

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

**Alterações Clínicas, Dermatoscópicas, Histopatológicas e Imuno-histoquímicas de
Nevos Melanocíticos Irrradiados com Raios Ultravioleta B**

Autor: José Carlos Santos Mariante

Orientador: Prof. Dr. Lucio Bakos

Dissertação de Mestrado

Porto Alegre

2003

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

**Alterações Clínicas, Dermatoscópicas, Histopatológicas e Imuno-histoquímicas de
Nevos Melanocíticos Irrradiados com Raios Ultravioleta B**

Autor: José Carlos Santos Mariante

Orientador: Prof. Dr. Lucio Bakos

Dissertação de Mestrado

Porto Alegre

2003

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a duas pessoas que em diferentes momentos dedicaram todo o seu amor e empenho a meu favor e ao meu crescimento pessoal e profissional. Para Dona Lia, minha mãe, que logo cedo se viu sozinha, para cuidar dos filhos, mas, que apesar das dificuldades, com muito esforço, dedicação e amor, sob a vigilância de meu falecido pai, soube completar a educação de minha Família, baseadas no trabalho, honestidade e dedicação.

Dedico também para Sandra, minha esposa, que soube tolerar todos os momentos de minha ausência, todas as minhas variações de humor e que também, com muito amor, nunca me fez desistir dos meus objetivos.

1. AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Lucio Bakos, orientador deste estudo, símbolo de dedicação e conhecimento em Dermatologia no Brasil, que pela sua conduta profissional exemplar e apaixonante no ensino, cativa todos os dias, novos médicos a seguirem seu caminho. Com certeza é o grande precursor e incentivador dos Cursos de Pós-Graduação em Dermatologia no Rio Grande do Sul, e por estas razões, muito me honra e me enche de orgulho, a chance de ter trabalhado sob sua supervisão em todos os momentos de minha vida acadêmica: como acadêmico em medicina, como residente e agora como pós-graduando. Agradeço por sua paciência e enorme boa vontade e disposição, que mesmo nos momentos mais atribulados e difíceis de sua vida, sempre reservou algum tempo para supervisão e esclarecimento das minhas dúvidas em todas as etapas deste trabalho.

Ao Dr. André Cartell, pelo seu notável conhecimento em patologia dermatológica, como poucos no Rio Grande do Sul, dedicou muito do seu tempo na avaliação da patologia e IMUNO-HISTOQUÍMICA deste trabalho. Profissional incansável e respeitado na aquisição do conhecimento em Patologia Dermatológica e seu ensino em todos os níveis da vida acadêmica. Agradeço por sua ajuda, dedicação e amizade que não mediu esforços, nem tempo em sua inestimável contribuição para esta avaliação.

A Dra. Tânia Cestari, professora do Serviço de Dermatologia Do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, sumidade no conhecimento da Fotomedicina no Brasil, pelo incentivo e ajuda nos mais diferentes momentos desta pesquisa.

A Dra. Cecília Correa, Chefe do Serviço de Dermatologia do Ambulatório de Dermatologia Sanitária, profissional com grande conhecimento na área de Dermatologia Clínica e da Dermatoscopia, que com sua amizade e dedicação foi de enorme ajuda na avaliação das fotos clínicas e dermatoscópicas deste trabalho.

A Dra. Vânia Naomi Hirakata, pelo seu notável conhecimento em Bioestatística e informática em pesquisa, com sua disponibilidade e boa vontade forneceu inestimável ajuda nos resultados finais desta pesquisa.

Ao Dr. Antonio Carlos Pütten, chefe do Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, por viabilizar a execução deste trabalho no serviço de patologia.

Ao Dr. Sérgio Ivan Torres Dornelles, hoje mestre em Dermatologia, um grande amigo que conheci durante as aulas do curso de Pós-graduação, por suas orientações que muito me ajudaram na elaboração desta pesquisa.

À Sra. Flávia Rejane Giusti, técnica responsável pela execução dos exames de IMUNO-HISTOQUÍMICA do Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pela sua inestimável contribuição para a realização deste trabalho.

Ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, por seu constante apoio técnico, viabilizando a realização de vários projetos de pesquisa. Agradeço também a ajuda financeira através do Fundo de Incentivo à Pesquisa, importante para a realização dos exames de Imuno-histoquímica.

Ao Centro de Estudos e Pesquisas Dermatológicas de Porto Alegre (CEPEDERM), entidade voltada e criada para o apoio à pesquisa e ao desenvolvimento da Dermatologia em nosso Estado.

Às Dras. Rosane Schimidt, Cristina da Cunha Brodt, Cristina Sperhacker Bianchessi, Cristine Kloechner Kraemer, Taciana de Oliveira Dal' Forno, Cristiane Benvenuto Andrade, Fabiano Siviero Pacheco, Letícia Fanck Emer, Luciane Allgayer, Rafaela Correia Bergmann e Tobias Orlandini, que como ex-residentes do Serviço De Dermatologia do Hospital de Clínicas De Porto Alegre, pela sua amizade e interesse que demonstraram nesta pesquisa, encaminhando os pacientes voluntários.

Às Dras. Ana Luiza Reusch e Lidiana Mayer Knebel e ao Dr. Renato Marchiori Bakos, que atualmente e como acadêmicos prestaram enorme ajuda e interesse em diferentes momentos desta pesquisa.

Aos Professores e Preceptores do Programa de Residência Médica em Dermatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Dr. Luiz Fernando Bopp Muller, Márcia Salete Zampese, Mirian Pargendler Peres, Ane Maria Simões Pires, Isabel Cristina Palma Kuhl e

Marlene Laks Weissbluth, que pela ajuda dispensada, permitiram que este trabalho foi realizado.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Medicina Interna por sua inestimável contribuição, dedicação e exemplo que com todas as dificuldades, mantém a maior qualidade na formação de mestres e doutores em toda a evolução do curso.

Aos funcionários do Ambulatório de Dermatologia, em todos os seus setores, alguns já conhecidos de muitos anos, pela sua boa vontade e ajuda prestadas, também contribuíram para a realização deste estudo, em especial a Sra. Bernadete Hahmeyer.

Aos funcionários do Centro Cirúrgico Ambulatorial do Hospital de Clínicas De Porto Alegre, no cuidado e respeito prestados aos pacientes participantes desta pesquisa.

Aos funcionários do Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pela sua competência em suas atividades, possibilitaram uma agilidade muito maior na conclusão destas atividades.

Aos pacientes voluntários provenientes do Município de Gravataí e do Ambulatório de Dermatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pela boa vontade que compareceram às várias consultas necessárias à conclusão do protocolo de atividades desta pesquisa, colaborando assim de forma grandiosa e sem interesse, na aquisição de novos conhecimentos que de forma indireta poderá trazer benefícios a sua própria sociedade.

2. ABREVIATURAS

ABCD, Regra do: Artífício utilizado para facilitar o reconhecimento de lesões suspeitas de malignidade pela dermatoscopia. As letras indicam: A de **assimetria** da forma; B de presença de **bordas** abruptas; C de presença de até 6 **cores**; D de **diferentes** estruturas.

