

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**ESTUDO DOS ASPECTOS DERMATOSCÓPICOS DOS MELANOMAS E SUA
ASSOCIAÇÃO COM A EXPRESSÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DE PD-L1**

RENATA HÜBNER FRAINER

Porto Alegre
2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**ESTUDO DOS ASPECTOS DERMATOSCÓPICOS DOS MELANOMAS E SUA
ASSOCIAÇÃO COM A EXPRESSÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DE PD-L1**

RENATA HÜBNER FRAINER

Orientador: Prof. Dr. Renato Marchiori Bakos

Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção de Mestre em Medicina: Ciências
Médicas, da Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em
Medicina: Ciências Médicas.

Porto Alegre

2020

CIP - Catalogação na Publicação

Frainer, Renata Hübner

Estudo dos aspectos dermatoscópicos dos melanomas e sua associação com a expressão imuno-histoquímica de pd-11 / Renata Hübner Frainer. – 2020.

69 f.

Orientador: Renato Marchiori Bakos.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR-RS, 2020.

1. Melanoma. 2. Neoplasias cutâneas. 3. Dermatoscopia . 4. Imuno-histoquímica . I. Bakos, Renato Marchiori, orient. II. Título.

*À Fernanda e ao Rafael, meus filhos queridos,
com todo o meu amor.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Renato Marchiori Bakos, por ter aceitado esta orientanda, pelo impecável suporte em todas as fases deste projeto e por ser exemplo de dermatologista para toda uma geração.

Ao Dr. André Cartel e ao Dr. Luis Fernando Riveiro, pela colaboração na execução deste trabalho.

Ao Dr. Diego Uchôa pelo auxílio na captura das imagens histológicas.

À Gabriela Remonatto, pela solicitude nas mais diversas etapas da execução deste projeto, possibilitando que o mesmo fosse concluído com êxito.

Ao Diego, à Emily e à Flávia pelo pronto auxílio no preparo das lâminas de anatomopatologia e imuno-histoquímica, peças fundamentais para a concretização do presente estudo.

Aos professores do curso de pós-graduação em ciência médicas da UFRGS, por todos os ensinamentos ao longo deste percurso.

Ao Dr. Joel Schawrtz, por compartilhar seus conhecimentos e por ter exercido importante papel na minha formação como dermatologista, incluindo a realização deste projeto. Obrigada por acreditar em mim.

Aos meus preceptores de dermatologia da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Posto G, pelos anos de convívio fraternal e pelo imenso aprendizado.

A todos os residentes e cursistas de dermatologia do Posto G, por me permitirem aprender com vocês, mesmo quando minha função era ensinar.

Aos pacientes que contribuíram para a existência dos dados que foram utilizados para a realização deste projeto

Ao meu esposo Fabrício pela compreensão e carinho em todos os momentos.

Aos meus pais Paulo e Maria Beatriz e aos meus irmãos Roberto e Mariana, pelo incentivo e afeto incondicionais.

RESUMO

Título: Estudo dos aspectos dermatoscópicos dos melanomas e sua associação com a expressão imuno-histoquímica de PD-L1.

Base teórica

O melanoma apresenta significativa morbi-mortalidade, sendo sua gênese causada por uma série de fatores constitucionais, genéticos e ambientais. A dermatoscopia aumenta significativamente sua acurácia diagnóstica. Além de possuir estreita correlação histológica, alguns achados dermatoscópicos parecem estar relacionados com expressões de BRAF, KIT e NRAS. No entanto, faltam estudos que os associem com expressão de PD-L1.

Objetivo

Avaliar a correlação entre achados dermatoscópicos de melanomas cutâneos primários e a expressão de PD-L1 nesses tumores.

Métodos

Estudo retrospectivo, transversal, no qual foram incluídos todos os pacientes diagnosticados com melanoma cutâneo no serviço de dermatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, entre os anos de 2011 e 2014, que possuíam registro de imagens dermatoscópicas da lesão primária. As imagens dermatoscópicas foram visualizadas por dois dermatologistas e descritas por suas características referentes às cores e às estruturas, consoante a metodologia da análise de padrões e da análise de padrões modificada. Para a análise imuno-histoquímica, foi utilizado o anticorpo primário PD-L1, clone 28-8 e sua expressão foi avaliada quanto à positividade. Finalmente, foi avaliada a associação dos padrões e das estruturas dermatoscópicas com a positividade da expressão imuno-histoquímica.

Conclusão

Um total de 35 pacientes preencheram os critérios de inclusão para o estudo. Destes, 16 (45,71%) eram mulheres, sendo a média de idade no momento do diagnóstico de 64,20 ($\pm 12,33$) anos. O padrão dermatoscópico mais usual foi o multicomponente (14 casos) seguido do padrão reticular (11 casos). A expressão de PD-L1 foi positiva em 8 melanomas. Observou-se uma associação da positividade da expressão com o padrão multicomponente (p.0,039) e inversamente com o padrão reticular (p.0,037). Não houve associação estatística entre PDL-1 e cores e/ou estruturas dermatoscópicas.

Pode-se avaliar de forma inédita os achados dermatoscópicos de melanomas com a expressão de PD-L1, demonstrando que esta pode estar relacionada com padrão mais

heterogêneo de apresentação do tumor. Novos estudos precisam ser conduzidos para corroborar e explicar estas conclusões.

Palavras-chave: melanoma, dermatoscopia, neoplasias cutâneas, imuno-histoquímica.

ABSTRACT

Title: Dermoscopic features of melanoma and association with immunohistochemical screening for PD-L1.

Background

Melanoma is associated with significant morbidity and mortality rates. It is caused by a combination of constitutional, genetic and environmental factors. Dermoscopy is a highly accurate diagnostic method for melanoma. In addition to a close correlation with histological findings, dermoscopic features appear to be associated with BRAF, KIT and NRAS expression. However, few studies have investigated its association with PD-L1 expression.

Objective

To assess the correlation between the dermoscopic features of primary cutaneous melanoma and PD-L1 expression in tumor cells.

Method

This was a retrospective cross-sectional study of all patients diagnosed with cutaneous melanoma in the dermatology service of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre between 2011 and 2014, whose records included dermoscopic images of the primary tumor. Dermoscopic images were reviewed by two dermatologists, who described the colors and structures of each lesion based on pattern analysis and modified pattern analysis. Immunohistochemical analysis was conducted using the PD-L1 antibody clone 28-8 to detect PD-L1 positivity. The association between immunohistochemical findings and dermoscopic patterns and structures was then investigated.

Results

A total of 35 patients met inclusion criteria for the study. Sixteen (45.71%) patients were women, and the mean age at diagnosis in the sample was 64.20 (± 12.33) years. The multicomponent pattern was the most common in the sample, occurring in 14 cases. This was followed by the reticular pattern, seen in 11 cases. Eight cases tested positive for PD-L1 expression. This finding was positively associated with a multicomponent pattern ($p = 0.039$) and negatively associated with the reticular pattern ($p = 0.037$). The associations of PD-L1 expression and other dermoscopic structures or colors were not significant.

Conclusions

This study provides novel insights into the dermoscopic features of melanomas with PD-L1 expression. The results suggest that PD-L1 positivity may be more frequent in tumors with a heterogeneous clinical presentation. Further studies are required to corroborate and

explain these findings.

Keywords: melanoma, dermoscopy, skin neoplasms, immunohistochemistry.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

- Figura 1:** Estratégias para localizar e selecionar as informações. Prisma *Flow Diagram* 17
- Figura 2:** Algoritmo de lesões pigmentadas baseado na análise de padrões 28
- Figura 3:** Processo diagnóstico de uma lesão clinicamente suspeitas de melanoma e a identificação da expressão de PD-L1 34

ARTIGO

- Figure 1:** Dermoscopic image of melanoma and correlated PD-L1 positive immunohistochemical 50

APÊNDICE

- Figura A1:** Imagem dermatoscópica de melanoma cutâneo 60
- Figura A2:** Imagem dermatoscópica de melanoma cutâneo 61
- Figura A3:** Imagem clínica de melanoma cutâneo 62
- Figura A4:** Imagem dermatoscópica de melanoma cutâneo 63
- Figura A5:** Imagem clínica de melanoma cutâneo 64
- Figura A6:** Imagem dermatoscópica de melanoma cutâneo 65
- Figura A7:** Imagem dermatoscópica de lesão melanocítica benígna 66
- Figura A8:** Imagem dermatoscópica de lesão melanocítica benígna 66

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DA LITERATURA

Tabela 1: Critérios dermatoscópicos para aplicação da Regra dos 7 pontos.....	25
Tabela 2: Critérios dermatoscópicos para aplicação do Método de Menzies	26
Tabela 3: Critérios dermatoscópicos para aplicação da Regra do ABCD.....	26
Tabela 4: Critérios dermatoscópicos para aplicação do Algoritmo CASH.....	27
Tabela 5: Estadiamento TNM baseado na 8ª versão da AJCC.....	30

ARTIGO

Table 1: Clinical, histopathologic and dermoscopic data of melanoma patients with positive PD-L1 immunohistochemical expression.....	51
Table 2: Association between dermoscopic patterns and structures, and the immunohistochemical expression of PD-L1	51
Table 3: Association between immunohistochemical expression of PD-L1 and dermoscopy-based color descriptors	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AJCC	<i>American Joint Committee on Cancer</i> (Comitê Americano Conjunto sobre o Câncer)
AKT	<i>Protein kinase B</i> (proteína quinase B)
BRAF	<i>Proto-onco-gene v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1</i> (homólogo B1 do oncogene viral do sarcoma murinho proto-onco-gene v-raf)
CD4	<i>Cyclin-dependent kinase 4</i> (quinase dependente da ciclina 4)
CD8	<i>Cyclin-dependent kinase 8</i> (quinase dependente da ciclina 8)
CI	<i>Confidence interval</i> (intervalo de confiança)
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> (ácido desoxirribonucleico)
ERK	<i>Extracellular-signal related kinases</i> (quinases reguladas por sinal extracelular)
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
HMB45	<i>Human melanoma black-45</i> (melanoma humano preto-45)
INCA	Instituto Nacional do Câncer
KIT	<i>Receptor tirosina kinase</i> (receptor tirosina quinase)
LMM	<i>Lentiginous malignant melanoma</i> (melanoma lentigo maligno)
M	<i>Distant metastasis</i> (Metástase à distância)
MAPK	<i>Mitogen-activated protein kinase</i> (proteína-quinase ativada por mitógeno)
MART	<i>Melanoma antigen reconized by T cell 1</i> (antígeno de melanoma reconhecido pela célula T1)
MCR1	<i>Melanocortin recepto 1</i> (receptor da melanocortina 1)
MEK	<i>Mitogen-activated protein kinase</i> (proteína quinase ativada por mitógeno)
Melan-A	<i>Protein melan-A or melanoma antigen recognized by T cells 1 or MART-</i> (antígeno de melanoma reconhecido pelas células T)
MES	<i>Superficial spreading melanoma</i> (melanoma de espalhamento superficial)
NMM	<i>Nodular malignant melanoma</i> (melanoma nodular)
N	<i>Regional linphatic metastasis</i> (metástase linfática regional)
NRAS	<i>Neuroblastoma RAS viral oncogene homolog</i> (homólogo do oncogene viral de neuroblastoma RAS)
OR	<i>Odds ratio</i> (razão de chances)
PD-1	<i>Checkpoint receptor programmed cell death-1</i> (receptor de morte celular programada 1)
PD-L1	<i>Programmed cell death ligand-1</i> (ligante de morte programada 1)
PD-L2	<i>Programmed cell death ligand-2</i> (ligante de morte programada 2)
PI3K	Osfoinositídeo 3-quinases

PTEN	<i>Phosphatase and tensin homolog</i> (homólogo da fosfatase tensina)
RAF	<i>Proto-oncogene serine/threonine-protein kinase</i> (serina/treonina-proteína quinase)
RAS	<i>Rat sarcoma</i> (sarcoma de rato)
RUV	<i>Ultraviolet radiation</i> (radiação ultravioleta)
T	<i>Primary tumor</i> (tumor primário)
TILs	<i>Tumor lymphocyte infiltrate</i> (infiltrado linfocitário tumoral)
UICC	<i>Union for International Cancer Control</i> (União Internacional de Controle do Câncer)
UV	<i>Ultraviolet</i> (ultravioleta)
UVA	<i>Ultraviolet A</i> (ultravioleta A)
UVB	<i>Ultraviolet B</i> (ultravioleta B)
UVC	<i>Ultraviolet C</i> (ultravioleta C)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 Estratégias para localizar e selecionar as informações	16
2.2 Melanomas: aspectos gerais	18
2.3 Melanomas: aspectos epidemiológicos e clínicos	18
2.4 Melanomas: fatores de risco	20
2.5 Melanomagênese	21
2.6 Dermatoscopia	22
2.7 Diagnóstico histológico	29
2.8 Imuno-Histoquímica e PDL-1	30
2.9 Dermatoscopia e PD-L1 em melanoma	33
3. MARCO CONCEITUAL	34
4. JUSTIFICATIVA	35
5. OBJETIVOS	36
5.1 Objetivo primário	36
5.2 Objetivos secundários	36
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
7. ARTIGO	45
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	58
9. PERSPECTIVAS FUTURAS	59
APÊNDICE A - Achados dermatoscópicos em lesões melanocíticas	60
ANEXO A - Adaptação da análise de padrões, segundo Pehamberger	67

1. INTRODUÇÃO

O melanoma maligno é um dos tumores cutâneos mais agressivos.(1,2) É o 5º tipo mais comum de câncer,(3) a segunda causa da doença em adultos jovens (15-29 anos) nos Estados Unidos e a oitava causa de mortes por câncer na Austrália,(4) levando a cerca de 55.500 mortes por ano no mundo.(5) É um tumor originário dos melanócitos, que são as células responsáveis pela produção de melanina.(4) A maioria ocorre na pele (91%),(3) embora possa ocorrer também, de maneira primária, em diversos outros tecidos. Em estágios iniciais, os melanomas localizados têm taxa de 90% de sobrevida em 5 anos (3) e a invasão regional e a doença metastática conferem um prognóstico pior,(3,6) sendo a última com uma sobrevida estimada de 6-10 meses.(1)

Participam da patologia do melanoma, tanto fatores ambientais quanto fatores dependentes do indivíduo. Dentre os ambientais, o principal é a exposição à radiação ultravioleta (RUV),(7) particularmente de forma intermitente e com início na infância.(8) Já os relacionados ao indivíduo, estão as mutações genéticas, que conferem ao seu portador maior chance de desenvolver melanoma devido, entre outros fatores, a resistência na apoptose.(9) Cerca de 10% dos casos ocorrem em pessoas que têm dois ou mais familiares próximos afetados, indicando baixa prevalência e alta penetrância dos genes envolvidos.(10) Uma metanálise com 16.180 integrantes encontrou um risco significativamente maior de desenvolver melanoma em pessoas de pele clara, que tem exposição solar (risco relativo de 1.78 com exposição ocasional contra 2.78 no caso de exposição usual).(11) São considerados fatores de risco para o desenvolvimento de melanoma, as seguintes características: gênero masculino, idade avançada, história familiar de melanoma, presença de nevos displásicos (atípicos), múltiplos nevos (>100), pele clara, história de queimaduras solares e de câncer de pele e bronzamento artificial.(4,7)

O diagnóstico do melanoma cutâneo é realizado a partir da suspeita clínica do médico dermatologista quando esse visualiza lesão pigmentar (ou não pigmentar) em desconformidade com os demais, a olho nu, ou quando encontra estruturas ou padrões no exame dermatoscópico que elevam a probabilidade diagnóstica. A dermatoscopia é o exame dermatológico com maior aplicabilidade prática na detecção do câncer de pele. É realizada através de um aparelho que utiliza lentes com potencialidade de amplificar estruturas da lesão entre 10-100x, permitindo sua visualização até a derme papilar. Os critérios dermatoscópicos para diagnóstico do melanoma têm sido cada vez mais estudados e elaborados, aumentando a sensibilidade e a especificidade do exame, principalmente para dermatologistas bem treinados.(4)

Alguns achados dermatoscópicos parecem se relacionar com a presença de mutações de potencial oncogênico encontradas na melanomagênese, como por exemplo, *Proto-onco-gene v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1* (BRAF), *receptor tirosina kinase* (KIT) e *Neuroblastoma RAS viral oncogene homolog* (NRAS). Sabe-se também que a resposta imune adaptativa do hospedeiro ao tumor também é importante para o controle da doença

Avanços na terapia do melanoma metastático têm sido alcançados, embora ainda permaneça sendo um desafio.(12) A imunoterapia utilizando agentes anti-PD-L1, importante receptor celular para controle da ativação imune anti-tumoral, é exemplo deste avanço.(2) Pouco se sabe sobre a presença da expressão de PD-L1 (*programmed cell death ligand-1*) em melanomas primários.

