult twin study of nevi and freckles. *J Natl Cancer Inst*. 2000;93:457–463.
24. Carton J, Daly R, Ramani P. Clinical pathology. Oxford: Oxford University Press; 2007.
25. Nicholls EM. Development and elimination of pigmented moles and the anatomical distribution of primary malignant melanoma. *Cancer*. 1973;32:191–195.
26. Kennedy C, Bajdik CD, Willemze R, De Gruijl FR, BouwesVavinck JN. The influence of painful sunburns and lifetime sun exposure on the risk of actinic keratoses, seborrheic warts, melanocytic nevi, atypical nevi and skin cancer. *J Inv Dermatol*. 2003;120:1087–1093.
27. Melanoma Foundation. <http://www.melanomafoundation.org/prevention/abcd.htm>. Accessed September 2012.
28. Bierhoff E. Dysplastischer melanocytärer Nävus [Dysplastic melanocytic nevus]. *Pathologe*. 2015;36:46-52.
29. Martin-Gorgojo A, Requena C, Garcia-Casado Z, Traves V, Kumar R, Nagore E. Dysplastic vs. Common Naevus-associated vs. De novo Melanomas: An Observational Retrospective Study of 1,021 Patients. *Acta Derm Venereol*. 2018;98:556-562.
30. de Wit PE, van't Hof-Grootenboer B, Ruiter DJ, et al. Validity of the histopathological criteria used for diagnosing dysplastic naevi. An interobserver study by the pathology subgroup of the EORTC Malignant Melanoma Cooperative Group. *Eur J Cancer*. 1993;29A:831-839.
31. Nobre AB, Piñeiro-Maceira J, Luiz RR. Analysis of interobserver reproducibility in grading histological patterns of dysplastic nevi. *An Bras Dermatol*. 2013;88:23-31.
32. Roesch A, Burgdorf W, Stolz W, Landthaler M, Vogt T. Dermatoscopy of "dysplastic nevi": a beacon in diagnostic darkness. *Eur J Dermatol*. 2006;16:479-493.
33. Goldstein AM, Tucker MA. Dysplastic nevi and melanoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2013;22:528-532.
34. Weyers W. Screening for malignant melanoma-a critical assessment in historical perspective. *Dermatol Pract Concept*. 2018;8:89-103. Published 2018 Apr 30.
35. Googe PB, Flanigan KL, Miedema JR. Preferentially Expressed Antigen in Melanoma Immunostaining in a Series of Melanocytic Neoplasms. *Am J Dermatopathol*. 2021 May 11