CCA – Centro Cirúrgico Ambulatorial

cm – centímetro

DNA – Deoxyribonucleic acid

DNCB - dinitroclorobenzeno

DEM - dose eritematosa mínima

DEMs - doses eritematosas mínimas

HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

HMB-45 – monoclonal mouse anti-human melanoma. Anticorpo monoclonal utilizado como marcador de ativação metabólica de melanócitos

H&E – hematoxilina-eosina

J/m² - joules por metro quadrado

KI67 – antígeno nuclear marcador de ativação do ciclo celular

mm - milímetro

mJ/cm² - milijoules por centímetro quadrado

nm – nanômetro

PAP – Peroxidase-Anti-Peroxidase. Técnica de preparação de imunoperoxidase para o anticorpo HMB-45 e a proteína S-100

p21 – polipeptídeo com peso molecular de 21 kDa. Antígeno nuclear marcador de inibição do ciclo celular

p53 – polipeptídeo com peso molecular de 53 Kda. Antígeno nuclear marcador de dano ao DNA

PCNA – *proliferating cell nuclear antigen*

PUVA – Psoraleno mais Ultra Violeta A (8-metoxipsoraleno (8-MOP), seguida da exposição à radiação de ondas longas, entre 320 e 400nm).

RUV - radiação ultravioleta

RUV-A - radiação ultravioleta A

RUV-B - radiação ultravioleta B

RUV-C - radiação ultravioleta C

S-100 – proteína cujo nome deriva de sua solubilidade em sulfato de amônio 100% saturado em pH neutro, utilizada como marcadora de lesões melanocíticas

UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

UVA - ultravioleta A

UVA I - ultravioleta A na faixa de 400-340 nm de comprimento de onda

UVA II - ultravioleta A na faixa de 340-320 nm de comprimento de onda

UVB - ultravioleta B

UVC - ultravioleta C

W/cm² - watts por centímetro quadrado

SUMÁRIO

1.	Dedicatória e Agradecimentos.....	3
2.	Abreviaturas.....	7
3.	Introdução.....	12
4.	Fundamentação Teórica.....	17
	a) Melanoma.....	18
	b) Fatores de risco para melanoma.....	19
	c) Radiação ultravioleta e câncer de pele.....	24
	d) Radiação ultravioleta: efeitos clínicos.....	26
	e) Radiação ultravioleta: efeitos histopatológicos.....	27
	f) Radiação ultravioleta: efeitos imunológicos.....	27
	g) Evidências da influência da exposição solar na etiologia dos melanomas.....	28
	h) Evidências da influência da exposição solar em nevos melanocíticos na etiologia dos melanomas.....	29
	i) Radiação ultravioleta: pesquisa com nevos melanocíticos.....	30
	j) Dermatoscopia.....	33
	k) Radiação ultravioleta: alterações detectadas pela dermatoscopia.....	38
	l) Imuno-histoquímica com S-100 e HMB-45.....	40
	m) Radiação Ultravioleta: efeitos na imuno-histoquímica.....	42
5.	Objetivos e Hipóteses.....	44
6.	Referências Bibliográficas.....	46
7.	Artigo em Português.....	60
	Sumário.....	61
	Introdução.....	61
	Pacientes e Métodos.....	61

	10
Resultados.....	.61
Conclusões.....	61
Palavras-Chave.....	61
Introdução.....	62
Pacientes e Métodos.....	62
Delineamento.....	64
Voluntários Estudados.....	64
Crítérios de Inclusão/Exclusão.....	64
Equipamentos.....	64
Procedimentos (Desenvolvimento).....	65
Análise Estatística.....	67
Considerações Éticas.....	68
Resultados.....	68
Discussão.....	71
Conclusões.....	80
Referências Bibliográficas.....	81
Anexo 1: Figuras e Tabelas.....	87
8. Artigo em Inglês.....	98
Abstract.....	99
Introduction.....	99
Patients and Methods.....	99
Results.....	99
Conclusions.....	99
Key Words.....	100
Introduction.....	100
Design.....	102
Patients and Methods.....	102
Subjects Studied.....	102

Inclusion/Exclusion Criteria.....	102
Equipments.....	102
Procedurs (Development).....	103
Statistical Analyses.....	105
Ethical Considerations.....	106
Results.....	106
Discussion.....	109
Conclusions.....	117
References.....	119
Annexe 1- Tables and Graphics.....	124
Anexo 2 – Termo de Consentimento Informado.....	135
Anexo 3 – Questionário e Protocolo de Investigação.....	137
Anexo 4 – Instrumentos para Coleta de Dados.....	139

INTRODUÇÃO

3. INTRODUÇÃO

Os nevos melanocíticos são lesões dermatológicas comuns, presentes em aproximadamente 1% dos recém nascidos. Quando presentes após o nascimento, alguns surgem entre os 6 e os 12 meses de vida. A maioria, no entanto, se desenvolve gradualmente durante a infância e, mais rapidamente, durante a adolescência, acompanhando o crescimento corporal e atingindo a maior média, em número e tamanho, na terceira e quarta décadas de vida. A partir desta faixa etária, alguns tendem a regredir e desaparecer lentamente (1). Existem formas características de nevos, com tamanho, padrão de crescimento, uniformidade das bordas, superfície e cores, na maioria das vezes, distintas das lesões dermatológicas pigmentadas malignas podendo ser reconhecidos por diferentes métodos de avaliação clínica.

O melanoma é a principal lesão dermatológica maligna a ser distinta dos nevos melanocíticos, por suas características morfológicas, clínicas e histopatológicas, prevalência e mortalidade. A maioria dos casos surge de melanócitos em áreas de pele são aparentemente sem nevos precursores, provavelmente ligados a outros fatores de risco, tais como: presença de múltiplos nevos adquiridos, nevos atípicos, nevos congênitos, história familiar ou pessoal de melanoma, quantidade de exposição à radiação ultravioleta, queimaduras solares na infância, sensibilidade à luz solar e imunossupressão (2).

Unna, em 1884, foi o primeiro a descrever a relação entre exposição solar e câncer de pele (3). Os tipos de radiação ultravioleta (RUV) causadoras dos melanomas e o mecanismo fisiopatogênico ainda são controversos, porém, é sugerido que os períodos de exposição intermitentes e intensos, são mais prejudiciais do que a exposição regular e moderada que, em alguns trabalhos, pareceu diminuir o risco para o desenvolvimento de melanoma (4, 5). A maior parte do dano ocorre nas primeiras décadas de vida, especialmente com queimaduras solares dolorosas, com eritema intenso ou com formação de bolhas, consideradas as mais associadas com o desenvolvimento futuro de melanomas. Achados clínicos e epidemiológicos favorecem a hipótese "intermitente", para que o risco de

melanomas dos tipos Nodular e Expansivo Superficial esteja aumentado com a exposição à radiação ultravioleta, especialmente em pacientes com pouca pigmentação ou espessura cutânea (6, 7). Já o tipo Melanoma Lentigo Maligno ocorre com maior frequência em pacientes mais idosos, predominantemente em homens e em regiões com intensa exposição solar prévia, como a face, ou seja, este tipo parece estar ligado à dose cumulativa de Ultravioleta (UV) em uma determinada porção do corpo (8).