2. REVISÃO DA LITERATURA

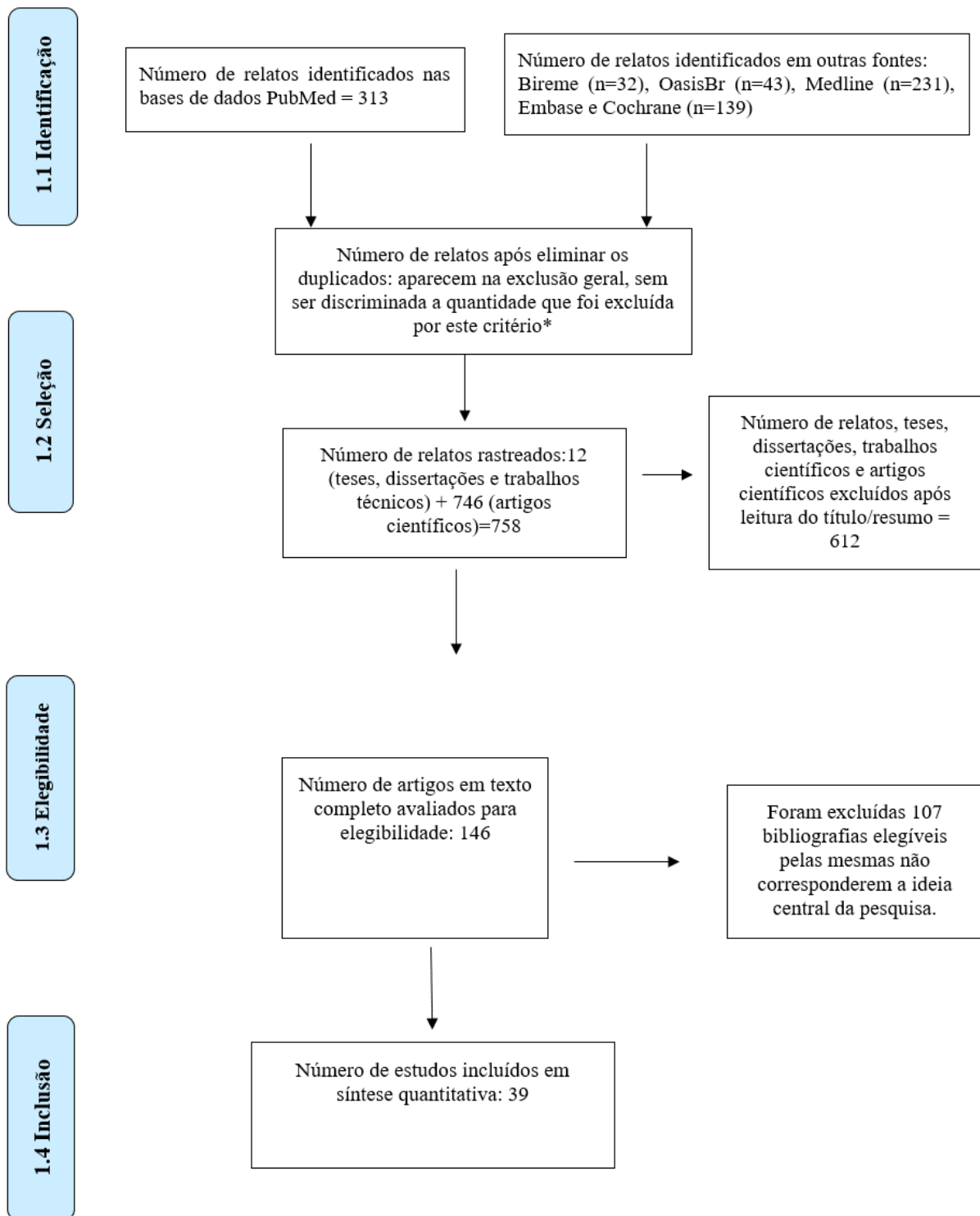
2.1 Estratégias para localizar e selecionar as informações

A revisão de literatura teve como base a relação entre dermatoscopia dos melanomas cutâneos e achados em exames imuno-histoquímicos e/ou PD-L1, além de buscar traduções práticas dos achados dermatoscópicos dos melanomas cutâneos e o papel do PD-L1 nesses.

A estratégia de busca envolveu especialmente, as bases de dados Embase e PubMed, no período compreendido entre 2005 e 2020, observando-se os acrônimos PICO (onde “P” é melanoma cutâneo, “I”, dermatoscopia, “C” PD-L1/imuno-histoquímica e o “O” associação de PD-L1 com dermatoscopia). Foram realizadas buscas através dos termos “*melanoma*” OR “*malignant melanoma*” AND “*dermatoscopy*” OR “*epiluminescence dermoscopy*” AND “*immunohistochemistry*” AND/OR “*PD-L1*” OR “*PD-L1 protein*”

Além das buscas pelas bibliotecas virtuais, livros clássicos da literatura dermatológica foram incluídos.

Figura 1: Estratégias para localizar e selecionar as informações. *Prisma Flow Diagram*



Fonte: Elaborado pelo autor.

2.2 Melanomas: aspectos gerais

O melanoma é um tumor maligno que surge a partir dos melanócitos, células embriologicamente originárias da crista neural, sendo a pele seu principal sítio primário. Eles estão presentes na epiderme basal e nos folículos pilosos, além das mucosas, das meninges, da camada coróide do olho e da estria vascular na cóclea.(3,4,7,13-16) O melanoma é caracterizado por marcada tendência a disseminação metastática precoce.(17,18) Sua resistência terapêutica é reconhecida e seu prognóstico ainda é temerário,(18) embora resultados clínicos encorajadores de alguns tratamentos inovadores tenham sido apresentados.(17)

2.3 Melanomas: aspectos epidemiológicos e clínicos

No cenário mundial, cerca de 232.100 (1-7%) de todos os novos casos de cânceres primários por ano (não contabilizando os cânceres de pele não melanoma), são causados pelo melanoma cutâneo e correspondem a 55.000 mortes pela doença (0,7% de todas as mortes por câncer).(2,5) A incidência deste, que vem aumentando mais rapidamente que outros tumores sólidos, e sua mortalidade, são diferentes nos diversos locais do mundo.(10,12,19)

Dados de 2018 apontaram 7.407 (1,3%) novos casos de melanoma no Brasil, ocupando o vigésimo lugar em frequência por tipo de câncer e sendo responsável por 2.078 (0,85%) mortes por essa patologia. Na Austrália, o melanoma ocupou o 3 lugar no *ranking* dos cânceres mais prevalentes, com 14.260 (7,2%) novos casos e 1.602 (6,6%) mortes. Na Alemanha, o 6º lugar em frequência, com 31.432 casos novos (5,2%) e 3.641 (1,5%) mortes. Nos Estados Unidos, o 7º lugar em frequência, com 71.434 (3,4%) casos novos e 9.491 (1,5%) mortes.(20) Entre os anos de 1982 e 2011, a incidência de melanoma duplicou nesse país e os números esperados para 2020 abrangem 100.350 novos casos e 6.850 mortes pela doença. Segundo estimativas do Instituto Nacional do Câncer (INCA), em 2020 o Brasil terá 8.450 novos casos de melanoma, sendo 4.200 em homens e 4.250 em mulheres. Esses valores correspondem a um risco estimado de 4,03 casos novos a cada 100 mil homens e 3,94 para cada 100 mil mulheres. Na Região Sul, o câncer de pele melanoma é mais incidente quando comparado com as demais Regiões, para ambos os sexos.(21)

Justifica-se o quadro de crescente incidência, principalmente, pelo aumento da exposição solar (especialmente a intensa e intermitente), pois ela desenvolve papel mutagênico na gênese da doença (10) e pelo período latente desde o início da carcinogênese do melanoma até a apresentação clínica, que pode demorar décadas.(10)

O desenvolvimento do melanoma é resultante de múltiplas e progressivas alterações no DNA celular, que podem ser causadas por ativação de proto-oncogenes, por mutações ou deleções de genes supressores tumorais ou por alteração estrutural dos cromossomos.(7,13-15)

A transformação e progressão do melanoma, a partir de um nevo, pode seguir um modelo identificado em cinco etapas histologicamente distintas: nevos comuns, nevos atípicos, melanoma de crescimento radial, melanoma de crescimento vertical e melanoma metastático.(22) Este modelo não é consensual, uma vez que mais de 70% dos melanomas podem ocorrer *de novo* na pele.(23-26) Além disso, a própria existência do nevo atípico é questionada por alguns. Ackerman defendia que a maioria dos melanomas não teriam nevos precursores e que o nevo atípico/displásico seria um outro tipo de nevo mais frequente.(26,27)

Os melanomas cutâneos primários são tipicamente categorizados por achados clínico-patológicos e são divididos principalmente em 4 variantes: o melanoma de espalhamento superficial, o lentigo maligno melanoma, o melanoma lentiginoso acral e o melanoma nodular (28). Há outras variantes menos frequentes. A seguir os principais achados dos subtipos mais significativos de melanoma serão descritos:

Melanoma de espalhamento superficial (MES) – Esse é um dos grandes responsáveis pelo aumento da incidência do melanoma, representando em alguns países, mais de 70% desse tipo de câncer de pele.(29) É o subtipo mais frequente entre os indivíduos de pele clara e pode ocorrer em qualquer parte do tegumento, embora haja uma maior prevalência no tronco posterior dos homens e nos membros inferiores das mulheres, corroborando com a ideia de que o mesmo esteja relacionado à exposição solar intermitente quando das práticas de lazer.(30) Este subtipo de melanoma apresenta duas fases distintas de crescimento. A primeira fase, que dura de 1 a 5 anos é a fase de crescimento horizontal, aumentando a superfície do tumor e a segunda, de crescimento vertical, onde ocorre a invasão da derme, com maior poder de penetração tumoral.(31) O reconhecimento clínico do MES pode ser facilitado pela presença de bordas irregulares, assimetrias e multiplicidades de cores.(32) Ele pode apresentar: rede atípica, véu azul-esbranquiçado, padrão vascular atípico, pontos/glóbulos irregulares, estrias irregulares, manchas irregulares e estruturas de regressão.(33)

Melanoma nodular (NMM) – é um melanoma invasivo, com fase de crescimento radial ausente ou efêmera e predomínio da fase vertical, representando invasão dérmica precoce. É responsável por 14% dos melanomas invasivos e é caracterizado por um nódulo de crescimento rápido, algumas vezes ulcerado, com um padrão de pigmentação assimétrica ou sem qualquer pigmento, nesse último caso, correspondendo ao melanoma amelanótico.(29) O tronco costuma ser a área de predileção desse tumor, que também está relacionado com

exposição solar intermitente.(34,35)

Lentigo maligno melanoma (LMM) – Os melanomas lentigos malignos são os tumores presentes na pele com fotodano crônico, normalmente na face e em idosos. Faz diagnóstico diferencial, principalmente com queratose seborreica plana e queratose actínica pigmentada.(29) Seu crescimento é lento e insidioso, podendo permanecer em sua fase radial por até 15 anos.(35,36)

Melanoma acral – Também conhecido como lentiginoso-acral, representa cerca de 10% de todos os melanomas, sendo o mais comum nas populações negras e asiáticas.(29) Não parece ter relação com a fotoexposição e tem predileção pelas regiões palmo-plantares.(31,37)

2.4 Melanomas: fatores de risco

Os fatores de risco estabelecidos para o desenvolvimento do câncer de pele melanoma podem ser divididos em constitucionais e ambientais. Nos primeiros, incluem-se a presença de nevos displásico/atípicos, a história pessoal de melanoma e as características fenotípicas que incluem cabelos, olhos e pele claros, além de história pessoal de câncer de pele não melanoma.(2,5,38) Dentre os ambientais, destacam-se a exposição à radiação ultravioleta e as subsequentes queimaduras originárias dela, além das fontes artificiais como as câmaras de bronzeamento, especialmente antes do 35 anos de idade.

Uma revisão sistemática que incluiu 34 *guidelines* de 20 países evidenciou que as características mais importantes para a suscetibilidade de desenvolver melanoma são: presença de múltiplos nevos melanocíticos, de nevos displásicos e história pessoal ou familiar de melanoma.(39) Susceptibilidade genética pode ser considerada nos casos de pacientes que apresentem mais de um melanoma, familiares com história de melanoma ou ainda, membros da família com história de melanoma e câncer de pâncreas.(5,39)

A exposição solar está intimamente relacionada ao desenvolvimento do melanoma, em particular, a intensa e intermitente (com histórico típico de queimadura solar) sendo considerado o fator de risco mais importante para a doença, já evidenciada por diversos estudos, pois é conhecida por induzir mutações carcinogênicas e suprimir certos aspectos do sistema imunológico.(15,19,40)

A Radiação ultravioleta (UV) pode ser dividida de acordo com o comprimento de onda, em ultravioleta C (UVC), ultravioleta A (UVA) e ultravioleta B (UVB) e, embora a radiação UVA seja mais abundante, a UVB é cerca de 1.000 vezes mais eficiente para causar queimadura na pele e é mais associada ao surgimento do tumor.(19,22) Efeitos indiretos como a produção

de radicais livres resultantes da interação bioquímica com o ultravioleta A e com a melanina, também causam aberrações e mutações genéticas.(5) Diferentes padrões de exposição solar possuem diferentes efeitos no desenvolvimento do melanoma.(22)

Os dados epidemiológicos e moleculares suportam dois mecanismos etiológicos distintos (16):

- a) exposição solar precoce e propensão a nevos, fatores individuais e exposição solar intermitente resultando em mutação BRAF (o *status* mutacional de BRAF é considerado o mais importante fator prognóstico),(2) o que é encontrado em indivíduos jovens quando do diagnóstico, com ausência de fotodano cutâneo, caracterizado por melanoma de espalhamento superficial e localizado no tronco;(5)
- b) exposição solar cumulativa caracterizada por mutações NRAS, sem associação com número de nevos ou nevos remanescentes.(5)

Os fatores de risco genéticos incluem o fenótipo descrito acima e os genéticos propriamente ditos, relatados a seguir.

2.5 Melanomagênese

Os melanomas estão associados a uma das maiores cargas genéticas somáticas.(19) Alterações dos oncogenes BRAF e NRAS, que atuam através da via proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) desempenham

um papel central no desenvolvimento da grande maioria dos nevos e dos melanomas cutâneos.(41) Atualmente se conhece mais de 600 genes relacionados direta ou indiretamente com a patogenia do melanoma, que atuam de maneira complexa e produzem um acúmulo de alterações sequencias, as quais levam ao desenvolvimento do tumor.(9,42)

Os diferentes tipos clínicos dos melanomas, os diferentes sítios anatômicos afetados e os distintos grupos raciais têm diferentes perfis de mutações gênicas (distintos padrões genético-moleculares).(9)

De maneira similar a outros cânceres, a transformação maligna em melanoma segue uma sequência genética que resulta na ativação constitutiva de transdução oncogênica.(5)

O gen RAF (*Proto-oncogene serine/threonine-protein kinase*) é um *protooncogen* (7q34) que codifica uma proteína pertencente a família das proteína kinases serina/treonina, que regula o crescimento, proliferação e a diferenciação celular frente a um estímulo.(9) O BRAF

é o oncogene mais frequentemente mutado no câncer, incluindo o melanoma (20% a 80%) sendo mutação a somática de maior ocorrência, a p.V600E (90%). Acompanha-se geralmente de polimorfismos do MCR1 (*Melanocortin recepto 1*). Um dos fatores que estimula a mutação do BRAF é a radiação ultravioleta e esta mutação altera a cascata RAS-RAF-MEK1/2-ERK1/2, a qual estimula a proliferação e invasão celular.(9)

Os melanomas associados à mutação BRAF têm predileção por áreas de exposição solar intermitente intensa, como tronco e membros e afetam principalmente, pacientes jovens (40 anos ou menos), com grande número de nevos. Ela ocorre mais em mulheres e, em 80% -90% das vezes, é resultado da substituição de um único aminoácido no códon 600, o ácido glutâmico por valina (BRAF V600E) no exon 15, ocorrendo de forma predominante nos melanomas extensivos superficiais e nos nodulares.(9,16,43,44) Esta mutação é um achado típico da transformação de nevos benignos (5) e, estudos têm demonstrado que esse é um evento precoce no desenvolvimento do melanoma, o que faz crer na representação de uma via patogênica própria, refletindo em um tipo peculiar de melanoma com fenótipo e clínica distintos.(42,44) Embora pareça não existir diferença entre o diagnóstico do melanoma primário e sua metástase, em paciente portadores ou não de BRAF, alguns trabalhos apontam para uma menor sobrevida em pacientes com doença metastática e essa mutação.(31, 42, 45)