Com a constatação da ocorrência de um aumento gradual do número de nevos até a idade adulta e sua alta concentração em áreas fotoexpostas (9), alguns estudos tem sugerido que a RUV possa contribuir para o seu surgimento e crescimento, bem como sua influência sobre alterações reversíveis ou não, ligadas a transformações displásicas de melanócitos epidérmicos, semelhantes às encontradas em nevos atípicos precursores de melanoma (10, 11, 12, 13, 14). Mesmo que sua influência seja forte, ainda não é claro o mecanismo exato de desenvolvimento.

Os nevos melanocíticos se constituem como um dos mais importantes fatores de risco, para alguns autores, especialmente se considerarmos fatores quantitativos (número ou área total com nevos) e qualitativos (presença de nevos displásicos)(15). Um fato importante a destacar é até que ponto estas lesões são clinicamente estáveis morfológicamente e até quando, e como, fatores externos como por exemplo, a RUV, podem alterar suas características ou como estes podem influenciar a história natural de sua evolução. Clark e cols. descreveram em 1984, seis passos para a progressão tumoral do melanoma, iniciando com um nevo melanocítico adquirido e evoluindo através de uma "diferenciação aberrante" até terminar em melanoma metastático (16). Naqueles geneticamente propensos a desenvolver nevos displásicos, esta lesão inicial pode se desenvolver gradualmente até um limite, a partir do qual começassem a surgir atipias nucleares (displasia melanocítica). Cada um destes estágios pode representar um evento genético específico da célula. As evidências clínicas e epidemiológicas sugerem a possibilidade de que os nevos melanocíticos, ou a exposição a RUV, ou ambos atuem como

gatilho neste mecanismo de transformação. Mesmo assim, esta possibilidade ainda é contestada por alguns autores (17).

Estudos recentes realizados na Alemanha, Áustria e Austrália (18, 19) através da utilização de RUV produzida artificialmente sobre nevos sem características displásicas ou malignas com verificação posterior das alterações ocorridas, com os métodos diagnósticos disponíveis em nosso meio: clínica, dermatoscopia (convencional ou digital), histologia, imunohistologia e microscopia eletrônica, têm buscado alguma relação entre estes dois fatores de risco para o surgimento do melanoma: exposição solar e aparecimento de modificações de lesões pigmentadas.

Além da avaliação clínica, a dermatoscopia (dermoscopia, microscopia direta da pele, epiluminescência, microscopia de superfície) é, hoje em dia, um método de rotina na avaliação semiológica dermatológica, com boa sensibilidade e especificidade no diagnóstico das lesões pigmentadas (20). O método tem permitido a visualização de estruturas morfológicas de lesões pigmentadas, não visíveis a olho nu e correlacionadas com características histológicas específicas. Com os critérios próprios da técnica, nevos melanocíticos foram avaliados após sua exposição a doses determinadas de RUV demonstrando alterações transitórias na aparência dermatoscópica, especialmente após sete dias da realização, por vezes sugestiva de melanoma ou de transformação maligna.

Na histopatologia, já são bem definidas as alterações morfológicas em nevos melanocíticos indicativas de transformação maligna. Tronnier e cols. demonstraram que a exposição de nevos melanocíticos a uma dose padrão de UVB pode induzir a alterações morfológicas que simulam melanoma *in situ*, sendo dose-dependentes e reversíveis em algumas semanas (10). A Imuno-histoquímica com o anticorpo HMB-45 mostrou aumento de sua expressão em todos os nevos irradiados, indicando a ativação dos melanócitos e formação de melanossomas. Posteriormente, este mesmo grupo evidenciou com os anticorpos tipo HMB-45, p53, PCNA, Ki67 e KiS11, que a exposição de nevos melanocíticos a UVB induz a alterações morfológicas e a um aumento da atividade proliferativa e

reparativa nos melanócitos, muito mais evidente em lesões expostas agudamente do que continuamente (20).

Considerando as características étnicas da população do nosso meio, com predomínio da raça branca e suas peculiaridades como a ascendência européia, alta susceptibilidade solar, presença de grande número de lesões melanocíticas e uma das maiores incidências de neoplasia de pele do País (21), e com base nos resultados e métodos de investigação de alguns destes estudos citados, foram avaliados os efeitos, após sete dias de exposição a 2 Doses Eritematosas Mínimas (DEMs) de radiação ultravioleta B (RUVB), em nevos melanocíticos de pacientes atendidos no Ambulatório de Dermatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Os nevos foram avaliados considerando os aspectos clínicos, a dermatoscopia, a histopatologia e a imuno-histoquímica, com utilização dos anticorpos HMB-45 e proteína S-100. É importante considerar que apesar de alguns autores já terem usado a metodologia utilizada nesta avaliação, empregando estes modos de avaliação isoladamente ou, no máximo, dois métodos associados, não existem trabalhos que tenham avaliado as lesões pigmentares com os quatro métodos de forma conjunta.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

a) Melanoma

O melanoma é considerado um tipo de câncer curável se detectado e apropriadamente tratado nas fases precoces do seu desenvolvimento (15). Ao contrário de outros tipos de cânceres, que só podem ser detectados até que estejam muito desenvolvidos ou com metástases, o melanoma pode ser reconhecido precocemente em muitos casos pelo exame clínico, pela dermatoscopia e pela histologia (20, 21, 22). Nos Estados Unidos, o risco estimado para o desenvolvimento do melanoma é de 1 para 75 e, segundo os registros de câncer da América do Norte, Europa e Austrália, a incidência tem aumentado nas últimas décadas, girando em torno de 20 a 30% a cada 5 anos (23).

Um levantamento epidemiológico realizado no Rio Grande do Sul de 1980 a 1999, observou-se um aumento da mortalidade até 1994, com pico de incidência máximo neste ano decrescendo lentamente nos anos subseqüentes (21). A maior incidência atingiu indivíduos do sexo masculino em municípios onde historicamente há predominância da população com pele clara. Ao mesmo tempo em que observamos um aumento de sua incidência, estamos mais conscientes que a maioria das mortes poderiam ser evitadas pelo reconhecimento dos indivíduos com maior risco, buscando basicamente dois objetivos: 1- remover ou acompanhar lesões pigmentadas de alto risco, precursoras de melanoma; 2- diagnosticar o melanoma nos estágios precoces antes do desenvolvimento de metástases (24).

Para entendermos um pouco da etiologia dos melanomas é importante o reconhecimento dos seus fatores de risco. Rhodes e cols. definiram os principais fatores de risco: lesões melanocíticas com alterações novas e persistentes, um ou mais nevos displásicos, nevos congênitos, raça caucasiana, história prévia de melanoma ou em familiares próximos, imunossupressão, sensibilidade solar e exposição solar prévia excessiva (23). Em um estudo de caso-controle multicêntrico do Registro Central de Melanoma da Sociedade Alemã de Dermatologia, analisando mais de cinco mil casos de

melanoma, foi constatado que o número total de nevos melanocíticos, o número de nevos melanocíticos atípicos, o número de lentigos solares, o número de nevos melanocíticos em crescimento, a cor de cabelo e o tipo de pele representam os fatores de risco mais importantes (25). Este mesmo Grupo avaliou outros fatores possivelmente associados à etiologia destes marcadores de risco, como queimaduras solares antes da idade de 20 anos contribuindo para o desenvolvimento de nevos melanocíticos múltiplos e atípicos, e a relação entre a presença de sardas na adolescência e a ocorrência de duas ou mais queimaduras solares antes dos 20 anos (26). Em nosso meio, Bakos e cols em um estudo de caso-controle com 103 casos de melanoma, concluíram que a ocorrência freqüente de queimaduras solares parece ser o fator de risco mais importante para sua ocorrência na população branca na região sul do Brasil (27)

b) Fatores de Risco para Melanoma:

Entre os fatores de risco já citados no item anterior, destacam-se alguns que serão avaliados nesta dissertação:

1- Lesões melanocíticas com alterações novas e persistentes: O melanoma cutâneo usualmente surge como uma lesão pigmentada já alterada morfológicamente, com aspecto pouco usual em relação a outras lesões pigmentadas concomitantes e nem sempre relacionado com lesões névicas pré-existentes. Numa proporção variando entre 2% e 85% entre os mais diferentes levantamentos, observou-se a existência de história prévia de lesões melanocíticas (28), por um período médio de três anos, estando alteradas em média, em torno de seis meses antes de consulta médica especializada (29). Na maioria das vezes este "atraso" se deve à falta de conhecimento, pelos pacientes ou por alguns médicos, de alterações significativas que caracterizem lesões de risco ou de suas conseqüências.

2- Número de Nevos Melanocíticos: do ponto de vista epidemiológico, em relação à pesquisa do melanoma, alguns autores consideram o número de nevos melanocíticos adquiridos como o mais importante fator de risco e que, com o esclarecimento de sua etiologia, poderemos chegar a entender as causas do seu surgimento (29, 30). A busca de possíveis causas ainda apresenta resultados conflitantes. Podemos classifica-los em fatores

constitucionais (idade, sexo, raça, presença de sardas, capacidade de bronzeamento e propensão a queimaduras solares) e fatores comportamentais (exposição à radiação UV, ingestão de álcool, dieta e uso de contraceptivos orais) (5, 31, 32, 33, 34). Kelly e cols. consideraram que crianças australianas até a idade de 15 anos, além destes fatores relacionados, a prevalência de nevos melanocíticos tem influência direta com a latitude (35). Um outro estudo feito por Luther e cols. em 1996, confirmaram tais evidências e consideraram um risco aumentado também para crianças com mais de 21 dias por ano de exposição solar intensa (36).

Os nevos melanocíticos são considerados como sendo as lesões de pele mais comuns, com sua frequência estimada em recém nascidos, em torno de 1% (37). Esta frequência aumenta na infância e adolescência com auge na terceira década de vida (1). Nesta fase, bem como na gestação ou durante terapias sistêmicas com estrógenos ou corticosteróides, também podem ocorrer aumento do tamanho e da pigmentação destas lesões. Alterações semelhantes ou relacionadas a transformações em nevos atípicos foram consideradas por alguns autores (38, 39, 41) e descartadas por outros (17). Harth e colaboradores sugerem que a exposição solar cumulativa contribua para a indução de nevos melanocíticos até a terceira década de vida, e sua persistência, por diferentes mecanismos, também para o seu desaparecimento (39). Rampey e cols. descartaram uma possível relação entre surgimento de nevos adquiridos e displásicos com exposição ultravioleta (17).

Os nevos melanocíticos são compostos por melanócitos ou células névicas, de origem neural e provavelmente relacionados a um defeito migratório destas células a partir da crista neural, localizadas na derme ou junção dermo-epidérmica (40). Os melanócitos são células dendríticas localizadas na epiderme, entre os queratinócitos da camada basal. Sua função é a produção de melanina e sua transferência aos queratinócitos circunjacentes e, desta forma, também os protegendo dos efeitos da RUV. Nas pessoas normalmente com pouca pigmentação, a proteção é menos eficiente se comparada com aquelas de maior pigmentação. Neste caso o DNA dos melanócitos está sob risco de efeitos potencialmente mutagênicos que podem atuar como iniciadores de lesões tumorais.

A lesão melanocítica adquirida considerada mais precoce é o Lentigo Simples que normalmente se apresenta com 2 ou 3 mm de diâmetro, simétrica, circunscrita e uniformemente colorida com tons de vermelho, castanho, amarelo, marrom e até preto. Algumas lesões podem permanecer estáveis por vários anos, podem evoluir com o aparecimento de ninhos de células névicas junto à epiderme, ou migrar para a derme, completando sua evolução. São classificados e descritos na patologia, dependendo da localização na derme, em Nevo Juncional, apresentando ninhos de células névicas confinadas à junção dermo-epidérmica; Nevo Intradérmico possuindo ninhos de células somente na derme e Nevo Composto, evidenciando células em ambas as localizações (1, 24). Na avaliação clínica, estes tipos de nevos podem se apresentar de vários tamanhos e formas como papular, nodular, verrucosa, polipóide ou papilomatosa.

3- Nevos Displásicos: Também denominados nevos atípicos ou nevos de Clark (24) são nevos melanocíticos, geralmente do tipo composto, identificados pelo exame histopatológico pela presença de atipia arquitetural e celular de células névicas. Estes nevos podem ser vistos esporadicamente ou com ocorrência familiar. Pacientes com nevos displásicos e história familiar de melanoma em dois ou mais familiares, tem um risco muito alto de desenvolvimento tumoral. Na forma esporádica, sem história familiar, constitui um marcador individual de risco aumentado para o desenvolvimento de melanoma, tanto na pele normal como em nevos já presentes, risco este variando entre 10 e 20% (42). Embora a maioria dos nevos displásicos seja estável biologicamente, acredita-se que em torno de 5% da população branca apresente tais lesões, e que 25% dos melanomas são delas provenientes (43).

Ao contrário dos nevos melanocíticos adquiridos, que tendem a diminuir em número, com o envelhecimento, os nevos displásicos continuam surgindo e se desenvolvendo durante a vida. Estudos já mostraram sua ocorrência mais comum em adultos jovens (44), em parte, de sua origem a partir de famílias propensas, ligadas a fatores genéticos, provavelmente ligada à síndrome do nevo displásico e, de outra parte, também a partir de nevos melanocíticos comuns por indução solar (45, 46). Estes também relacionam o seu

tamanho e número com a quantidade de exposição solar recebida. Ainda assim, pouco se sabe da etiologia dos nevos displásicos, com alguns estudos mostrando uma influência direta da RUV estimulando a formação de nevos atípicos (23, 24, 26, 47), enquanto outros autores não evidenciaram esta associação (17, 48, 49).

As principais alterações arquiteturais são hiperplasia melanocítica lentiginosa, fusão de ninhos de melanócitos e alongamento de cones interpapilares. As alterações citológicas nos melanócitos são o aumento da relação núcleo e citoplasma, aumento da pigmentação nuclear e presença ocasional de figuras de mitose, ou seja, com atipia celular, infiltrado linfocítico, fibroplasia do colágeno na derme papilar e aumento da vascularização local (50,51). Embora a atipia celular seja difícil de ser reconhecida em muitas lesões, o diagnóstico de nevo displásico deve ser feito com cuidado na completa ausência de atipia. A presença destas atipias, provavelmente ligadas a anormalidades cromossômicas, são consistentes com a hipótese de que os nevos displásicos se constituem em um reservatório de melanócitos neoplásicos e com risco de sofrer mutações adicionais (7).