Na família de genes RAS, o NRAS é o gene mais comumente mutado nos melanomas e, 90% de suas mutações, ocorrem em um único códon (Q61). Diferentemente das mutações BRAF, sua frequência foi semelhante em melanomas de diversos sítios anatômicos.(46,47)

Existem mecanismos aberrantes que promovem a progressão e a metástase do melanoma, incluindo o comprometimento do sistema imunológico.(48)

O melanoma é um dos tumores mais imunogênicos, regulado primeiramente pela imunidade inata, a qual é mediada por macrófagos, granulócitos, células dendríticas e células *natural killer*, seguido pelo sistema imune adaptativo, com as células T CD4+ e CD8+.(49) Mutações em PD-1 podem aumentar os pontos de verificação imunológicos, inibindo a função dessas células. Da mesma forma, a regulação positiva dos ligantes PD-L1 e PD-L2 (*Programmed cell death ligand-2*) são outras influências importantes nas células T efetoras.(41)

2.6 Dermatoscopia

A dermatoscopia é um método diagnóstico não invasivo para avaliação de lesões cutâneas que permite visualizar

estruturas com o objetivo de definir suspeita de malignidade. Quando utilizada por médicos experientes, melhora a acurácia diagnóstica de lesões suspeitas de melanoma.(4,50) Novas tecnologias também têm contribuído para o diagnóstico pré-biópsia. Isso inclui a análise de imagens pela inteligência artificial, a imagem corporal total em 3 dimensões, a microscopia confocal, a tomografia de coerência óptica e a recuperação de informações genéticas epidérmicas através de fita adesiva de decapagem.(4)

Embora ofereçam potenciais vantagens, nenhuma é usada regularmente até o momento, exceto a monitorização por fotografia digital.(4)

A dermatoscopia ou microscopia por epiluminescência é um instrumento manual extremamente importante na avaliação de lesões cutâneas.(10) É uma técnica não invasiva que realiza observação *in vivo* de uma lesão, com magnificação e iluminação de estruturas cutâneas, desde a epiderme até a derme papilar, evidenciando a distribuição da melanina e permitindo diferenciar, muitas vezes, outras doenças clinicamente semelhantes ao melanoma, como os carcinomas basocelulares pigmentados e as ceratoses seborreicas.(12,51-56) É uma ferramenta que melhora a acurácia diagnóstica das lesões de pele pigmentadas, conforme bateria de estudos realizados, incluindo 3 meta-análises (57) e que, conseqüentemente, diminui consideravelmente a excisão desnecessária de lesões cutâneas.(52,58) A melhora da sensibilidade e da especificidade do diagnóstico foi de 60% para mais de 90%, provavelmente pelo reconhecimento de achados dermatoscópicos compatíveis e também por aumentar o número de lesões examinadas além do próprio monitoramento desses pacientes.(59-61)

Em 2001, Bafounta e colaboradores realizaram a primeira meta-análise, comparando a eficácia da dermatoscopia com o exame clínico, indicando que, essa, quando realizada por profissional treinado, aumenta a acurácia diagnóstica do melanoma de *odds ratio* (OD) de 16 (95% CI,9-31) no exame a olho nu para 76 (95% CI 25-223) através do dermatoscópio.(40,62)

Um estudo realizado por Argenziano e colaboradores mostrou uma diminuição da necessidade de cirurgias com auxílio de dermatoscopia. Enquanto centros que a utilizavam precisaram remover 8,7 nevos para cada melanoma, centros não especializados removeram 29,4 nevos para cada melanoma em um período de 10 anos.(63) O nível de importância de sua utilização tem crescido e é evidenciado pelo aumento da mesma em 97,8% dos dermatologistas com menos de 5 anos de formação contrastando com 76,2% daqueles com mais de 20 anos de formação.(62)

Análise dermatoscópica: As cores de uma estrutura indicam sua origem, como a amarelada, representando a queratina, a avermelhada representando o sangue ou vasos sanguíneos e a esbranquiçada representando o colágeno. Também sugere a profundidade do

pigmento. A melanina é preta quando localizada no estrato córneo, marrom quando localizada na epiderme profunda e azul quando localizada na derme.(62)

São critérios dermatoscópicos sugestivos do diagnóstico de melanoma: pigmentação assimétrica, assimetria de estruturas, glóbulos/pontos/grumos atípicos ou na periferia distribuídos de forma assimétrica, pseudópodes (estrias irregulares na periferia da lesão), véu branco azulado (áreas de regressão tumoral), área vermelho-leitosa, áreas sem estruturas na periferia, vasos atípicos e polimorfos.(52,64-66) A presença de um ou mais desses achados geralmente está associada a espessura do tumor (Breslow) e as mudanças são menos evidentes nos melanomas superficiais ou *in situ*; a intensidade das mudanças nas lesões e o número de critérios dermatoscópicos em uma lesão pigmentada são inversamente proporcionais ao nível de Breslow do melanoma.(67)

Existem diversas metodologias para a interpretação dos achados dermatoscópicos. A análise de padrões, descrita inicialmente por Pehamberger e colaboradores, em 1987, foi a primeira descrição publicada que relacionou achados dermatoscópicos com melanoma.(38,67,68) A análise de padrões, requer a avaliação simultânea de todas as características mostradas pela lesão e é o método mais utilizado por especialistas em dermatoscopia, pois os mesmos tendem a revisar uma imagem dermatoscópica e chegar a um diagnóstico sem o uso de critérios analíticos estruturados.(50)

Algoritmos alternativos têm sido desenvolvidos, com foco nos principais achados dos melanomas, a fim de auxiliar na interpretação desses, principalmente para iniciantes em dermatoscopia, com o objetivo de facilitar o reconhecimento de um melanoma.(50) Dentre eles, podemos citar a regra dos 7 pontos, o método de Menzies, a regra do ABCD e o Algoritmo CASH.(62) Em 2011, Kittler e colaboradores desenvolveram um algoritmo baseado na análise de padrões, no qual separaram lesões pigmentadas das não pigmentadas e em lesões de qualquer tipo, não necessariamente em lesões melanocíticas, como os métodos anteriores o fizeram.(65). O objetivo do algoritmo foi de simplificar a interpretação dos achados, diminuindo a utilização de vocabulário metafórico.

Regra dos 7 pontos: foi desenvolvida por Argenziano e colaboradores em 1998. Eles dividiram os achados dermatoscópicos em critérios maiores, valendo 2 pontos cada (rede pigmentada atípica, área cinza-azulada e padrão vascular atípico) e menores valendo 1 ponto cada (estrias irregulares, pigmentação irregular, glóbulos e pontos irregulares, e estruturas regredidas). A soma de 3 pontos é sugestiva de melanoma (Tabela 1).(69) Em 2011, Argenziano e colaboradores revisaram a regra dos 7 pontos e a atualizaram em conformidade com a realidade encontrada mais de 10 anos após. Atribuíram 1 ponto para cada critério e utilizaram

como sugestivo de melanoma, o valor de 1.(70)

Tabela 1: Critérios dermatoscópicos para aplicação da Regra dos 7 pontos

Critérios Diagnósticos
<p>Critérios maiores (2 pontos cada)</p> <p>Rede pigmentar atípica</p> <p>Área cinza azulada</p> <p>Padrão vascular atípico</p>
<p>Critérios Menores (1 ponto cada)</p> <p>Estrias irregulares</p> <p>Pigmentação irregular</p> <p>Pontos/glóbulos irregulares</p> <p>Estruturas com regressão</p>

Fonte: Argenziano G, Catricalà C, Ardigo M, Buccini P, De Simone P, Eibenschutz L, et al. Seven-point checklist of dermoscopy revisited. Br J Dermatol. 2011;164(4):785-90.(69)

Método de Menzies: desenvolvido por Menzies e colaboradores em 1996, estabelece que, para uma lesão ser suspeita de melanoma, ela obrigatoriamente precisa mostrar ausência de padrão simétrico e coloração uniforme e simultaneamente exibir pelo menos, um dos seguintes achados: véu branco-azulado, múltiplos pontos marrons, pseudópodes, estrias radiadas, despigmentação cicatricial, pontos/glóbulos periféricos, 5 a 6 cores, múltiplos pontos azul/cinza e rede ampliada (Tabela 2).(71)

Tabela 2: Critérios dermatoscópicos para aplicação do Método de Menzies

Critérios Diagnósticos
Altamente sugestivos de melanoma na ausência de padrão simétrico e uniformidade da coloração
Pelo menos um dos seguintes:
Véu branco azulado
Múltiplos pontos marrons
Pseudópodes
Estrias radiais
Despigmentação tipo cicatricial
Pontos ou glóbulos pretos na periferia
5-6 cores
Múltiplos pontos azul/cinza
Rede espessa

Fonte: Menzies SW, Ingvar C, Crotty KA, McCarthy WH. Frequency and morphologic characteristics of invasive melanomas lacking specific surface microscopic features. Arch Dermatol. 1996;132(10):1178-82.(71)

Regra do ABCD: Nachbar e colaboradores desenvolveram em 1994 a regra do ABCD, sendo o A correspondente a assimetria, o B a borda (padrão de pigmento), o C a variação de coloração e o D a aos 5 diferentes componentes estruturais (que inclui a rede, as áreas homogêneas, os pontos, os glóbulos e as estrias (Tabela 3).(62,72)

Tabela 3: Critérios dermatoscópicos para aplicação da Regra do ABCD

Critérios Diagnósticos	Pontos	Peso do fator
Pontuação total $\geq 5,45$ é altamente sugestiva de melanoma		
Assimetria	0-2	X 1.3
Borda – padrão de pigmentação	0-8	X 0.1
Coloração – variação	1-6	X 0.5
Diferentes – componentes estruturais	1-5	X 0.5

Fonte: Nachbar F, Stolz W, Merkle T, Cognetta AB, Vogt T, Landthaler M, et al. The ABCD rule of dermatoscopy: high prospective value in the diagnosis of doubtful melanocytic skin lesions. J Am Acad Dermatol. 1994;30(4):551-9.(72)

Algoritmo CASH: desenvolvido por Henning e colaboradores em 2007, teve a intenção de auxiliar dermatologistas com menor experiência em dermatoscopia e achados como as cores, desordens arquitetural, simetria e homogeneidade somavam pontos para concluir a suspeição de um melanoma (Tabela 4).(62,73)

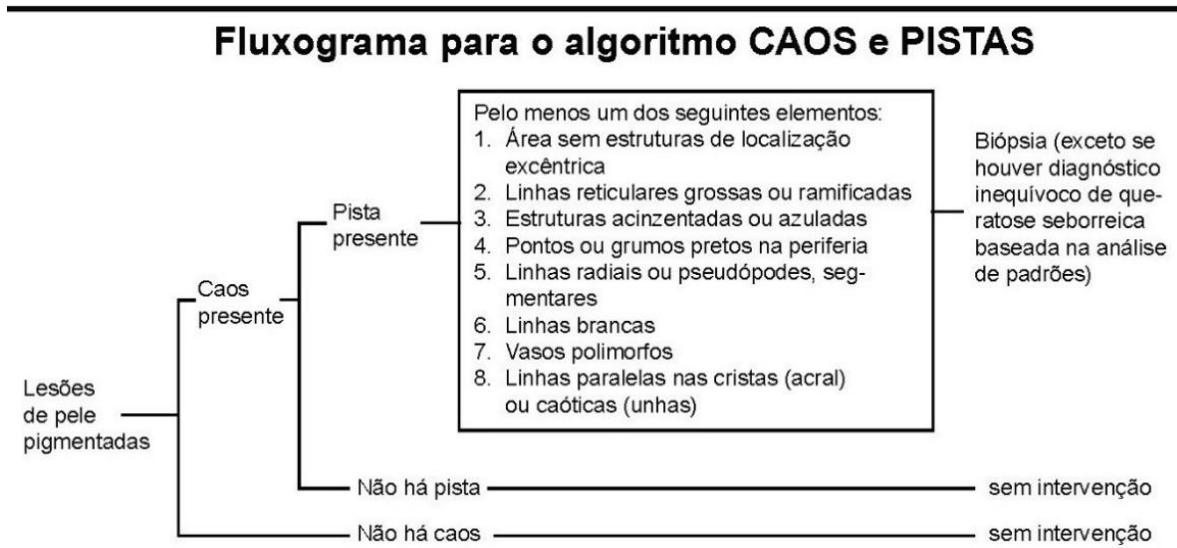
Tabela 4: Critérios dermatoscópicos para aplicação do Algoritmo CASH

Citérios Diagnósticos: Pontuação >8, altamente sugestiva de melanoma
Cor (1 ponto cada)
Marrom clara
Marrom escura
Preto
Vermelho
Branco
Azul
Desordem arquitetural (0-2 pontos)
Simetria (0-2 pontos)
Homogeneidade (1 ponto cada)
Rede atípica
Pontos/glóbulos
Estrias/pseudópodes
Véu branco-azulado
Regressão de estruturas
Manchas/borrões (bloches)
Vasos polimórficos

Fonte: Henning J S, Dusza SW, Wang SQ, Marghoob AA, Rabinovitz HS, Polsky D, et al. The CASH (color, architecture, symmetry, and homogeneity) algorithm for dermoscopy. J Am Acad Dermatol. 2007;56(1):45-52.(73)

Análise de padrões modificada: em 2011, Kittler e colaboradores (65) desenvolveram um método algoritmo baseado na análise de padrões, com o objetivo de diminuir a dificuldade das interpretações metafóricas que a análise de padrões possui, simplificando os critérios dermatoscópicos para a tomada de decisões em lesões suspeitas. Podemos verificar o algoritmo de lesões pigmentadas através da Figura 1.

Figura 2: Algoritmo de lesões pigmentadas baseado na análise de padrões



“Caos” é definido pela assimetria de estrutura ou cor e “Pista” é uma das oito pistas de malignidade (diferente das pistas para um diagnóstico específico)

Fonte: Adaptado de Kittler H, Rosendahl C, Cameron A, Tschandl P. *Dermatoscopia: um método algoritmo baseado na análise de padrões*. São Paulo: Melanoma Signature; 2015.(65)

A comparação desses algoritmos revela abordagens divergentes. A regra do ABCD e o CASH quantificam principalmente a organização geral da lesão, enquanto que a regra dos 7 pontos se baseia na identificação de aparência atípicas de estruturas dermatoscópicas. O algoritmo Caos e Pistas e o método de Menzies, utilizam uma mescla das anteriores.(50)

O trabalho realizado por Carrera e colaboradores citam que os critérios acima não foram devidamente atualizados para estruturas recém-identificadas com alta especificidade para melanomas, como a rede negativa ou estruturas brancas brilhantes.(50,74,75)

São critérios bem estabelecidos de melanomas: Rede pigmentar atípica, rede negativa, pontos/glóbulos atípicos, estrias irregulares, estruturas de regressão, véu branco-azulado, linhas/estrias brancas, manchas atípicas e vasos polimorfos.(76)

Estudos foram realizados traduzindo para a histologia, o significado dos achados dermatoscópicos, pois ela, ao permitir a avaliação in vivo das estruturas da pele abaixo da superfície, oferece uma janela para o diagnóstico histológico de cânceres de pele.(76,77)

Muitas estruturas dermatoscópicas tem correlação histológica,(76) no entanto, esta correlação nem sempre é simples, pois a relação entre elas se dá através das imagens horizontais da dermatoscopia com as verticais da histopatologia.(33) Um estudo realizado por Yadav e colaboradores, reuniram 71 neoplasias pigmentadas, com documentação fotográfica e descreveram algumas dessas lesões, como a rede pigmentar, os glóbulos marrons, os pontos pretos, os borrões/manchas, as áreas hipopigmentadas, as áreas brancas, as cinza-azuladas e o

véu.(77) Alguns anos mais tarde, Soyer e colaboradores descreveram também essa correlação, mas de uma maneira mais padronizada.(78) Sucessivamente, mais estudos surgiram na tentativa de aprimorar os achados. Em 2014, Rstom e colaboradores descreveram correlação entre achados dermatoscópicos e histológicos utilizando a microscopia confocal.(79) Em 2017, Russo e colaboradores publicaram uma revisão sobre o assunto, associada a relatos de suas experiências clínicas, baseando-se na Regra dos 7 pontos.(33)

2.7 Diagnóstico histológico



As lesões clinicamente suspeitas devem ser completamente excisadas com uma margem de poucos milímetros nas laterais do tumor, mas a profundidade deve contemplar o tecido subcutâneo, para que a espessura de Breslow seja devidamente identificada na análise histopatológica, já que é o mais importante indicador prognóstico e guia o tratamento.(4) O exame histopatológico é considerado o padrão ouro para o diagnóstico do melanoma.(12) Devem constar, no laudo do exame anatomopatológico, informações acerca do subtipo histológico, a espessura de Breslow, a qual deve ser resgistrada em milímetros e medida do topo da camada granular ou do topo da úlcera (quando da ausência da primeira) ate a extensão mais profunda da invasão por células tumorais, a ulceração, o índice mitótico, a invasão linfovascular e o angiotropismo, a satelitose/microsatelitose, invasão perineural e neurotropismo, infiltrado linfocitário, regressão, margem, fase de crescimento.(80)

A marca histológica do melanoma de espalhamento superficial é a presença de células pagetóides aleatoriamente espalhadas por todas as camadas da epiderme e agrupamento ou ninhos de grandes melanócitos malignos. Invariavelmente presente, está um infiltrado inflamatório denso composto de linfócitos e outras células mononucleares. Já no melanoma nodular, as invasões intraepidérmica e dérmica são uniformemente coexistentes. As células podem ser epitelióides, fusiformes ou menores e semelhantes a um nevo. A população celular é frequentemente monomorfa. Núcleos bizarros, figuras mitóticas e invasão profunda são a regra.(81)

Após confirmado o diagnóstico de melanoma cutâneo, deve-se realizar o estadiamento do paciente. A oitava versão da *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) (Tabela 5) baseia-se na avaliação do tumor primário (T) no qual, a espessura do Breslow e a ulceração são os maiores fatores de prognóstico (informações obtidas por meio de exame anatomopatológico); a presença ou ausência de metástase linfática regional (N), com o número de linfonodos envolvidos é o segundo fator de maior prognóstico; e a metástase à distância (M),

com o sítio da metástase e a concentração da desidrogenase láctica são os fatores de maior significância prognóstica.(9)

Tabela 5: Estadiamento TNM baseado na 8ª versão da AJCC

Estadiamento TNM		
Classificação tumoral	Espessura (mm)	Ulceração
T1	≤1.0	Ta: sem ulceração
T2	1.1-2.0	Tb: com ulceração
T3	2.1-4.0	
T4	≥4.0	
Classificação nodal	Número de linfodos	Metástase microsatélite
N1	1	Não acessada 
N2	2-3	Não detectada 
N3	>4	Inúmeras comprometidas
Classificação metástases	Local	Desidrogenase láctea sérica
M1a-d	Pele/tecido subcutâneo,	Não avaliado
M1a-d(0)	pulmão, viscera, sistema	Normal
M1a-d(1)	nervoso central	Aumentado

Fonte: Adaptado de Gershenwald JE, Scolyer RA. Melanoma staging: American Joint Committee on Cancer (AJCC) 8th edition and beyond. Ann Surg Oncol. 2018;25(8):2015-10.(82)

2.8 Imuno-Histoquímica e PDL-1

A imuno-histoquímica começou a ser utilizada na patologia cirúrgica nos anos de 1974, após a demonstração de antígenos tissulares pela técnica de imunoperoxidase em tecidos fixados em formalina e incluídos em parafina. Eventos marcantes na evolução da técnica foram a recuperação antigênica e o desenvolvimento de anticorpos monoclonais, os quais propiciaram uma extensa fonte de reagentes altamente específicos para a demonstração de diversos antígenos tissulares ou celulares.(83) A técnica pode ser utilizada nas mais variadas situações, como na elucidação do tecido em uma neoplasia indiferenciada, na subclassificação de linfomas, na pesquisa de fatores prognósticos, na detecção de células neoplásicas metastáticas, entre outros.(83) Neste sentido, ela também representa sua importância no auxílio diagnóstico dos mais difíceis melanomas, tanto primários quanto metastáticos,(84,85) embora a maioria seja diagnosticada com a histologia de rotina. Uma ampla gama de antígenos associados ao

melanoma foram desenvolvidos como reagentes imuno-histoquímicos. Antígenos melanocíticos como o gp100/HMB45, a tirosinase e o melan-A/MART-1 são utilizados para identificar linhagens melanocíticas de outros tipos de tumor, para visualizar a extensão do melanoma e para reconhecer uma mínima região comprometida em uma biópsia de linfonodo sentinela.(84)

A expressão de PD-L1 pode ser reconhecida e medida através da técnica de imuno-histoquímica, que a evidencia, mais frequentemente, em melanócitos malignos e nas células imunes na interface hospedeiro-tumor, em um padrão focal e geograficamente heterogêneo.(86)

O PD-1 (*Checkpoint receptor programmed cell death-1*) é uma proteína encontrada em receptores de células T e é um importante agente na regulação da imunidade. Ele é amplamente expresso nas células hematopoéticas periféricas, incluindo CD4+ e CD8+, células *natural killer*, monócitos, células B e células dendríticas e possui dois importantes ligantes, o PD-L1 e o PD-L2 (*Programmed cell death ligand-2*). Sob condições normais, o PD-L1 é expresso em células T, células B, células dendríticas e células-tronco mesenquimais.(2,87)

O PD-L1 regula a imunidade celular e humoral através do PD-1 nas células T e B ativadas.(2,88) A ligação de PD-L1 a PD-1 suprime a duração e a amplitude da resposta imune através da inibição das células T CD8+ e ativação dos linfócitos regulatórios T CD4+.(88) As células tumorais do melanoma alavancam aberrantemente esse mecanismo, expressando o ligante PD-L1, que afeta a supressão da imunidade antitumoral e promove a fuga imune do tumor, ou seja, o PD-L1 desempenha um papel central na regulação das respostas imunes no microambiente tumoral.(2,17,88) A expressão de PD-L1 na célula tumoral aberrante pode ser induzida por citocinas pró-inflamatórias e por fatores que liberam o infiltrado linfocitário tumoral (TILs). O INF-gama tem sido descrito como uma citocina pró-inflamatória essencial, considerada um dos reguladores importantes da expressão PD-L1. Os linfócitos T CD8+ parecem ser a principal fonte de produção do interferon gama. Esse mecanismo foi definido como mecanismo adaptativo de expressão, no qual o interessante fenômeno de resistência imune adaptativa foi observado.(17) TILs com atividade própria e secretando citocinas no microambiente tumoral podem, paradoxalmente, desencadear a sua própria regulação negativa, provocando a expressão de PD-L1 e seguindo a ligação de PD-1. Os oncogenes também podem desempenhar um papel nesta regulação. As vias mais comuns no melanoma são a MAPK e a PI3K/AKT, incluindo perda de PTEN, as quais funcionam interligadas.(17)

Os melanomas são frequentemente conectados à expressão de PD-L1 e à presença TILs, no entanto, seu impacto no prognóstico permanece controverso.(17)

Numerosos estudos clínicos demonstraram que a expressão de PD-L1 em espécies

tumorais pré- tratamento pode enriquecer a resposta antitumoral em pacientes com melanoma e outros tipos de câncer, chegando a uma taxa de resposta de 50%-60% nos pacientes com expressão positiva de PD-L1 contra 10%-20% de resposta nos pacientes com expressão negativa de PD-L1.(86) Isso traduz que o PD-1 e seu ligante PD-L1 são importantes alvos de imunoterapia e o anticorpo que os bloqueiam resulta em eficácia antitumoral e durabilidade de resposta em melanomas e outros tumores.(86)

Um dos desafios para a detecção da expressão de PD-L1 pré-tratamento é a forma de sua avaliação e interpretação nos estudos. A maioria tem avaliado a imuno-histoquímica de forma cromogênica e tem reportado sua expressão através de porcentagem de células tumorais ou células imunes que a expressam, demonstrando que a intensidade de PD-L1 é diretamente relacionada com o total de células coradas, no entanto, sem padronização, inclusive no que diz respeito à porcentagem das mesmas, embora a maioria utilize as porcentagens $\geq 1\%$ ou $\geq 5\%$ para descrever a positividade da expressão da proteína.(86,89) Madore e colaboradores relatam que o padrão imuno-histoquímico da expressão de PD-L1 é tipicamente heterogêneo e contíguo a áreas com infiltrado linfocitário.(90) Massi e colaboradores, descreve que a expressão de PD-L1 no microambiente tumoral ocorre em focos, principalmente em agregados de células de melanomas em associação com infiltrado tumoral imune (interface ou padrão periférico), mas também pode ocorrer de forma forte e difusa, sem qualquer componente celular inflamatório.(91) Além disso, há diferentes clones utilizados para a detecção, descritos nos ensaios. Com a intenção de verificar se os clones podem ter resultados equivalentes para a detecção da expressão de PD-L1, Sunshine e colaboradores avaliaram os mais utilizados nos estudos recentes, o 5H1, o SP142, o 28-8, o 22C3 e o SP263 e constataram que eles se equivalem na reprodutibilidade de dados.(86) Outro fator limitante na prática da imuno-histoquímica para a expressão de PD-L1 é a diferença de positividade vista entre amostras de melanomas primários e suas correspondentes metástases.(90,92)

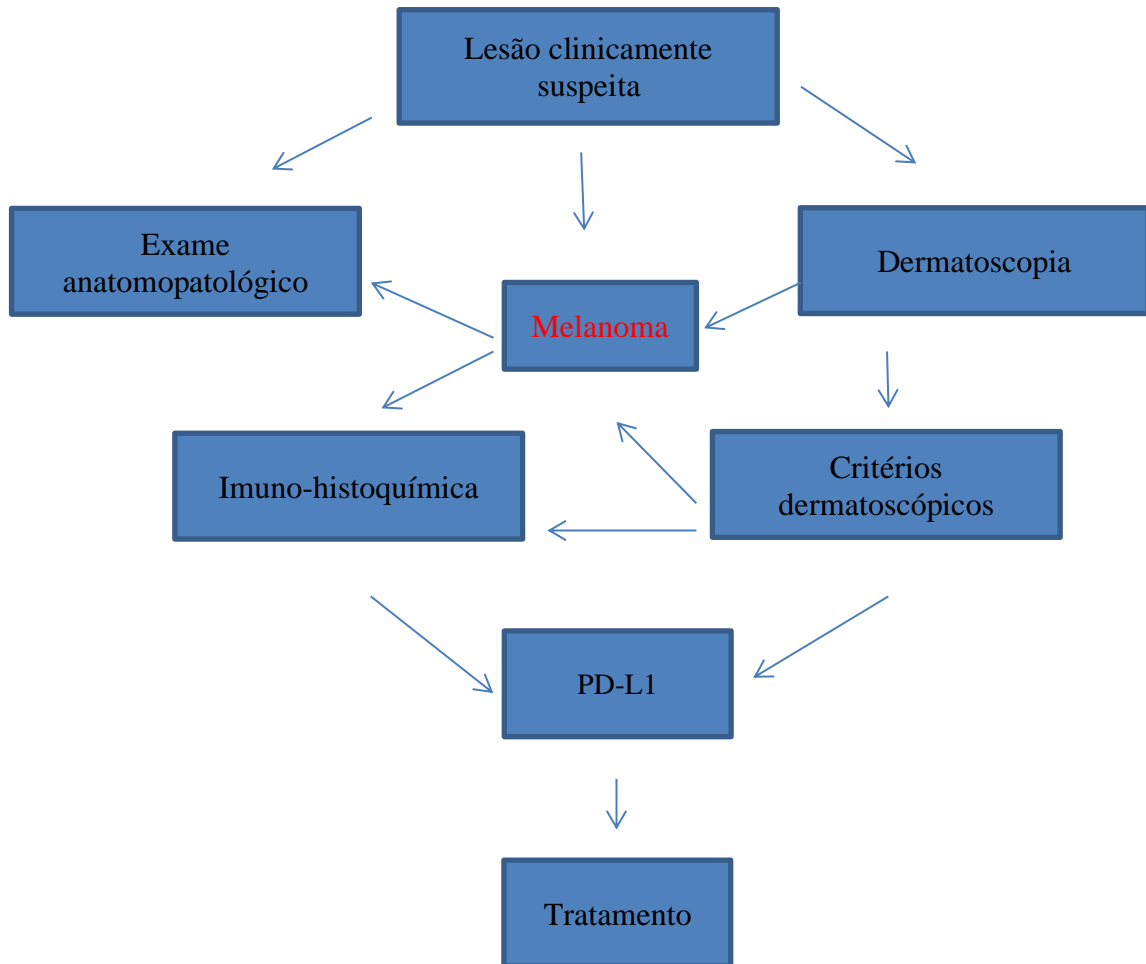
2.9 Dermatoscopia e PD-L1 em melanoma

Alguns estudos avaliaram a correlação entre achados dermatoscópicos e a presença de mutações nos melanomas. Sanchez e colaboradores encontraram a mutação KIT em melanomas com padrão dermatoscópico em faixa preta homogênea quando da avaliação das principais mutações encontradas nesse tumor.(28) Bombonato e colaboradores, avaliaram associação entre dermatoscopia e microscopia confocal e melanomas com mutação BRAF e concluíram que a presença de estrias periféricas irregulares e ulceração são preditores positivos de BRAF.(93) Ainda sobre o BRAF, Armengot-Carbó e colaboradores descreveram que a presença do véu branco-azulado é associado a esse status mutacional e, Pozzobon e colaboradores encontraram que o achado dermatoscópico *peppering*, é associado com mutações na via MAPK (BRAF e NRAS).(94,95)

O reconhecimento das associações entre achados dermatoscópicos e o status mutacional dos melanomas pode auxiliar no melhor reconhecimento de seu comportamento e manejo. Até o presente momento, ainda não há estudos fazendo esta correlação coma expressão de PD-L1.

3. MARCO CONCEITUAL

Figura 3: Processo diagnóstico de uma lesão clinicamente suspeitas de melanoma e a identificação da expressão de PD-L1



Fonte: Elaborado pelo autor.

As lesões cutâneas clinicamente suspeitas necessitam ser avaliadas através da dermatoscopia a fim de ser procurar critérios diagnósticos que possam prever seu potencial de malignidade. Em caso positivo, a mesma é removida de forma cirúrgica para análise anatomopatológica, com a finalidade de confirmação de seu status. Através da imuno-histoquímica realizada nessa peça cirúrgica, há como avaliar a expressão de PD-L1, que é um importante regulador tumoral e, em função de sua importância, tem sido alvo de tratamento nos casos de melanoma avançado. A dermatoscopia, ferramenta indispensável para avaliação de lesões suspeitas, se estudada para este fim, poderá ter a possibilidade de auxiliar na identificação de tumores que expressam o PD-L1.

4. JUSTIFICATIVA

O melanoma é um tumor maligno derivado dos melanócitos que vem apresentando crescente incidência em todo o mundo. Diante desse cenário e da importância da identificação do mesmo, a fim de se buscar a cura do tumor e de aumentar a sobrevida, estudos têm sido aprofundados tanto em relação aos métodos diagnósticos quanto acerca dos tratamentos para os casos mais avançados.

A dermatoscopia ocupa papel fundamental na identificação de lesões suspeitas de melanoma e até o momento, existem critérios bem definidos para reconhecimento do melanoma. Achados dermatoscópicos também têm sido relacionados ao status mutacional desses tumores. Nesse sentido, compreende-se que a dermatoscopia possa fornecer pistas valiosas a respeito de outras características que influenciam no comportamento do melanoma, como a expressão de PD-L1, a qual pode auxiliar na condução da escolha do tratamento.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo primário

Avaliar a correlação entre achados dermatoscópicos de melanomas cutâneos primários e a expressão imuno-histoquímica de PD-L1.