São reconhecidas uma série de características clínicas de forma, cor e tamanho que caracterizam estas lesões. Estudos posteriores, entretanto, não mostraram uma correlação completa destes achados com a patologia, reservando o termo nevo "atípico" para considerações da clínica e "displásico" para lesões com os achados de patologia descritos anteriormente (52).

4- Nevos Melanocíticos Congênitos: Aproximadamente 1% dos recém nascidos apresenta lesões compatíveis clinicamente com nevos melanocíticos congênitos (53). São normalmente divididos em três categorias dependendo do tamanho: pequenos, de até 1,5 cm. de diâmetro; médios, entre 1,5 e 20 cm. e grandes ou gigantes com mais de 20 cm. Embora a maioria seja de tamanho pequeno, os grandes são considerados com maior potencial de transformação maligna (54, 55). O risco estimado de nevos congênitos pequenos para o desenvolvimento de melanoma varia entre 2,6 e 4,9% (55), para tamanhos intermediários o risco ainda é incerto e para os nevos gigantes já foi estimado em até 20% (41). Rhodes e colaboradores consideram um risco maior para o desenvolvimento de

melanoma a partir de nevos congênitos pequenos de 8,1%, pela confirmação histológica, e 57,9% com dados a partir de questionários; 19,2% dos casos foram correlacionados histologicamente com nevos melanocíticos adquiridos (41). Na literatura mundial esta associação varia entre 2,6% e 8,1% para a histologia e entre 9% e 41% com dados a partir de questionários (56). Séries publicadas sobre a existência prévia de lesões pigmentadas com melanomas mostraram em média uma associação de nevo congênito gigante de um para 1130 casos (23, 41).

Os nevos gigantes, ainda que raros, podem ter formas de apresentação típicas, mais comuns na coxa ou porção dorsal inferior, especialmente ao nível da coluna vertebral, podendo estar associados a anormalidades ligadas com envolvimento meníngeo, espinha bífida ou meningomielocele, ou afetando grandes áreas da superfície cutânea que, com o crescimento, tendem a adquirir aspecto rugoso ou verrucoso, com presença de pêlos (54).

Os achados de patologia apresentam aumento do número de melanócitos na camada basal em um padrão lentiginoso, agregados de células névicas por vezes até a hipoderme, e circundando apêndices cutâneos e nervos, achados típicos deste tipo de lesão (51). Muitos nevos melanocíticos são considerados hamartomas pela presença de muitos folículos pilosos e outros apêndices cutâneos.

5- Exposição Solar Prévia: Evidências epidemiológicas sugerem uma complexa relação entre o melanoma cutâneo e exposição solar, algumas mostrando uma associação positiva, outras não. Por exemplo, a ocorrência de melanoma é maior em áreas anatômicas menos expostas à radiação ultravioleta diária (no homem, maior incidência no dorso e na mulher nas pernas, em comparação com menos de 20% na cabeça e pescoço) ou em relação à dose cumulativa de exposição ultravioleta (maior incidência em trabalhadores de ambientes internos do que de ambientes externos) (56), ou talvez porque a reprodução experimental de melanoma cutâneo em animais seja mais difícil se comparada com os tumores cutâneos não melanocíticos, que podem ser reproduzidos em ratos (57). Outros estudos demonstraram que em uma população homogênea etnicamente pode apresentar

diferenças significativas no risco de ocorrência de melanoma em razão de diferenças no seu comportamento, com especial interesse nos hábitos de exposição solar recreacional (58).

c) Radiação Ultravioleta e Câncer de Pele

A radiação ultravioleta (RUV) faz parte de uma pequena porção do espectro eletromagnético. Outras regiões deste espectro incluem ondas de rádio, microondas, infravermelho, luz visível, raios x e raios gama, caracterizados pelo espectro de onda. A RUV compreende a região entre 400 e 200nm. Neste espaço, os efeitos biológicos desta radiação variam com o comprimento de onda e, por esta razão, o espectro é subdividido em 3 regiões: UVA (400 a 320nm), UVB (315 a 280nm) e UVC (280 a 200). Recentemente, a região UVA tem sido dividida em UVA I (400-340 nm) e UVA II (340-320nm) relacionadas com suas diferentes ações. Tanto a qualidade quanto a quantidade da radiação UV terrestre se alteram de acordo com a hora do dia, estação do ano, localização geográfica, latitude, espessura da camada de ozônio, presença de nuvens e hábitos de lazer ou profissionais levando a uma constante variação de sua intensidade e com sua diminuição particularmente em comprimentos de onda abaixo de 320nm. Por esta ação, a faixa de RUV-C (280-200 nm), embora seja a mais nociva para o DNA celular, têm sua penetração bloqueada pela atmosfera terrestre. Os outros tipos de radiação, apesar de serem filtradas em até 95%, estão presentes em boa quantidade na superfície da Terra (15, 59). Por exemplo, ao meio-dia de um dia de verão, a radiação ultravioleta B representa 5% da radiação UV terrestre e a UVA o restante. Ainda assim, a região do espectro mais ativa biologicamente é da RUV-B.

O conhecimento da carcinogênese relacionada com o tipo de radiação solar se aprimorou a partir da década de 60 com estudos realizados em camundongos. Até então se entendia que a neoplasia cutânea fosse induzida somente por UVB e UVC enquanto Roffo em 1939 afirmava que comprimentos de onda maiores que 320 nm não induziam câncer em ratos (59). Recentemente, Sterenberg e Van Der Leun mostraram evidências que RUV-A também pode induzir câncer de pele em modelos animais numa intensidade 1000 vezes menor que RUV-B. Apesar disto, a RUV-B é muito mais efetiva que a RUV-A como

causadora de dano biológico, contribuindo com cerca de 80% dos efeitos danosos associados com a exposição solar. (59)

Dois fatores de risco importantes para carcinogênese cutânea são a constituição genética individual e a quantidade de exposição solar ultravioleta acumulada, principalmente ligada ao tipo de pele, geralmente clara, com sardas, que não bronzeia ou bronzeia muito lentamente, geralmente acompanhado de olhos e cabelos claros, característicos das famílias de origem nórdica. Nestas pessoas, normalmente com pouca pigmentação, a proteção é menos eficiente se comparada com aquelas com mais pigmentação (59). Neste caso o DNA dos melanócitos está sob risco de efeitos potencialmente mutagênicos que podem atuar como iniciadores de lesões tumorais. O fato de a RUV exercer um estímulo mitogênico normal sobre os melanócitos, faz deste um agente promotor tumoral, ou seja, um carcinógeno completo dentro do mecanismo patogênico tumoral (7, 60).

Outro fator de risco igualmente importante se relaciona à quantidade de exposição solar cumulativa e ao tipo de radiação ultravioleta. O tipo mais carcinogênico, que é a radiação ultravioleta B (RUV-B), apresenta intensidades variáveis dependendo da latitude, altitude, horário de exposição, estação do ano, poluição ambiental e espessura da camada de ozônio (59), com efeitos variáveis relacionados ao tipo de rotina individual, profissional, no lazer e no vestuário (59, 60, 61). Populações vivendo em baixas latitudes são muito mais afetadas cronicamente por uma exposição solar repetida ao longo de décadas como fator determinante para o câncer de pele não melanocítico (62). A exposição solar intermitente ou queimaduras solares na infância são os fatores mais importantes para o melanoma (63, 64). Desta forma, a hipótese da exposição solar intermitente parece conferir um risco maior de melanoma que a exposição crônica (60). Baseados nesta hipótese, vários investigadores já avaliaram o comportamento de crianças e adolescentes relacionados à proteção solar ou a episódios de queimaduras solares prévias (25). Uma revisão de 16 estudos de caso-controle averiguou que naqueles casos de melanoma, existe a lembrança de pelo menos três episódios prévios de queimadura solar severa em relação aos controles, ou seja, a ocorrência de queimaduras solares precocemente, é um forte indicador para a ocorrência

posterior de melanoma (26, 64, 65, 66). Kricker e colaboradores, em 1994 buscando uma relação entre a incidência tumoral e níveis de exposição solar, concluíram que os membros de uma população razoavelmente homogênea etnicamente podem apresentar diferentes riscos para melanoma, por apresentar diferenças no seu comportamento, resultante de grandes variações pessoais de exposição ultravioleta (62). Esta variação individual pode depender de três importantes fatores:

- Da intensidade da RUV ambiental.
- Da fração da radiação ambiental recebida em um sítio anatômico.
- Do comportamento individual e o tempo de exposição à RUV.

d) Radiação Ultravioleta: Efeitos Clínicos

Clinicamente, os efeitos da exposição ultravioleta B evidenciam-se por inflamação caracterizada por vasodilatação, identificada até 5 horas após, dependendo do tipo de pele e da dose de radiação, como eritema, que é a reação aguda mais comum, tornado-se gradualmente visível e atingindo o máximo em 24 horas, esmaecendo habitualmente em três dias. A pigmentação ou bronzeamento é um efeito retardado, mediado por melanócitos, com a produção de melanina sob estímulo do hormônio estimulador de melanócitos (MSH), liberado pelos queratinócitos. Esse processo também pode se iniciar com o dano ao DNA ou às bases pirimidínicas (70). A melanina produzida absorve e dissipa a radiação UV e é distribuída na epiderme dentro dos melanossomos por dendritos dos melanócitos particularmente abaixo dos núcleos dos queratinócitos basais. Dessa forma, a pigmentação que surge atua de forma protetora contra o dano celular (59).

O espessamento da pele que, clinicamente, manifesta-se por escamação, ocorre por proliferação epidérmica e inicia-se após algumas horas. É considerado um efeito retardado, pois só se torna evidente histologicamente em duas ou três semanas, proporcional ao dano imposto (59). O efeito da exposição à radiação UVB após dois ou três minutos induz à degradação de proteinases, colagenases, gelatinases e proteínas, com dano ao colágeno e elastina dérmicos (59, 71), contribuindo para seus efeitos tardios clinicamente aparentes por fotoenvelhecimento (59, 72).

Com os sinais inflamatórios pós-irradiação, pode-se aplicar métodos de avaliação do eritema como uma forma indireta de mensurar os danos provocados pela exposição à RUV-B. A análise da dose eritematosa mínima (DEM) representa um importante fator clínico na avaliação da sensibilidade da pele individual à radiação solar. Representa a energia que é necessária para determinar o mínimo eritema perceptível na pele exposta à RUV. Quando se utiliza a RUV-B, medida em mJ/cm^2 ou J/m^2 , a leitura do teste é feita em 24 horas, quando o eritema é máximo (15). A maioria dos trabalhos que pesquisam os efeitos da RUV na pele, utilizaram até quatro DEM, pois acima desse limite a possibilidade de queimadura, dor, edema e bolhas é muito grande.

e) Radiação Ultravioleta: Efeitos Histopatológicos

Os efeitos histopatológicos da exposição à radiação ultravioleta dependem da profundidade da penetração dos diferentes comprimentos de onda. UVC é absorvido principalmente pelo estrato córneo, ainda que possa penetrar o suficiente para atingir a epiderme inferior e os vasos da derme papilar, causando eritema. UVB exerce seu efeito especialmente na epiderme, enquanto UVA penetra especialmente na derme sem causar efeitos significativos na epiderme (72, 74, 75). Outros efeitos histológicos observados após irradiação com UVB são: dano aos queratinócitos em 30 minutos, podendo apresentar dano significativo ao DNA e apoptose, com pico entre 24 horas e três dias (72); degranulação e diminuição do número de mastócitos entre 3 e 5 horas; edema celular endotelial em 24 horas; neutrófilos na derme em 14 horas, substituído em seguida por infiltrado mononuclear com pico entre 14 e 21 horas; espongiose na epiderme, evidente após 24 horas; linfócitos T de 24 a 72 horas; macrófagos na epiderme após 72 horas e diminuição das Células de Langerhans (59).

f) Radiação Ultravioleta: Efeitos Imunológicos

A partir de estudos realizados em animais, evidenciou-se que a radiação ultravioleta atua não só como agente indutor e promotor carcinogênico, mais também como imunossupressor (76), alterando os melanócitos, agindo como geradora de instabilidade genética e de mutações associadas ao desenvolvimento tumoral contínuo (77), ou talvez a

um agente imunossupressor específico que favoreça a evolução natural de lesões susceptíveis. Embora com mecanismo ainda indefinido, Fisher e colaboradores sugerem que essa imunossupressão possa ser transferida através de linfócitos T (78) ou mediada por Interleucina-10 (79). Dessa forma, a radiação UV, além de induzir à formação de novos antígenos na pele, pode causar a transformação em células malignas e bloquear também a resposta imune a esses cânceres. Em humanos, evidências de imunossupressão são menos diretas, mas a constatação do aumento de casos de câncer de pele em pacientes imunossuprimidos por transplante renal, previamente expostos à luz solar, também indica uma possível ação imunossupressora da radiação UVB nos linfócitos T, constituindo um passo importante de sua carcinogênese (80, 81).

Imunologicamente, essa susceptibilidade para carcinogênese com a exposição à radiação ultravioleta B foi demonstrada por Yoshikawa e colaboradores, que em 100% de pacientes caucasianos, com biópsias prévias de câncer de pele, não demonstraram sensibilização pelo Dinitroclorobenzeno (DNCB) após exposição aguda em baixa dose a esse tipo de radiação (82). Outros trabalhos mostraram que essa susceptibilidade induzida pela radiação UVB não é o único mecanismo necessário para o desenvolvimento e progressão tumoral (83) e independe do tipo de pele, sugerindo que a quantidade de melanina não oferece proteção suficiente contra os efeitos imunossupressores de baixas doses de UVB (84).

g) Evidências da Influência da Exposição Solar na Etiologia dos Melanomas:

As principais evidências epidemiológicas que corroboram essa influência são a maior incidência em raças de pele clara, quando em latitudes baixas ou próximas do Equador, em sítios anatômicos com maior exposição, sensibilidade solar, história de queimadura solar, história de exposição solar nos dez primeiros anos de vida e na adolescência, áreas com dano actínico, com presença de mais nevos melanocíticos e displásicos (7).