5.2 Objetivos secundários

Avaliar correlação entre positividade de PD-L1, índice de Breslow, sexo, idade e localização tumoral.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Franklin C, Livingstone E, Roesch A, Schilling B, Schadendorf D. Immunotherapy in melanoma: recente advances and future directions. *Eur J Surg Oncol*. 2017;43(3):604-11.
2. Yang J, Dong M, Shui Y, Zhang Y, Zhang Z, Mi Y, et al. A pooled analysis of the prognostic value of PD-L1 in melanoma: evidence from 1062 patients. *Cancer Cell Int*. 2020;20:96.
3. Moran B, Silva R, Perry AS, Gallagher WM. Epigenetics of malignant melanoma. *Semin Cancer Biol*. 2018;51:80-8.
4. Hartman RI, Lin JY. Cutaneous melanoma: a review in detection, staging, and management. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2019;33(1):25-38.
5. Schadendorf D, Van Akkooi ACJ, Berking C, Griewank KG, Gutzmer R, Hauschild A, et al. Melanoma. *Lancet*. 2018;392(10151):971-84.
6. An Q, Liu Z. Comparative efficacy and safety of combination therapies for advanced melanoma: a network meta-analysis. *BMC Cancer*. 2019;19(1):43.
7. Peterson M, Albertini MR, Remington P. Incidence, survival, and mortality of malignant cutaneous melanoma in Wisconsin, 1995-2011. *WMJ*. 2015;114(5):196-201.
8. Helvind NM, Hölmich LR, Smith S, Glud M, Andersen KK, Dalton SO, et al. Incidence of in situ and invasive melanoma in Denmark from 1985 through 2012: a national database study of 24,059 melanoma cases. *JAMA Dermatol*. 2015;151(10):1087-95.
9. González VM. Genes de predisposición al melanoma: melanoma familiar. *Dermatol Argent*. 2010;16(5):327-36.
10. Eggermont AMM, Spatz A, Robert C. Cutaneous melanoma. *Lancet*. 2014;383(9919):816-27.
11. Caini S, Gandini S, Sera F, Raimondi S, Fagnoli MC, Boniol M, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma according to anatomical site and clinico-pathological variant. *Eur J Cancer*. 2009;45(17):3054-63.
12. Ungureanu L, Senila S, Danescu S, Rogojan L, Cosgarea R. Correlation of dermatoscopy with the histopathological changes in the diagnosis of thin melanoma. *Rom J Morphol Embryol*. 2013;54(2):315-20.
13. Huang EH, Heidt DG, Li CW, Simeone DM. Cancer stem cells: a new paradigm for understanding tumor progression and therapeutic resistance. *Surgery*. 2007;141(4):415-19.
14. Quintana E, Shackleton M, Sabel MS, Fullen DR, Johnson TM, Morrison SJ. Efficient tumour formation by single human melanoma cells. *Nature*. 2008;456(7222):593-8.

15. Mani SA, Guo W, Liao MJ, Eaton EN, Ayyanan A, Zhou AY, et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell*. 2008;133(4):704-15.
16. Sullivan RJ, Fisher DE. Understanding the biology of melanoma and therapeutic implications. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2014;28(3):437-53.
17. Skuciová V, Drahosová S, Výbohová D, Cígerová V, Adamkov M. The relationships between PD-L1 expression, CD8+ TILs and clinico-histomorphological parameters in malignant melanoma. *Pathol Res Pract*. 2020;216(9):153071.
18. Yang L, Xu Y, Yan Y, Luo P, Chen S, Zheng B, et al. Common nevus and skin cutaneous melanoma: prognostic genes identified by gene co-expression network analysis. *Genes (Basel)*. 2019;10(10):747.
19. Leonardi GC, Falzone L, Salemi R, Zanghi A, Spandidos DA, McCubrey JA, et al. Cutaneous melanoma: from pathogenesis to therapy (review). *Int J Oncol*. 2018;52(4):1071-80.
20. Cancer Today [Internet]. Lyon: IARC, 2018 [acessado em 22 ago. 2020]. Population fact sheets. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today/fact-sheets-populations>.
21. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil [Internet]. Rio de Janeiro: INCA; 2019 [acessado em 2 ago. 2020]. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf>.
22. Tirtelli TC Jr, Francisco G, Chammass R. Etiopatogenia: do melanócito ao melanoma. In: Wainstein AJA, Belfort F. *Melanoma: prevenção, diagnóstico, tratamento e acompanhamento*. 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 2014. p. 23-33.
23. Longo C, Rito C, Beretti F, Cesinaro AM, Piñeiro-Maceira J, Seidenari S, et al. De novo melanoma and melanoma arising from pre-existing nevus: in vivo morphologic differences as evaluated by confocal microscopy. *J Am Acad Dermatol*. 2011;65(3):604-14.
24. Purdue MP, From L, Armstrong BK, Krickler A, Gallagher RP, McLaughlin JR, et al. Etiologic and other factors predicting nevus-associated cutaneous malignant melanoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005;14(8):2015-22.
25. Ribeiro CS, Serpa SS, Sousa MAJ, Jeunon T. Melanoma em associação com nevo azul congênito, médio e comum do couro cabeludo: relato de caso. *An Bras Dermatol*. 2016;91(4):514-6.
26. Ackerman AB. What naevus is dysplastic, a syndrome and the commonest precursor of malignant melanoma?: a riddle and an answer. *Histopathology*. 1988;13(3):241-56.
27. Brás S, Gouveia AI, Teixeira AI, Oliveira AL, Almeida LMS. O nevo displásico. *Rev SPDV*. 2016;74(3):227-39.

28. Sanchez MI, Rabinovitz HS, Oliviero MC, Elgart GW, Perez C, Puig S, et al. Dark homogeneous streak dermoscopic pattern correlating with specific KIT mutations in melanoma. *JAMA Dermatol.* 2014;150(6):633-9.
29. Cabo H, González V, Peralta R, Rodríguez Saa S, Salerni G. *Dermatoscopia: casos clínicos.* Buenos Aires: Journal; 2008.
30. Pereira FBC. Melanoma disseminativo superficial. In: Wainstein AJA, Belfort FA. *Melanoma: diagnóstico e tratamento.* São Paulo: Lemar; 2010. p. 117-21.
31. Almeida FA, Almeida GO. Melanoma cutâneo. In: Silva MR, Castro MCR. *Fundamentos de dermatologia.* Rio de Janeiro: Atheneu; 2009. p. 1737-43.
32. Pereira FB, Boneti KK, Salaro C. Melanoma disseminativo superficial. In: Wainstein AJA, Belfort F. *Melanoma: prevenção, diagnóstico, tratamento e acompanhamento.* 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 2014. p. 113-7.
33. Russo T, Piccolo V, Ferrara G, Agozzino M, Alfano R, Longo C, et al. Dermoscopy pathology correlation in melanoma. *J Dermatol.* 2017;44(5):507-14.
34. Bakos L, Bakos RM. Melanoma nodular. In: Wainstein AJA, Belfort FA. *Melanoma: diagnóstico e tratamento.* São Paulo: Lemar; 2010. p. 122-7.
35. Duncan LM. The classification of cutaneous melanoma. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2009;23(3):501-13.
36. Hirata S, Bilemjian APJ. Melanoma lentiginoso acral. In: Wainstein AJA, Belfort FA. *Melanoma: diagnóstico e tratamento.* São Paulo: Lemar; 2010. p. 129-38.
37. Maia M. Melanoma lentigo maligno. In: Wainstein AJA, Belfort FA. *Melanoma: diagnóstico e tratamento.* São Paulo: Lemar; 2010. p. 139-45.
38. Kraus SL, Haenssle HA. Early detection of cutaneous melanoma by sequential digital dermatoscopy (SDD). *J Dtsch Dermatol Ges.* 2013;11(6):509-12.
39. Watts CG, Dieng M, Morton RL, Mann GJ, Menzies SW, Cust AE. Clinical practice guidelines for identification, screening and follow-up of individuals at high risk of primary cutaneous melanoma: a systematic review. *Br J Dermatol.* 2015;172(1):33-47.
40. Bafounta ML, Beauchet A, Aegerter P, Saiag P. Is dermoscopy (epiluminescence microscopy) useful for the diagnosis of melanoma?: results of a meta-analysis using techniques adapted to the evaluation of diagnostic tests. *Arch Dermatol.* 2001;137(10):1343-50.
41. Jakkett LA, Scolyer RA. A review of key biological and molecular events underpinning transformation of melanocytes to primary and metastatic melanoma. *Cancers (Basel).* 2019;11(12):2041.

42. Palmieri G, Colombino M, Casula M, Manca A, Mandalà M, Cossu A, et al. Molecular pathways in melanomagenesis: what we learned from next-generation sequencing approaches. *Curr Oncol Rep*. 2018;20(11):86.
43. Eriksson H, Zebary A, Vassilaki I, Omholt K, Ghaderi M, Hansson J. BRAFV600E protein expression in primary cutaneous malignant melanomas and paired metastases. *JAMA Dermatol*. 2015;151(4):410-6.
44. Ekedahl H, Cirenajwis H, Harbst K, Carneiro A, Nielsen K, Olsson H, et al. The clinical significance of BRAF and NRAS mutations in a clinic-based metastatic melanoma cohort. *Br J Dermatol*. 2013;169(5):1049-55.
45. Long GV, Menzies AM, Nagrial AM, Haydu LE, Hamilton AL, Mann GJ, et al. Prognostic and clinicopathologic associations of oncogenic BRAF in metastatic melanoma. *J Clin Oncol*. 2011;29(10):1239-46.
46. Zhang T, Dutton-Regester K, Brown KM, Hayward NK. The genomic landscape of cutaneous melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2016;29(3):266-83.
47. Filipp FV. Precision medicine driven by cancer systems biology. *Cancer Metastasis Rev*. 2017;36(1):91-108.
48. Gurzu S, Beleaua MA, Jung I. The role of tumor microenvironment in development and progression of malignant melanomas: a systematic review. *Rom J Morphol Embryol*. 2018;59(1):23-8.
49. Mignogna C, Scali E, Camastra C, Presta I, Zeppa P, Barni T, et al. Innate immunity in cutaneous melanoma. *Clin Exp Dermatol*. 2017;42(3):243-50.
50. Carrera C, Marchetti MA, Dusza SW, Argenziano G, Braun RP, Halpern AC, et al. Validity and reliability of dermoscopic criteria used to differentiate nevi from melanoma: a web-based International Dermoscopy Society study. *JAMA Dermatol*. 2016;152(7):798-806.
51. Carlos-Ortega B, Oca-Monroy FM, Isyta-Morales A. Dermatoscopia de las metástasis de melanoma maligno cutáneo: informe de caso. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2009;47(1):73-6.
52. Curković D, Pastar Z, Kostović K. Dermoscopy and early melanoma. *Coll Antropol*. 2015;39(3):791-5.
53. Carlos G, Anforth R, Clements A, Menzies AM, Carlino MS, Chou S, et al. Cutaneous toxic effects of BRAF inhibitors alone and in combination with MEK inhibitors for metastatic melanoma. *JAMA Dermatol*. 2015;151(10):1103-9.
54. Vestergaard ME, Macaskill P, Holt PE, Menzies SW. Dermoscopy compared with naked eye examination for the diagnosis of primary melanoma: a meta-analysis of studies performed in a clinical setting. *Br J Dermatol*. 2008;159(3):669-76.

55. Rajpara SM, Botello AP, Townend J, Ormerod AD. Systematic review of dermoscopy and digital dermoscopy: artificial intelligence for the diagnosis of melanoma. *Br J Dermatol.* 2009;161(3):591-604.
56. Salerni G, Alonso C, Fernández-Bussy R. Multiple primary invasive small-diameter melanomas: importance of dermoscopy and digital follow-up. *Dermatol Pract Concept.* 2019;9(1):69-70.
57. Rosendahl C, Tschandl P, Cameron A, Kittler H. Diagnostic accuracy of dermatoscopy for melanocytic and nonmelanocytic pigmented lesions. *J Am Acad Dermatol.* 2011;64(6):1068-73.
58. Van Der Rhee JI, Bergman W, Kukutsch NA. Impact of dermoscopy on the management of high-risk patients from melanoma families: a prospective study. *Acta Derm Venereol.* 2011;91(4):428-31.
59. Bauer J, Blum A, Strohacker U, Garbe C. Surveillance of patients at high risk for cutaneous malignant melanoma using digital dermoscopy. *Br J Dermatol.* 2005;152(1):87-92.
60. Argenziano G, Albertini G, Castagnetti F, De Pace B, Di Lernia Vito, Longo C, et al. Early diagnosis of melanoma: what is the impact of dermoscopy? *Dermatol Ther.* 2012;25(5):403-9.
61. Burroni M, Sbano P, Cevenini G, Risulo M, Dell'Eva G, Barbini P, et al. Dysplastic naevus vs. in situ melanoma: digital dermoscopy analysis. *Br J Dermatol.* 2005;152(4):679-84.
62. Holmes GA, Vasantachart JM, Limone BA, Zumwalt M, Hirokane J, Jacob SE. Using dermoscopy to identify melanoma and improve diagnostic discrimination. *Fed Pract.* 2018;35(Suppl 4):S39-S45.
63. Argenziano G, Cerroni L, Zalaudek I, Staibano S, Hofmann-Wellenhof R, Arpaia N, et al. Accuracy in melanoma detection: a 10-year multicenter survey. *J Am Acad Dermatol.* 2012;67(1):54-9.
64. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Abeni D, Boyle P, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: I. common and atypical naevi. *Eur J Cancer.* 2005;41(1):28-44.
65. Kittler H, Rosendahl C, Cameron A, Tschandl P. *Dermatoscopia: um método algoritmo baseado na análise de padrões.* São Paulo: Melanoma Signature; 2015.
66. Rezze GG, Sá BCS, Neves RI. *Dermatoscopia: o método de análise de padrões.* *An Bras Dermatol.* 2006;81(3):261-8.
67. Gallegos-Hernández JF, Ortiz-Maldonado AL, Minauro-Muñoz GG, Arias-Ceballos H, Hernández-Sanjuan M. *Dermatoscopia en melanoma cutáneo.* *Cir Cir.* 2015;83(2):107-11.

68. Pehamberger H, Steiner A, Wolff K. In vivo epiluminescence microscopy of pigmented skin lesions.I: pattern analysis of pigmented skin lesions. *J Am Acad Dermatol.* 1987;17(4):571-83.
69. Argenziano G, Fabbrocini G, Carli P, De Giorgi V, Sammarco E, Delfino M. Epiluminescence microscopy for the diagnosis of doubtful melanocytic skin lesions: comparison of the ABCD rule of dermoscopy and a new 7-point checklist based on pattern analysis. *Arch Dermatol.* 1998;134(12):1563-70.
70. Argenziano G, Catricalà C, Ardigo M, Buccini P, De Simone P, Eibenschutz L, et al. Seven-point checklist of dermoscopy revisited. *Br J Dermatol.* 2011;164(4):785-90.
71. Menzies SW, Ingvar C, Crotty KA, McCarthy WH. Frequency and morphologic characteristics of invasive melanomas lacking specific surface microscopic features. *Arch Dermatol.* 1996;132(10):1178-82.
72. Nachbar F, Stolz W, Merkle T, Cognetta AB, Vogt T, Landthaler M, et al. The ABCD rule of dermatoscopy: high prospective value in the diagnosis of doubtful melanocytic skin lesions. *J Am Acad Dermatol.* 1994;30(4):551-9.
73. Henning JS, Dusza SW, Wang SQ, Marghoob AA, Rabinovitz HS, Polsky D, et al. The CASH (color, architecture, symmetry, and homogeneity) algorithm for dermoscopy. *J Am Acad Dermatol.* 2007;56(1):45-52.
74. Pizzichetta MA, Talamini R, Marghoob AA, Soyer HP, Argenziano G, Bono R, et al. Negative pigment network: an additional dermoscopic feature for the diagnosis of melanoma. *J Am Acad Dermatol.* 2013;68(4):552-9.
75. Balagula Y, Braun RP, Rabinovitz HS, Dusza SW, Scope A, Liebman TN, et al. The significance of crystalline/chrysalis structures in the diagnosis of melanocytic and nonmelanocytic lesions. *J Am Acad Dermatol.* 2012;67(2):194.e1-8.
76. Wolner ZJ, Yélamos O, Liopyris K, Rogers T, Marchetti MA, Marghoob AA. Enhancing skin cancer diagnosis with dermoscopy. *Dermatol Clin.* 2017;35(4):417-37.
77. 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(4):297-305.
78. Soyer HP, Kenet RO, Wolf IH, Kenet BJ, Cerroni L. Clinicopathological correlation of pigmented skin lesions using dermoscopy. *Eur J Dermatol.* 2000;10(1):22-8.
79. Rstom SA, Libório LS, Paschoal FM. Reflectance confocal microscopy of cutaneous melanoma: correlation with dermoscopy and histopathology. *An Bras Dermatol.* 2015;90(3):411-4.
80. Slater D, Cook M. Standards and datasets for reporting cancers: dataset for histopathological reporting of primary cutaneous malignant melanoma and regional lymph nodes [Internet]. London: The royal college of pathologists; 2019 [acesso 21 ago. 2020]. Disponível em: <https://www.rcpath.org/uploads/assets/fb177728-072d-4b8a->

97ae94319eac5fd/Dataset-for-the-histological-reporting-of-primary-cutaneous-malignant-melanoma-and-regional-lymph-nodes.pdf.