Com base nas conclusões de vários estudos torna-se importante a hipótese de que a exposição solar intermitente e intensa ou queimaduras em pessoas de pele clara, especialmente na infância, associadas à presença de um bom número de nevos

melanocíticos, sejam fatores de risco importantes para o desenvolvimento de melanomas (4), especialmente do tipo expansivo superficial (59, 66).

h) Evidências da Influência da Exposição Solar em Nevos Melanocíticos e na Etiologia dos Melanomas

Ao se estudar a influência de dois fatores de risco (84) para melanoma maligno, como a exposição à radiação ultravioleta e os nevos melanocíticos, podemos levantar algumas considerações importantes:

- a RUV altera a atividade proliferativa e metabólica dos melanócitos (86);
- a presença de um número aumentado de nevos melanocíticos, como descrito anteriormente, é considerada um fator de risco para o desenvolvimento de melanoma (87). Por outro lado, o número de nevos melanocíticos é influenciado pela exposição solar, indicando uma possível "nevogênese" solar (46). Nicholls observou que o número de nevos melanocíticos atinge seu número máximo precocemente nas áreas mais expostas (88);
- após exposições repetidas à radiação ultravioleta, um número aumentado de melanócitos positivos para dihidroxifenilalanina é observado se comparado com o lado não-irradiado (60);
- após exposições repetidas à radiação ultravioleta, observa-se um aumento da incorporação de H-metil-timidina nos melanócitos da epiderme, indicando um aumento de sua atividade proliferativa. Essa alteração foi observada não só no lado irradiado como também no protegido de nevos melanocíticos (60, 89);
- a RUV pode alterar a morfologia dos melanócitos, como o aumento do conteúdo de melanina, aumento do número de dendritos *in vivo* e *in vitro*. Esses achados também foram observados em nevos atípicos adquiridos, considerados precursores de melanoma (89, 90);
- investigações realizadas com nevos melanocíticos na dependência da estação do ano em que são removidos revelaram que as lesões removidas no verão mais freqüentemente mostram um componente juncional, figuras de mitose e um infiltrado inflamatório (93). Essas características relacionam-se também com a cor dos olhos e cabelos, bem como com a

localização dos nevos. Em geral, as alterações são observadas por um curto período de duração (94).

i) Radiação Ultravioleta: Pesquisa com Nevos Melanocíticos

As observações que abordam os efeitos da exposição à RUV, não só na pele normal, mas especialmente em nevos melanocíticos ou atípicos, comparando o lado irradiado com o lado protegido, levaram ao desenvolvimento de vários trabalhos seguindo essa linha de pesquisa. As primeiras investigações desenvolvidas há algumas décadas com animais evidenciaram que a exposição aguda à radiação UVB levava inicialmente a um aumento da produção de melanina pelos melanócitos originais e, posteriormente, a um acréscimo de sua produção, pela ampliação do número de melanócitos resultante de um aumento de sua atividade mitótica (86, 96).

A possibilidade de que os efeitos locais da radiação UVB pudessem alterar também os melanócitos de áreas protegidas mediante um fator sistêmico foi mencionada na literatura no início da década de 70 (97). Rosdahl, em 1979, avaliou em ratos os efeitos da exposição aguda à radiação UVB por 20 semanas em pele irradiada e protegida. Obteve um aumento do número de melanócitos epidérmicos na área protegida somente após a primeira semana depois da irradiação, o que provavelmente ocorreu pela formação de um possível fator sistêmico originário da pele exposta, que regularia o balanço da população de melanócitos em toda a superfície cutânea como forma de aumentar a prontidão da pele a futuras exposições solares (68).

Utilizando um modelo animal com ratos, Kripke e colaboradores, em 1989, trabalharam a hipótese do envolvimento da radiação UV na indução de tumores cutâneos e evidenciaram que sua ação, durante a indução de melanomas com agentes carcinogênicos químicos, acelerava dramaticamente o seu surgimento localmente e não sistemicamente (98). Esses pesquisadores, em 1991, utilizaram um grupo de ratos irradiados e não-irradiados com o objetivo de entender os mecanismos que levam a radiação UVB a alterar as propriedades da pele permitindo o desenvolvimento de melanomas, com o argumento de que ela interfere com a sua resposta imune. Diminuindo a resistência do hospedeiro ao

desenvolvimento tumoral, observaram os efeitos da implantação de células tumorais de diferentes tipos, no grupo irradiado e também em outro grupo imunossuprimido com raios X. Houve desenvolvimento de todos os melanomas e de quatro fibrossarcomas implantados no grupo imunocompetente e de nenhum dos tumores no grupo de ratos atímicos, concluindo que os efeitos do UVB não são específicos para os melanomas e evidenciando sua ação imunomoduladora do hospedeiro (99).

Em 1998, um estudo desenvolvido em ratos, com enxerto de pele humana e expostos por três semanas a doses de UVB, demonstrou que 77% desenvolveram hiperplasia melanocítica e apenas um melanoma nodular. Esse foi o primeiro estudo a demonstrar com evidência experimental o surgimento de melanoma em pele humana após exposição UV, sem ainda responder a questões importantes relacionadas à frequência, intensidade e duração de UVB necessárias para indução de melanoma (100).

Stierner e colaboradores, em 1989, demonstraram pela primeira vez em humanos que a luz UV podia induzir a um aumento da população de melanócitos na pele exposta em comparação com a pele não exposta. O estudo foi conduzido com 21 pacientes, com exposição de forma intermitente, três vezes por semana, em 17 dias, com doses crescentes de exposição à RUV-B em áreas de pele protegidas e não-protegidas. Observou-se um aumento da densidade da população de melanócitos tanto na área exposta quanto na protegida, bem como do volume e do número de dendritos de cada melanócito. Com esse trabalho, os pesquisadores concluíram e suportaram a idéia de que períodos curtos e intensos de exposição poderiam causar mais dano do que exposições regulares (60).

Noz e colaboradores, em 1996, publicaram um trabalho relatando os efeitos da radiação UVB em cultura de melanócitos derivados do prepúcio, nevus melanocíticos e nevus displásicos, demonstrados por um método de eletroforese denominado "Comet Assay" para detecção de dano ao DNA. As células névicas derivadas de nevus displásicos mostraram a maior sensibilidade à radiação UVB, com 65% de indução de dano ao DNA em comparação com as células névicas prepuciais. As células derivadas de nevus melanocíticos mostraram 30% de sensibilidade. Observaram também que as culturas de

melanócitos não-irradiados derivados de nevos displásicos mostravam sensibilidade semelhante, demonstrando um dano ao DNA preexistente (105).

Michael Tronnier, do Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina de Lubeck, na Alemanha, apresentou e publicou vários trabalhos na década de 90, também seguindo essa metodologia e estudando especialmente os efeitos da exposição aguda da RUV sobre lesões névicas:

Em 1995, trabalhou em 12 nevos melanocíticos de 10 pacientes, investigando os efeitos da exposição aguda da RUV em histopatologia e imuno-histoquímica, comparando um lado irradiado com duas doses eritematosas mínimas (DEMs) com uma DEM, correspondendo em média entre 27 e 33 mJ/cm² e o lado não-irradiado do mesmo nevo, com sua remoção após sete dias. Em sete lesões observou-se um aumento do número de melanócitos acima da junção dermo-epidérmica, e em três simulando melanoma *in situ*. Na imuno-histoquímica com HMB-45, houve um aumento de sua expressão em todos os nevos, após irradiação, indicando uma ativação dos melanócitos e a formação de melanossomos. O aumento da atividade desses melanócitos corresponde a achados estruturais, como aumento do citoplasma, aparelho de Golgi hipertrófico e aumento de mitocôndrias e melanossomas em diferentes estágios. Sugere, nesse artigo, que o nevo irradiado faça parte da lista dos chamados “simuladores de melanoma” (10). Nesse mesmo ano, seguindo essa linha de pesquisa, trabalhou com 17 nevos de 14 pacientes que, após exposição a duas DEM (com uma DEM correspondendo em média de 13 a 33 mJ/cm²), mostraram significativo aumento dos melanócitos suprabasais e da expressão de HMB-45. Em outros nevos removidos após quatro semanas da irradiação não foram observadas diferenças significativas entre o lado irradiado e o não-irradiado, indicando que os efeitos da radiação UV são transitórios (11).