81. Smith GJ. Histopathology of melanoma. *Yale J Biol Med.* 1975;48(5):409-16.
82. Gershenwald JE, Scolyer RA. Melanoma staging: American Joint Committee on Cancer (AJCC) 8th edition and beyond. *Ann Surg Oncol.* 2018;25(8):2015-10.
83. Werner B, Campos AC, Nadji M, Torres LFB. Practical use of immunohistochemistry in surgical pathology. *J Bras Patol Med Lab.* 2005;41(5):353-64.
84. Garbe C, Bauer J. Melanoma. In: Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP, editors. *Dermatology.* 2th ed. London: Elsevier, 2008. v. 2, p. 1745-70.
85. Dinehart MS, Dinehart SM, Sukpraprut-Braaten S, High WA. Immunohistochemistry utilization in the diagnosis of melanoma. *J Cutan Pathol.* 2020;47(5):446-50.
86. Sunshine JC, Nguyen PL, Kaunitz GJ, Cottrell TR, Berry S, Esandrio J, et al. PD-L1 expression in melanoma: a quantitative immunohistochemical antibody comparison. *Clin Cancer Res.* 2017;23(16):4938-44.
87. Madore J, Strbenac D, Vilain R, Menzies AM, Yang JYH, Thompson JF, et al. PD-L1 negative status is associated with lower mutation burden, differential expression of immune-related genes, and worse survival in stage III melanoma. *Clin Cancer Res.* 2016;22(15):3915-23.
88. Schaper-Gerhardt K, Okoye S, Herbst R, Ulrich J, Terheyden P, Pföhler C, et al. PD-L1 status does not predict the outcome of BRAF inhibitor therapy in metastatic melanoma. *Eur J Cancer.* 2018;88:67-76.
89. Ren M, Dai B, Koong Y-Y, Lv J-J, Cai X. PD-L1 expression in tumour-infiltrating lymphocytes is a poor prognostic factor for primary acral melanoma patients. *Histopathology.* 2018;73(3):386-96.
90. Madore J, Vilain RE, Menzies AM, Kakavand H, Wilmott JS, Hyman J, et al. PD-L1 expression in melanoma shows marked heterogeneity within and between patients: implications for anti-PD-1/PD-L1 clinical trials. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2015;28(3):245-53.
91. Massi D, De Giorgi V, Soyer HP. Histopathologic correlates of dermoscopic criteria. *Dermatol Clin.* 2001;19(2):259-68.
92. Yang S, Leone DA, Biswas A, Deng A, Jukic D, Singh R, et al. Concordance of somatic mutation profiles (BRAF, NRAS, and TERT) and tumoral PD-L1 in matched primary cutaneous and metastatic melanoma samples. *Hum Pathol.* 2018;82:206-14.
93. Bombonato C, Ribero C, Pozzobon FC, Puig-Butille JA, Badenas C, Carrera C, et al. Association between dermoscopic and reflectance confocal microscopy features of cutaneous melanoma with BRAF mutational status. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2017;31(4):643-9.

94. Armengot-Carbó M, Nagore E, García-Casado Z, Botella-Estrada R. The association between dermoscopic features and BRAF mutational status in cutaneous melanoma: significance of the blue-white veil. *J Am Acad Dermatol.* 2018;78(5):920-6.e4.
95. Pozzobon FC, Puig-Butillé JA, González-Alvarez T, Carrera C, Aguilera P, Alos L, et al. Dermoscopic criteria associated with BRAF and NRAS mutation status in primary cutaneous melanoma. *Br J Dermatol.* 2014;171(4):754-9.

7. ARTIGO

ESTUDO DOS ASPECTOS DERMATOSCÓPICOS DOS MELANOMAS E SUA ASSOCIAÇÃO COM A EXPRESSÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DE PDL-1

Renata Hübner Frainer*
Prof. Dr. Renato Marchiori Bakos**

ABSTRACT

Title: Dermoscopic features of melanoma and association with immunohistochemical screening for PD-L1.

Background

Melanoma is associated with significant morbidity and mortality rates. It is caused by a combination of constitutional, genetic and environmental factors. Dermoscopy is a highly accurate diagnostic method for melanoma. In addition to a close correlation with histological findings, dermoscopic features appear to be associated with BRAF, KIT and NRAS expression. However, few studies have investigated its association with PD-L1 expression.

Objective

To assess the correlation between the dermoscopic features of primary cutaneous melanoma and PD-L1 expression in tumor cells.

Methods

This was a retrospective cross-sectional study of all patients diagnosed with cutaneous melanoma in the dermatology service of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre between 2011 and 2014, whose records included dermoscopic images of the primary tumor. Dermoscopic images were reviewed by two dermatologists, who described the colors and structures of each lesion based on pattern analysis and modified pattern analysis. Immunohistochemical analysis was conducted using the PD-L1 antibody clone 28-8 to detect PD-L1 positivity. The association between immunohistochemical findings and dermoscopic patterns and structures was then investigated.

* Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da UFRGS.

** Professor Adjunto em Dermatologia junto ao Departamento de Medicina Interna da UFRGS e do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da UFRGS. Chefe do Serviço de Dermatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Results

A total of 35 patients met inclusion criteria for the study. Sixteen (45.71%) patients were women, and the mean age at diagnosis in the sample was 64.20 (± 12.33) years. The multicomponent pattern was the most common in the sample, occurring in 14 cases. This was followed by the reticular pattern, seen in 11 cases. Eight cases tested positive for PD-L1 expression. This finding was positively associated with a multicomponent pattern ($p = 0.039$) and negatively associated with the reticular pattern ($p = 0.037$). The associations of PD-L1 expression and other dermoscopic structures or colors were not significant.

Conclusion

This study provides novel insights into the dermoscopic features of melanomas with PD-L1 expression. The results suggest that PD-L1 positivity may be more frequent in tumors with a heterogeneous clinical presentation. Further studies are required to corroborate and explain these findings.

Keywords: melanoma, dermoscopy, PDL-1, immunohistochemistry.

INTRODUCTION

Melanoma is a melanocyte-derived malignant tumor whose global incidence has been steadily increasing in recent years.(1,2) Several internal and external factors can contribute to its onset, ranging from genetics and phenotype to exposure to ultraviolet radiation, with the latter being a major determinant of melanoma incidence.(3-7) Although considerable advances have been made in the understanding of this condition, much remains to be learned, especially regarding its clinical and physiopathological feature.

Dermoscopy can provide a new morphological perspective on these issues. There is a comprehensive correlation between dermoscopic and histological findings which helps clinicians in understanding clinical scenarios and establishing management decisions based on dermoscopy.(8,9) Similarly, the correlation between mutations in the Proto-onco-gene v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1 (BRAF), receptor tirosina kinase (KIT) and Neuroblastoma RAS viral oncogene homolog (NRAS) genes, dermoscopic findings,(10-13) and clinical observations has also been explored. Bombonato and colleagues found that BRAF-mutant melanoma was associated with younger patient age, high body nevus counts and location on the trunk and areas with intermittent sun exposure.(10) The presence of peppering is also associated with BRAF and NRAS mutations, blue-white veil and ulceration, with BRAF mutations being especially associated with irregular peripheral streaks and KIT mutations to

dark homogeneous streaks.(10-13)

No studies to date have examined the association between PD-L1 (Programmed cell death ligand-1) expression and the dermoscopic features of primary melanoma.

METHODS

We examined all images of primary cutaneous melanoma in the dermoscopy archives of the Department of Dermatology at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) between 2011 and 2014. Records for which paraffin blocks of the primary tumor were available in the Department of Pathology of the same hospital were selected for the present study, making for a sample of 35 patients. Clinical data were collected from the patients and histological data were obtained from the tumors. This study was approved by the Research Ethics Committee of the institution where it was conducted. All patients consented to participation in the study.

Immunohistochemical study

Immunohistochemical staining was performed using the Benchmark ULTRA® (Ventana Medical Systems, Tucson, Arizona) automated platform. The paraffin-embedded samples were sectioned at 3µm using a microtome and a positive control was included on each slide. Deparaffinization was performed using the EZ PREP system. Antigen retrieval was performed using a CC1 buffer at pH 9.0 heated to 95°C for 64 minutes. The PD-L1 primary antibody clone 28-8 (Abcam) was incubated for 32 minutes at 37°C at a dilution of 1:100. After the incubation of the primary antibody, peroxidase was blocked using the ultraView Universal DAB Inhibitor (3% H₂O₂). Reactions were detected using the ultraView Universal DAB Detection Kit (multimers), which uses the chromogen diaminobenzidine (DAB). Slides were then counter-stained with Mayer's hematoxylin, treated with bluing reagent (Li₂CO₃+ Na₂CO₃), then dehydrated and mounted for analysis. Immunohistochemical slides were then assessed by a dermatopathologist (AC) to determine PD-L1 expression (defined as ≥1% tumor cells staining positive for PD-L1).

Dermoscopic evaluation

Dermoscopic images were originally obtained using a digital dermoscope (Fotofinder®, Fotofinder systems, Tübingen, Germany). The images were assessed by two dermatologists (RMB, RHF) and disagreements were resolved by consensus if necessary. Dermoscopic features were classified using pattern analysis and modified pattern analysis.(14,15) The overall pattern of the lesion was classified as multicomponent when at least three distinct structures (including multiple colors) were present in the same lesion. A reticular pattern was considered

when the structure of the lesion contained a pigment network as a main dermoscopic feature. Lesions showing no identifiable structural elements were classified as homogeneous or unstructured. Lastly, the ‘other patterns’ category included facial lesions comprising structures defined by their localization, as well as acral lesions and those whose structure could not be assessed. We also examined the presence and distribution of the following dermoscopic structures: dots/globules, peppering, rhomboid structures, ridge pigmentation, atypical networks, branched streaks, white streaks, structural asymmetry, clinical regression, dermoscopic regression, veils, ulceration and polymorphous vessels. The colors observed in each tumor were classified using the following categories: multiple colors, white, blue-white, pink/red, gray and black.

Statistical analyses

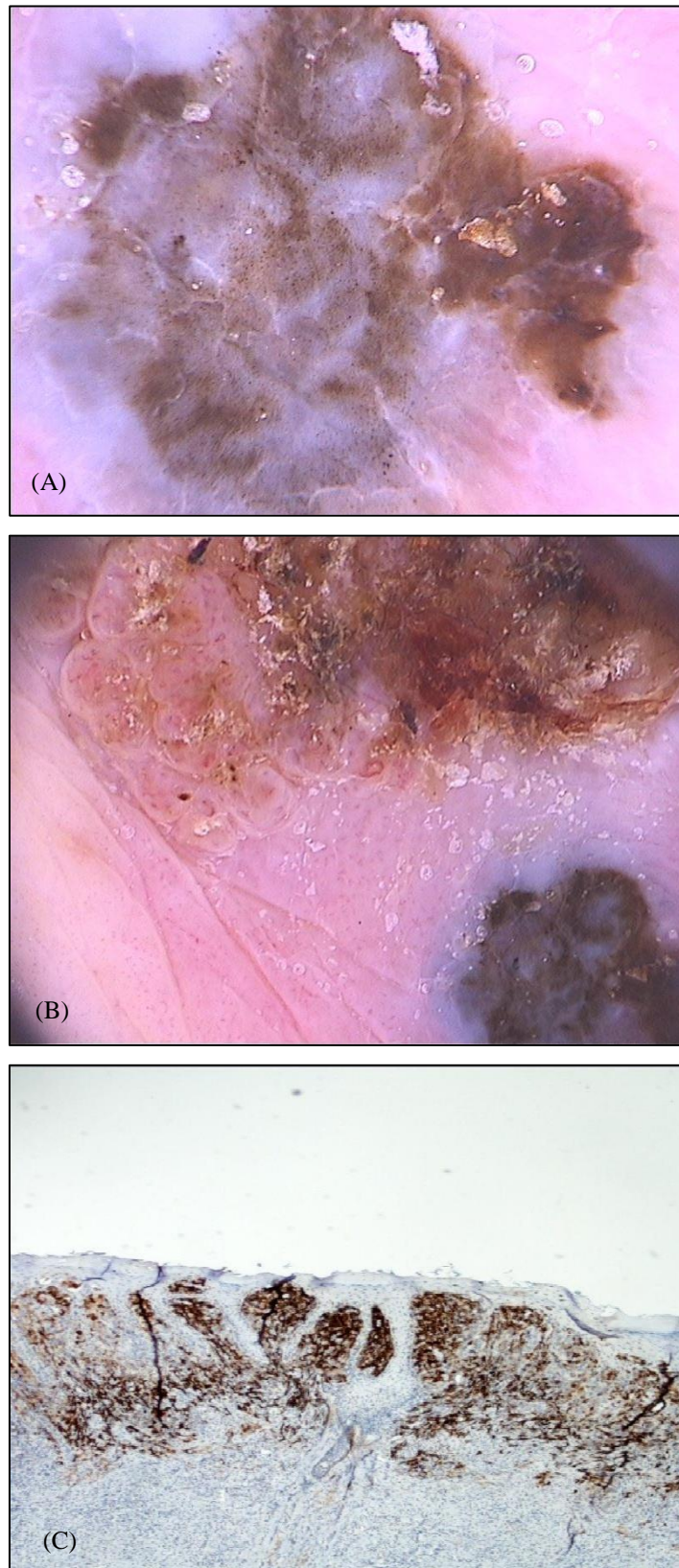
Data were organized using Excel and exported to SPSS v. 20 for statistical analysis. The Kolmogorov-Smirnov test was used to evaluate the symmetry of variable distribution. Symmetrically distributed quantitative variables were described as mean and standard deviation, and compared using Student’s t-test for independent samples. Asymmetrical quantitative variables were described using median, minimum and maximum values, and compared using Mann-Whitney tests. Categorical variables were described as frequencies and percentages, and compared using Fisher’s exact test. Results were considered significant at 5%.

RESULTS

The mean age of participants at the time of diagnosis was 64.20 (± 12.33) years. Nineteen (54.3%) patients were female while 16 (45.7%) were male. The majority of melanomas occurred on the trunk, as observed in 17 (48.6%) cases, followed by the head/neck and upper limbs with 6 (17%) cases each. Three cases (8.6%) consisted of acral melanomas, while 2 (5.7%) occurred on the lower limbs and one (2.9%) was a subungual melanoma. The Breslow index ranged from *in situ* to 25 mm, with a median value of 0.4mm. According to dermoscopic analysis, most tumors had a multicomponent pattern. This was observed in 14 (40%) cases. This was followed by a reticular pattern, observed in 11 (31.42%) cases. The most frequent dermoscopic structures observed were peripheral dots/globules, occurring in 16 (45.7%) cases, followed by peppering in 13 (37.14%) cases. Polymorphous vessels and central dots/globules were observed in 12 (34.28%) cases. Twenty-nine cases showed structural asymmetry. Lastly, most tumors (n = 31; 88%) showed multiple colors. Blue-white and white were the most commonly observed, occurring in 22 (62.8%) and 21(60%) cases, respectively.

The immunohistochemical analysis revealed that eight cases (22.85%) tested positive for PD-L1. The clinical, histological and dermoscopic characteristics of each case are shown in Table 1. PD-L1 expression was not significantly associated with the clinical or histological features of the tumors. However, PD-L1 expression showed a significant association with the presence of a multicomponent pattern ($p = 0.039$) (Figure 1) and a negative association with the reticular pattern. ($p = 0.037$). The remaining dermoscopic patterns and structures, as well as the color of the tumors, had no significant association with immunohistochemical findings (Tables 2 and 3).

Figure 1: Dermoscopic image of melanoma and correlated PD-L1 positive immunohistochemical



Dermoscopy of melanoma lesion with magnification of 10X (A) and 50X (B), showing a multicomponent pattern, presence of multiple colors, assymetry of structures, polymorphic vessels and central points. PD-L1 positive immunohistochemistry with 10X magnification (C) of melanoma shown in A and B, of the superficial spreading subtype, with a thickness of 2.6mm.

Table 1: Clinical, histopathologic and dermoscopic data of melanoma patients with positive PD-L1 immunohistochemical expression

Case	Age*	Gender	Location	Breslow	Dermoscopic Pattern	Colors	Structures
1	86	F	Acral	3.1mm	Multicomponent	1,2,3	1,2,3
2	73	M	Trunk	0	Multicomponent	1,2,4	1,5,6
3	55	M	Trunk	0	Multicomponent	1,3,4	1,5,7
4	42	M	Head/Neck	1.2mm	Multicomponent	1,6	1,3,8
5	52	F	UL**	2.6mm	Multicomponent	1,2,3,4,5	1,4,8
6	73	F	UL**	0	Multicomponent	1,2,4	1,5,7
7	59	F	Subungual	0	Subungual pattern	1,3,4,5	4
8	93	F	Head/Neck	25mm	Nonspecific pattern	2	9

*Age at diagnosis ** Upper limbs

Colors: 1: Multiple colors; 2: White; 3: Pink/red; 4: Blue; 5: Gray; 6: Hypo- or amelanotic

Structures: 1: Structural asymmetry; 2: Ridge pigmentation; 3: Clinical regression; 4: Central dots/globules; 5: Peripheral dots/globules; 5: Peppering; 7: Branched streaks; 8: Polymorphous vessels; 9: Nodular lesion

Table 2: Association between dermoscopic patterns and structures, and the immunohistochemical expression of PD-L1

Dermoscopic patterns/structures	N=35	PD-L1 positive (%)	P
Multicomponent pattern	Yes 14	6(42.9)	0.033
Reticular pattern	Yes 11	0 (0.0)	0.037
Unstructured pattern	Yes 3	0 (0.0)	1.000
Other	Yes 7	2(28.6)	0.648
Peripheral dots/globules	Yes 16	3 (18.8)	0.700
Peppering	Yes 13	1 (7.7)	0.210
Central dots/globules	Yes 12	2 (16.7)	0.685
Rhomboid structures	Yes 1	-	0.999
Ridge pigmentation	Yes 3	1 (33.3)	0.553
Atypical networks	Yes 7	-	0.166
Branched streaks	Yes 5	2 (40)	0.568
White streaks	Yes 8	2 (25.0)	0.999
Structural asymmetry	Yes 29	6 (20.7)	0.602
Clinical regression	Yes 7	2 (16.7)	0.648
Focal regression (dermoscopic)	Yes 2	-	0.999
Veil	Yes 7	2 (28.6)	0.648
Ulceration	Yes 1	-	0.999
Hypo- or amelanotic	Yes 7	1 (14.3)	0.999
Polymorphous vessels	Yes 12	2 (16.7)	0.685
Nodular lesion	Yes 7	1 (14.3)	0.999

Table 3: Association between immunohistochemical expression of PD-L1 and dermoscopy-based color descriptors

Color descriptors	N=35	PD-L1 positive (%)	P
Multiple colors	Yes 31	7(22.6)	0.999
Blue-white areas	Yes 22	5 (22.7)	0.999
Blue color	Yes 14	5 (35.7)	0.221
Gray color	Yes 10	2 (20.0)	0.999
White color	Yes 21	5 (23.8)	0.999
Pink/red color	Yes 14	3 (21.4)	0.999
Black color	Yes 2	1 (50.0)	0.410

DISCUSSION

The present study examined and described the clinical, histological and dermoscopic characteristics, as well as PD-L1 expression, in 35 melanoma cases. Several dermoscopic patterns, structures and colors were analyzed, and PD-L1 expression was found to be positively associated with the presence of a multicomponent pattern and inversely related to the presence of a reticular pattern as seen by dermoscopy.

A number of dermoscopic features are known to be associated with an increased likelihood of melanoma. These include structure and color asymmetry; presence of multiple colors; blue-white or milky-red areas; atypical, irregular and/or hyperpigmented networks; asymmetrical dots/globules at the periphery of a lesion or irregularly distributed in the center of the lesion; pseudopods; regression areas (depigmentation and peppering); and the dermoscopic pattern, with multicomponent patterns showing high specificity for the diagnosis of melanoma.(1,2,5,14,16-24)

The PD ligand/PD-L1 pathway suppresses the immune response in peripheral tissues, and the expression of PD-L1 in the tumor microenvironment can facilitate its progression.(25) Studies show that its expression within tumors prior to treatment can increase the anti-PD-1/PD-L1 response, since drugs developed to inhibit this pathway can enhance immune activity and enable endogenous effector mechanisms. A similar but weaker response can be observed even in tumors that do not express this protein.(25-29)

PD-L1 expression in melanomas can be assessed by immunohistochemistry; however, the fact that this phenomenon is usually heterogeneous and occurs near lymphocytic infiltration areas may limit the use of immunohistochemistry as the only method to detect PD-L1 expression since this method is not standardized.(30,31) Nevertheless, PD-L1 expression is known to be more common in malignant melanocytes, and the definition of PD-L1 positivity

based on the presence of staining in $\geq 1\%$ or $\geq 5\%$ of tumor cells is widely accepted across studies.(25,30,32,33)

The prevalence of PD-L1 positivity in the present study (22.85% of cases) was similar to that observed by Yang and colleagues, who analyzed 43 primary melanoma samples and found that 21% displayed positive immunohistochemical staining for the PD-L1 antibody clone SP263.(32) According to Sunshine and colleagues, findings obtained using the SP263 clone are equivalent to those observed with the 28-8 clone used in the present study.(25)

A previous study by Ren and colleagues evaluated the immunohistochemical expression of PD-L1 in 78 acral melanomas. As in the present study, the authors did not identify significant associations between PD-L1 positivity and clinicopathological findings, such as gender, age at diagnosis and Breslow thickness.(34)

Skuciová and colleagues evaluate PD-L1 expression in melanomas based only on immunohistochemical staining and the detection of PD-L1 expression in tumor cells, much like the present study.(35) The percentage of primary melanoma samples with positive staining in $\geq 1\%$ cells was 39.5% (17 out of 43 cases), which is similar to the findings obtained by Schaper-Gerhardt and colleagues, who found that 41% of the 83 cases tested showed positive staining in $\geq 1\%$ of tumor cells.(33,35) However, the aforementioned study evaluated primary and metastatic tumor tissues of patients with BRAF V600 mutations. Mutation status was not evaluated in the present study.(33)

PD-L1 expression may confer a clinical benefit in some tumor types,(25) and a meta-analysis conducted by Yang and colleagues suggested that, PD-L1 expression did not predict a worse prognosis in patients with melanoma, and that high levels of the protein were actually associated with an absence of lymph node metastasis, although the authors point out that this must be confirmed by further studies.(6,25)

In the present study, the multicomponent pattern was positively associated with PD-L1 expression, and was observed in 8 of the 35 cases examined ($p = 0.039$), while the reticular pattern was absent in positive cases, and therefore negatively associated with PD-L1 expression ($p = 0.037$). The multicomponent pattern has a high specificity for the dermoscopic suspicion of cutaneous melanoma, and is defined based on the presence of three or more dermoscopic characteristics in the same lesion,(21) which can indicate different forms of tumor growth and variations in the immune response, while exclusively reticular pattern lesions could represent less variation in tumor progression and more activation of immune response. Although it is beyond the scope of this study, we speculate that distinct tumor-host interactions might occur in these different patterns of tumor progression observed in dermoscopy. Although no

significant association was found between PD-L1 positivity and other dermoscopic structures, 7 of the 8 positive cases showed multiple colors, which can indicate different tumor levels, with the most frequent colors associated to the expression being white, pink/red and blue. Most of these lesions also showed structural asymmetry and half the cases had peripheral dots or globules, which suggest an expanding lesion. It is therefore possible that as the lesions grow, they are more likely to express PD-L1.

No studies to date have examined the association between dermoscopic findings and PD-L1 expression in primary melanoma, though significant advances have been made in the identification of melanoma mutations associated with PD-L1 positivity.(10-13) The absence of a standardized procedure for the immunohistochemical analysis of PD-L1 expression may limit the interpretation of the present findings. Our sample size might also be considered a potential limitation of the study. Further studies with a larger sample could help in corroborating our findings.

CONCLUSION

This was the first study to evaluate the association between PD-L1 expression in primary melanoma cells and dermoscopic findings. The results revealed a significant association between PD-L1 expression and the multicomponent pattern. Further studies are required to clarify the importance of these findings.

REFERENCES

1. Ungureanu L, Senila S, Danescu S, Rogoian L, Cosgarea R. Correlation of dermatoscopy with the histopathological changes in the diagnosis of thin melanoma. *Rom J Morphol Embryol.* 2013;54(2):315-20.
2. Eggermont AMM, Spatz A, Robert C. Cutaneous melanoma. *Lancet.* 2014;383(9919):816-27.
3. González VM. Genes de predisposición al melanoma: melanoma familiar. *Dermatol Argent.* 2010;16(5):327-36.
4. Schadendorf D, Van Akkooi ACJ, Berking C, Griewank KG, Gutzmer R, Hauschild A, et al. Melanoma. *Lancet.* 2018;392(10151):971-84.
5. Kraus SL, Haenssle HA. Early detection of cutaneous melanoma by sequential digital dermatoscopy (SDD). *J Dtsch Dermatol Ges.* 2013;11(6):509-12.

6. Yang J, Dong M, Shui Y, Zhang Y, Zhang Z, Mi Y, et al. A pooled analysis of the prognostic value of PD-L1 in melanoma: evidence from 1062 patients. *Cancer Cell Int.* 2020;20:96.
7. Sullivan RJ, Fisher DE. Understanding the biology of melanoma and therapeutic implications. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2014;28(3):437-53.
8. Soyer HP, Smolle J, Hödl S, Pachernegg H, Kerl H. Surface microscopy: a new approach to the diagnosis of cutaneous pigmented tumors. *Am J Dermatopathol.* 1989;11(1):1-10.
9. 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(4):297-305.
10. Bombonato C, Ribero C, Pozzobon FC, Puig-Butille JA, Badenas C, Carrera C, et al. Association between dermoscopic and reflectance confocal microscopy features of cutaneous melanoma with BRAF mutational status. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2017;31(4):643-9.
11. Armengot-Carbó M, Nagore E, García-Casado Z, Botella-Estrada R. The association between dermoscopic features and BRAF mutational status in cutaneous melanoma: significance of the blue-white veil. *J Am Acad Dermatol.* 2018;78(5):920-6.e4.
12. Sanchez MI, Rabinovitz HS, Oliviero MC, Elgart GW, Perez C, Puig S, et al. Dark homogeneous streak dermoscopic pattern correlating with specific KIT mutations in melanoma. *JAMA Dermatol.* 2014;150(6):633-9.
13. Pozzobon FC, Puig-Butillé JA, González-Alvarez T, Carrera C, Aguilera P, Alos L, et al. Dermoscopic criteria associated with BRAF and NRAS mutation status in primary cutaneous melanoma. *Br J Dermatol.* 2014;171(4):754-9.
14. Kittler H, Rosendahl C, Cameron A, Tschandl P. *Dermatoscopia: um método algoritmo baseado na análise de padrões.* São Paulo: Melanoma Signature; 2015.
15. Pehamberger H, Steiner A, Wolff K. In vivo epiluminescence microscopy of pigmented skin lesions. I: pattern analysis of pigmented skin lesions. *J Am Acad Dermatol.* 1987;17(4):571-83.
16. Curković D, Pastar Z, Kostović K. Dermoscopy and early melanoma. *Coll Antropol.* 2015;39(3):791-5.
17. Carlos G, Anforth R, Clements A, Menzies AM, Carlino MS, Chou S, et al. Cutaneous toxic effects of BRAF inhibitors alone and in combination with MEK inhibitors for metastatic melanoma. *JAMA Dermatol.* 2015;151(10):1103-9.
18. Vestergaard ME, Macaskill P, Holt PE, Menzies SW. Dermoscopy compared with naked eye examination for the diagnosis of primary melanoma: a meta-analysis of studies performed in a clinical setting. *Br J Dermatol.* 2008;159(3):669-76.

19. Rajpara SM, Botello AP, Townend J, Ormerod AD. Systematic review of dermoscopy and digital dermoscopy: artificial intelligence for the diagnosis of melanoma. *Br J Dermatol*. 2009;161(3):591-604.
20. Salerni G, Alonso C, Fernández-Bussy R. Multiple primary invasive small-diameter melanomas: importance of dermoscopy and digital follow-up. *Dermatol Pract Concept*. 2019;9(1):69-70.
21. Holmes GA, Vasantachart JM, Limone BA, Zumwalt M, Hirokane J, Jacob SE. Using dermoscopy to identify melanoma and improve diagnostic discrimination. *Fed Pract*. 2018;35(Suppl 4):S39-S45.
22. Rezze GG, Sá BCS, Neves RI. Dermatoscopia: o método de análise de padrões. *An Bras Dermatol*. 2006;81(3):261-8.
23. Carrera C, Marchetti MA, Dusza SW, Argenziano G, Braun RP, Halpern AC, et al. Validity and reliability of dermoscopic criteria used to differentiate nevi from melanoma: a web-based International Dermoscopy Society study. *JAMA Dermatol*. 2016;152(7):798-806.
24. Rezze GG, Paschoal FM, Hirata SH. Atlas de dermatoscopia aplicada. São Paulo: Leman; 2004.
25. Sunshine JC, Nguyen PL, Kaunitz GJ, Cottrell TR, Berry S, Esandrio J, et al. PD-L1 expression in melanoma: a quantitative immunohistochemical antibody comparison. *Clin Cancer Res*. 2017;23(16):4938-44.
26. Taube JM, Klein A, Brahmer JR, Xu H, Pan X, Kim JH, et al. Association of PD-1, PD-1 ligands, and other features of the tumor immune microenvironment with response to anti-PD-L1 therapy. *Clin Cancer Res*. 2014;20(19):5064-74.
27. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med*. 2012;366(26):2443-54.
28. Lipson EJ, Forde PM, Hammers H-J, Emens LA, Taube JM, Topalian SL. Antagonists of PD-1 and PD-L1 in cancer treatment. *Semin Oncol*. 2015;42(4):587-600.
29. Sunshine J, Taube JM. PD-1/PD-L1 inhibitors. *Curr Opin Pharmacol*. 2015;23:32-8.
30. Madore J, Strbenac D, Vilain R, Menzies AM, Yang JYH, Thompson JF, et al. PD-L1 negative status is associated with lower mutation burden, differential expression of immune-related genes, and worse survival in stage III melanoma. *Clin Cancer Res*. 2016;22(15):3915-23.
31. Munhoz RR, Postow MA. Clinical development of PD-1/PD-L1 in advanced melanoma. *Cancer J*. 2018;24(1):7-14.

32. Yang S, Leone DA, Biswas A, Deng A, Jukic D, Singh R, et al. Concordance of somatic mutation profiles (BRAF, NRAS, and TERT) and tumoral PD-L1 in matched primary cutaneous and metastatic melanoma samples. *Hum Pathol*. 2018;82:206-14.
33. Schaper-Gerhardt K, Okoye S, Herbst R, Ulrich J, Terheyden P, Pföhler C, et al. PD-L1 status does not predict the outcome of BRAF inhibitor therapy in metastatic melanoma. *Eur J Cancer*. 2018;88:67-76.
34. Ren M, Dai B, Koong Y-Y, Lv J-J, Cai X. PD-L1 expression in tumour-infiltrating lymphocytes is a poor prognostic factor for primary acral melanoma patients. *Histopathology*. 2018;73(3):386-96.
35. Skuciová V, Drahosová S, Výbohová D, Cígerová V, Adamkov M. The relationships between PD-L1 expression, CD8+ TILs and clinico-histomorphological parameters in malignant melanoma. *Pathol Res Pract*. 2020;216(9):153071.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este foi o primeiro trabalho realizado sobre correlação entre a expressão de PD-L1 em melanomas primários, identificada através da técnica de imuno-histoquímica, e achados dermatoscópicos característicos de melanoma. O padrão multicomponente, mais frequente dos padrões dermatoscópicos de melanoma, foi associado a expressão da proteína. Nenhuma estrutura específica teve relação com a expressão de PD-1.

A dermatoscopia é uma importante ferramenta diagnóstica para tumores cutâneos malignos, especialmente o melanoma. É possível que amostras maiores possam confirmar este achado e demonstrar outras potenciais associações entre achados dermatoscópicos e expressão imuno-histoquímica de PD-1.

9. PERSPECTIVAS FUTURAS

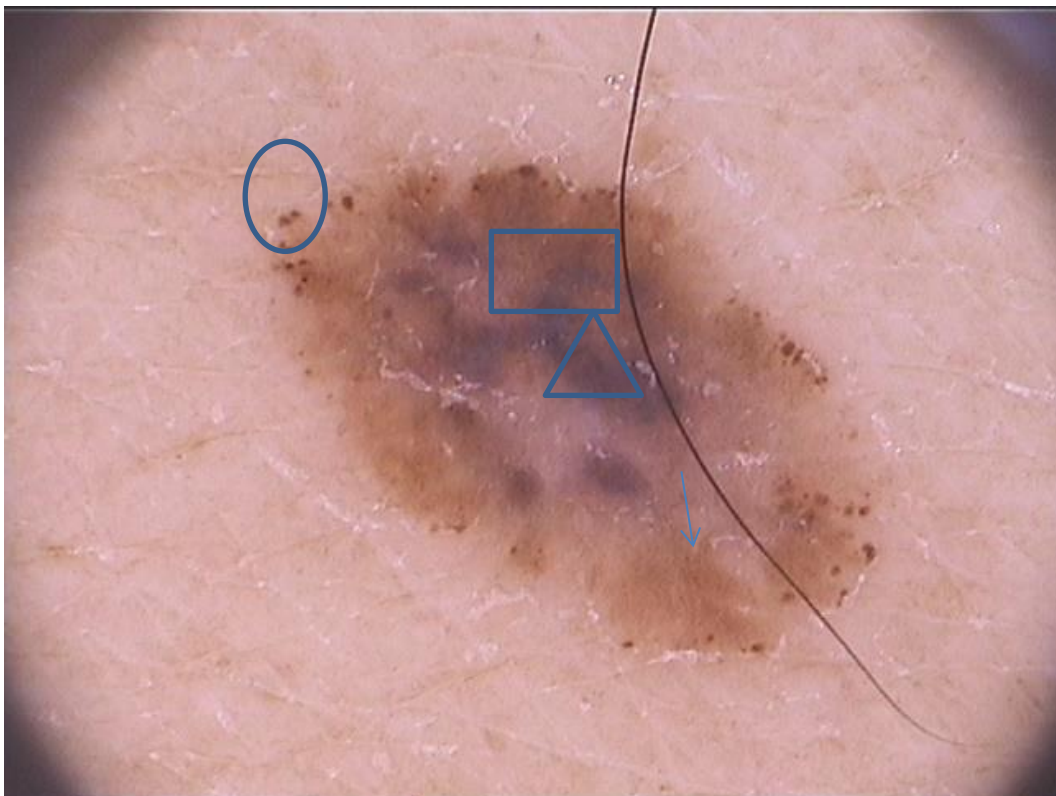
Considerando que a dermatoscopia possa estabelecer critérios característicos relativos a expressão de PD-L1, ela também poderá ser uma ferramenta para prever sua expressão e talvez, orientar na escolha terapêutica e prognóstico do melanoma.

Mais estudos precisarão ser conduzidos, analisando os achados clínicos e dermatoscópicos, os quais poderão ser úteis para o entendimento da neoplasia e sua progressão clínica.

APÊNDICE A - Achados dermatoscópicos em lesões melanocíticas

Interpretação dos achados dermatoscópicos nas imagens correspondentes de melanomas cutâneos primários.

Figura A1: Imagem dermatoscópica de melanoma cutâneo



Fonte: Acervo do HCPA.

Imagem dermatoscópica com aumento de 20X

Lesão de padrão multicomponente: Glóbulos, rede pigmentar, áreas homogêneas e múltiplas cores (marrom, branco, preto, branco-azulada)

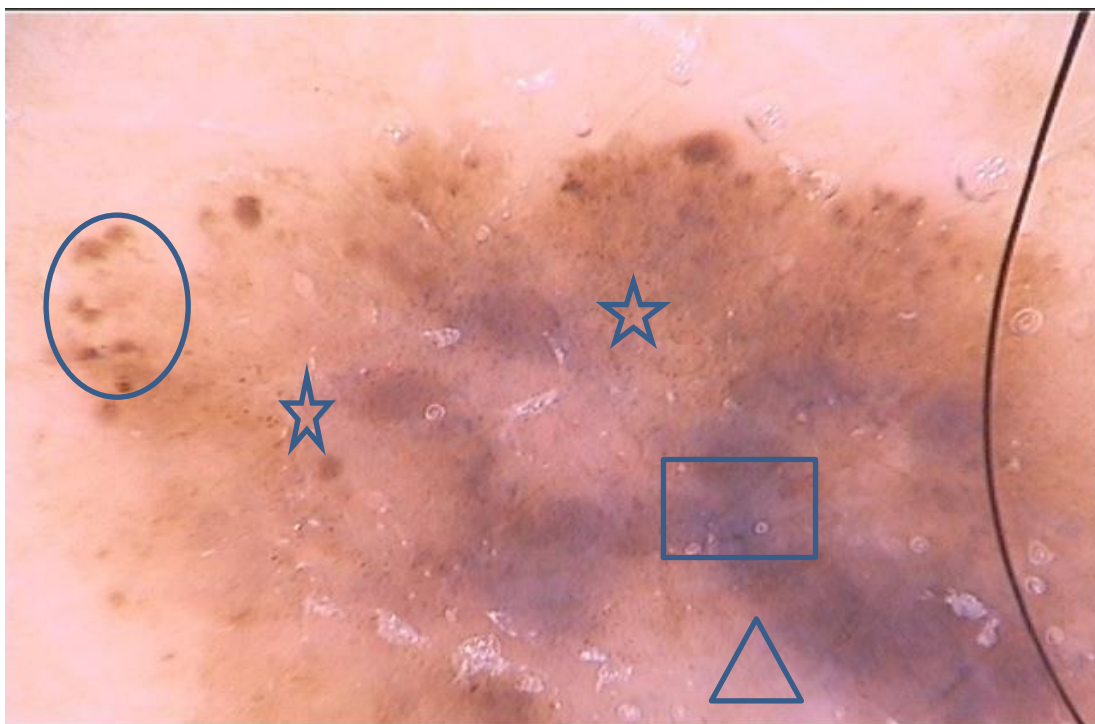
Círculo: Glóbulos/grumos na periferia da lesão, dispostos de maneira assimétrica.

Flecha: Rede pigmentar

Quadrado: área homogênea de pigmentação enegrecida (preta) e branco-azulada.

Triângulo: Cor branca

Figura A2: Imagem dermatoscópica de melanoma cutâneo



Fonte: Acervo HCPA.

Imagem dermatoscópica com aumento de 70X (corresponde a aumento da imagem da Figura A1)

Círculo: Glóbulos/grumos na periferia da lesão, dispostos de maneira assimétrica.

Quadrado: Pigmento Branco-azulado. Vélú

Triângulo: Cor branca

Estrela: área com presença de *peppering*

Figura A3: Imagem clínica de melanoma cutâneo



Fonte: Acervo do HCPA.

Imagem clínica de um melanoma, demonstrando coloração enegrecida e amarronzada, com assimetria na distribuição das mesmas e borda de formato irregular.

Figura A4: Imagem dermatoscópica de melanoma cutâneo



Fonte: Acervo do HCPA.

Imagem dermatoscópica da Figura A3, com aumento de 70X.

Lesão de padrão multicomponente, com assimetria de estruturas e cores. Rede pigmentar atípica, peppering, área homogênea, cores preta, azul, rósea/avermelhada.

Losango: área homogênea/sem estruturas

Quadrado: Veu

Estrela: *Peppering*

Triângulo invertido: Rede atípica

Círculo: Cores rosea/avermelhada, branco-azulada

Flecha: cor azul

Cruz: cor preta

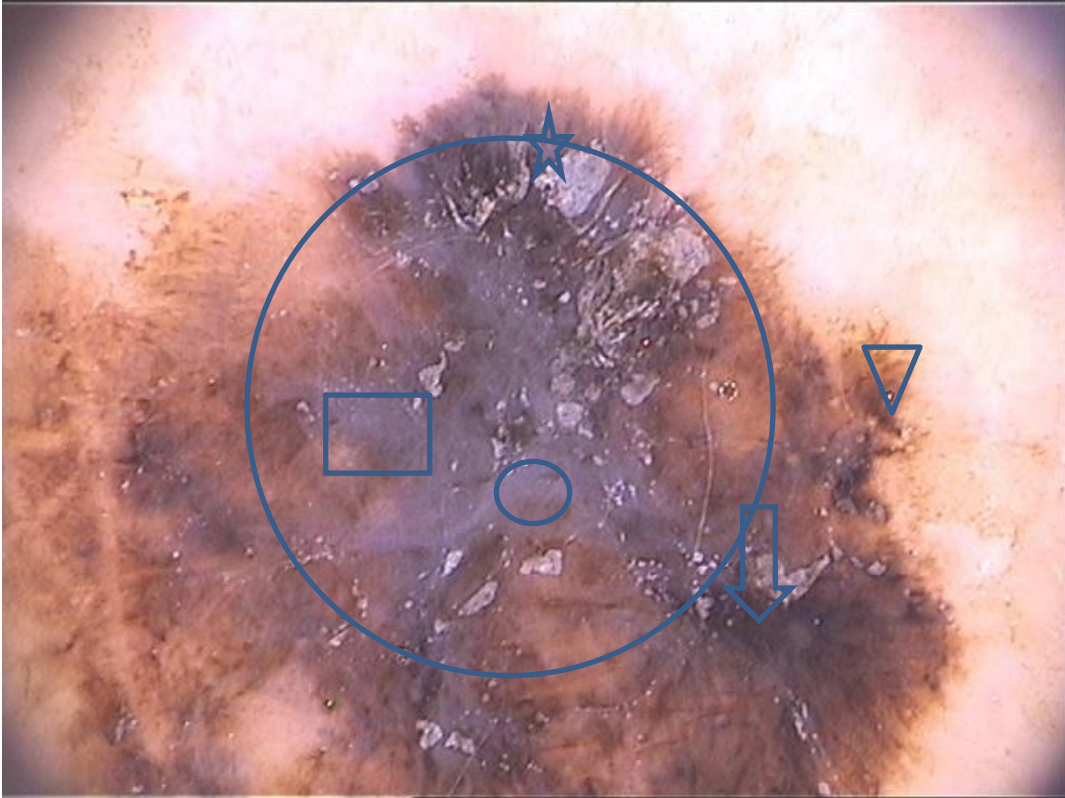
Figura A5: Imagem clínica de melanoma cutâneo



Fonte: Acervo do HCPA.

Imagem clínica de um melanoma. Lesão com assimetria de cores e borda irregular.

Figura A6: Imagem dermatoscópica de melanoma cutâneo



Fonte: Acervo do HCPA.

Imagem dermatoscópica da Figura A5, com aumento de 70X

Lesão de padrão multicomponente: assimetria de estruturas e cores. Rede pigmentar atípica, estrias radiadas, área homogênea/sem estruturas. Cores marrom, preta, braco-azulada.

Quadrado: Véu

Estrela: estrias radiadas

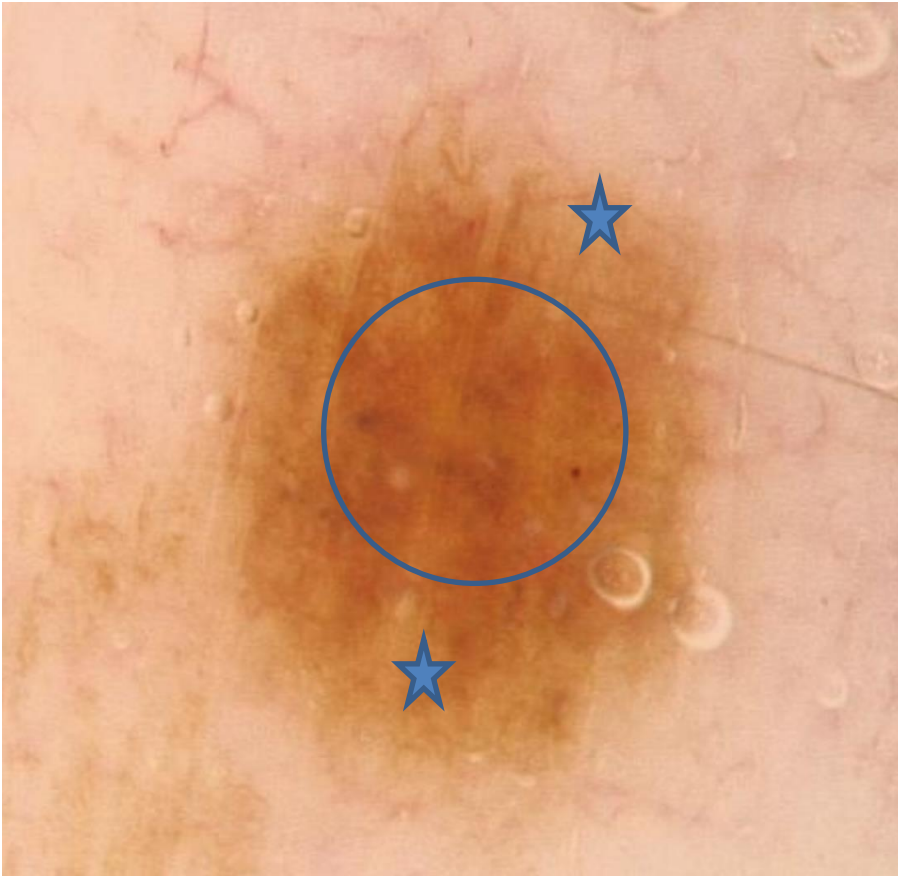
Círculo maior: área homogênea/sem estruturas.

Triângulo invertido: Rede atípica

Círculo: área branco-azulada

Flecha: cor preta

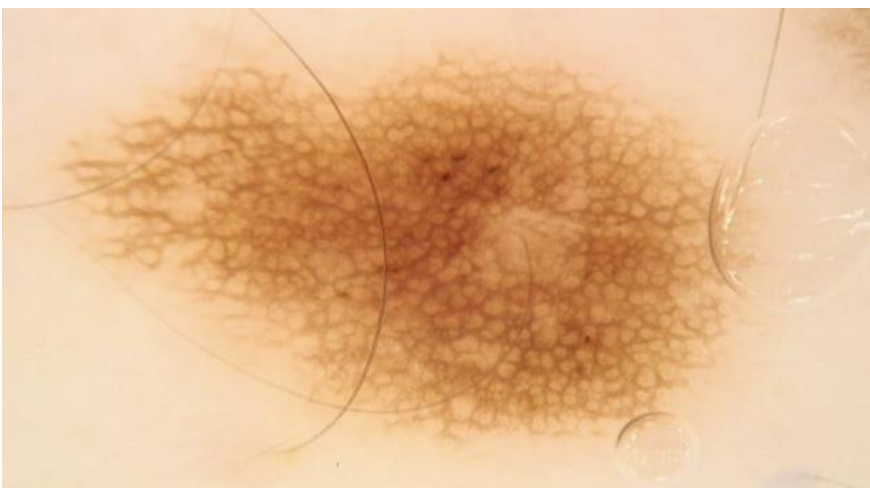
Figura A7: Imagem dermatoscópica de lesão melanocítica benigna



Fonte: Acervo do autor.

Imagem dermatoscópica com aumento (40X), de padrão homogêneo/sem estruturas no centro (círculo) e reticular na periferia (estrela)

Figura A8: Imagem dermatoscópica de lesão melanocítica benigna



Fonte: Acervo do autor.

Imagem dermatoscópica com aumento (40X) de lesão de padrão puramente reticular

ANEXO A - Adaptação da análise de padrões, segundo Pehamberger

Pehamberger desenvolveu metodologia para diferenciar lesões melanocíticas benignas de malignas, a qual foi posteriormente standarizada.

Seguem as descrições de alguns achados dermatoscópicos relevantes para a interpretação do presente estudo:

a) Padrão global das lesões

Padrão multicomponente: presença de três ou mais características dermatoscópicas na mesma lesão.

Padrão reticular: presença predominante de rede pigmentar (caracterizada por assemelhar-se ao favo de mel)

Padrão homogêneo: presença predominante de pigmentação homogênea

Padrão clobestone: presença de glóbulos de forma predominante

Padrão paralelo: presença de pigmentação nos sulcos ou nas cristas das áreas palmar e plantar.

Padrão starburst: presença de estrias radiadas ou pseudópodes distribuídos e toda a periferia da lesão.

b) Achados dermatoscópicos:

Rede pigmentar: caracterizada por assemelhar-se a uma figura de favo de mel. Quando atípica, predomina um formato bizarro dessas estruturas

Glóbulos: representados por figuras arredondadas ou ligeiramente anguladas, as quais podem assumir qualquer coloração. São ninhos de melanócitos com diâmetro $>0,1\text{mm}$

Pontos: caracterizado por figura representativa de um ponto (.). São ninhos de melanócitos com diâmetro $<0,1\text{mm}$

Estrias ramificadas: Desestruturações de rede, formando estruturas lineares

Estrias radiadas: estruturas lineares na periferia da lesão, formada por ninhos de melanócitos justapostos.

Véu branco-azulado: macha de coloração braco-azulada ocasionada por hiperqueratose da superfície associada ao derrame pigmentar.

Blotches: área pigmentadas homogêneas que pode de de cor preta, marrom e cinza.

Estruturas de regressão: áreas brancas de aspecto cicatricial que corresponde a

regressão do melanoma

Peppering: derrame pigmentar como estrutura de regressão, representado por pontos cinza.

Estruturas romboidais: padrão de formação pigmentar característico de lesões faciais.

REFERÊNCIAS

Pehamberger H, Steiner A, Wolff K. In vivo epiluminescence microscopy of pigmented skin lesions. I: pattern analysis of pigmented skin lesions. *J Am Acad Dermatol.* 1987;17(4):571-83.

Rezze GG, Sá BCS, Neves RI. Dermatoscopia: o método de análise de padrões. *An Bras Dermatol.* 2006;81(3):261-8.

Yamada S. Papel e importância da dermatoscopia. In: Wainstein AJA, Belfort F. *Melanoma: prevenção, diagnóstico, tratamento e acompanhamento.* 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 2014. p. 83-92.