Em 1997, o mesmo autor comparou os efeitos da exposição aguda com 2 e 4 DEM e intermitente diária suberitemogênica durante 4 a 6 semanas, na histopatologia e imuno-histoquímica, agora usando HMB-45, p53, PCNA, KiS7 e KiS11. Alterações morfológicas e um aumento da atividade proliferativa e reparativa nos melanócitos foram mais observadas

nas lesões expostas agudamente do que intermitentemente. Afirmava com isso a importância da exposição aguda e intermitente no desenvolvimento de lesões melanocíticas benignas e malignas (101).

Além disso, avaliou a expressão das moléculas de adesão na pele normal de 5 pacientes, em 29 nevos melanocíticos e em 10 melanomas, pela imuno-histoquímica, também considerando um lado irradiado com 4 DEM e outro não-irradiado. A adesão entre as superfícies celulares representa um mecanismo fundamental na organização tecidual que influencia o comportamento biológico e arquitetural dos tumores. Nesse sentido, a RUV induziu alterações morfológicas e no arranjo dos melanócitos em nevos congênitos. Em nevos melanocíticos houve um aumento da expressão das integrinas $\alpha3\beta1$ e $\alpha6\beta1$ na camada suprabasal da epiderme, associado a um aumento do número de melanócitos suprabasais no mesmo lado irradiado, com expressão do anticorpo HMB-45. Nove em 10 nevos congênitos mostraram expressão da integrina $\alpha4\beta1$ somente nos melanócitos da derme profunda. Essa integrina já foi previamente associada com o aumento da espessura tumoral e com o comportamento clínico dos melanomas. Os resultados indicam uma correlação entre a expressão das moléculas de adesão e achados histopatológicos de lesões melanocíticas (102).

Em 1998, mostrou que as alterações histológicas demonstradas em 7 lesões névicas após irradiação com quatro DEM, correspondendo em média de 13 a 24 mJ/cm², não eram seguidas da perda alélica de áreas cromossômicas idênticas achadas em melanócitos displásicos de nevos atípicos. Esse achado suporta a hipótese que eventos genéticos não específicos ocorrem após irradiação UV, seguidos pelo aumento de vários mecanismos de reparo contra danos genéticos específicos e perda da heterozigosidade (90).

j) Dermatoscopia

Como foi apontado previamente, vários trabalhos e várias teorias já foram levantados sobre os efeitos da radiação UVB em nevos melanocíticos, detectáveis clinicamente, pela patologia e imunologia. A dermatoscopia constitui outro método importante na prática clínica

dermatológica diária, de extrema relevância na observação da expressão de alterações em nevos sob efeito da radiação ultravioleta.

A dermatoscopia, dermoscopia, epiluminescência, microscopia de superfície ou microscopia de luz incidente representa um método não invasivo realizado "in vivo" para lesões de pele, utilizando um tipo de microscópio ou dermatoscópio dotado de luz incidente que forma um ângulo agudo com a pele associada ao uso de óleo de imersão (103, 104).

Hinselmann, que introduziu a colposcopia na ginecologia, sugeriu, em 1933, o uso da estereomicroscopia para a observação de lesões de pele. Goldman foi o primeiro a observar lesões de pele pigmentadas pela microscopia direta em 1951 e a usá-la sistematicamente na avaliação diagnóstica. Foi quase esquecida por 20 anos e usada quase exclusivamente para capilaroscopia, até que em 1971, Mackie, Goldman, Fritsch e Pehamber aperfeiçoaram o método, passando a empregar a estereomicroscopia usada na cirurgia oftalmológica aliada ao uso do óleo de imersão, utilizado até então na avaliação pré-operatória de lesões de pele pigmentadas. Esses investigadores descreveram pela primeira vez a rede pigmentar, hoje utilizada como um dos critérios de distinção entre lesões de pele pigmentadas benignas e malignas (103). No início do seu desenvolvimento, eram usados estereomicroscópios binoculares, comumente utilizados em cirurgia oftalmológica e cirurgia plástica, que permitiam uma ampliação de imagem de até 80 vezes. As principais desvantagens eram o tamanho, peso e custo do equipamento. Com o aprimoramento da técnica surgiram aparelhos portáteis, monoculares, pequenos, de fácil manuseio, baratos e equipados com lentes acromáticas, que permitem um aumento a partir de 10 vezes. A fonte de luz é abastecida com uma bateria ou pilhas comuns e suas limitações principais se referem à pouca ampliação de imagem e à visão bidimensional. Atualmente já são possíveis o registro e a análise diagnóstica dessas imagens adquiridas por máquinas fotográficas ou captadores de imagem adaptados à transmissão por fibra óptica, ligados a aparelhos de televisão comuns ou digitalmente a computadores de última geração, permitindo a análise, mensuração e diagnóstico de lesões melanocíticas.

A técnica de utilização é simples: empregando-se óleo de imersão sobre a lesão em estudo e cobrindo-a com uma lente localizada em uma das extremidades do dermatoscópio, aplica-se leve pressão a fim de eliminar os reflexos de luz sobre a superfície, fazendo com que o estrato córneo fique translúcido e permitindo ao observador visualizar, através da epiderme, até a junção dermo-epidérmica ou até mais além, se essa lesão possui pouca pigmentação (103). Normalmente essas estruturas não são visíveis a olho nu, permitindo este método a visualização de uma nova dimensão de estruturas, cores e padrões.

Algumas das desvantagens do método talvez estejam ligadas à necessidade do estudo constante da técnica e de uma boa experiência no uso, a fim de melhorar sua sensibilidade e especificidade diagnóstica (103). Por esta razão, se fez necessária a definição e descrição dos achados que aparecem com regularidade nos diferentes tipos de lesões, criando uma nova terminologia e analisando cada padrão surgido, a fim de sistematizar e facilitar o uso do método. Os critérios são definidos por termos puramente descritivos e que mantêm uma correlação com os achados histopatológicos. A detecção, a análise e a correlação desses critérios permitem a colocação desses achados relacionados a um tipo de lesão (103, 104).

Como exemplo temos o tipo de cor, que com a dermatoscopia pode variar, dependendo da localização da melanina na pele. Nas porções mais superiores da epiderme ou nas camadas córneas, as alterações de melanina aparecem em negro. Nas porções inferiores da epiderme, a cor já muda para o marrom, o que, dependendo da distribuição da pigmentação, dá origem a uma estrutura chamada de rede pigmentar ou a glóbulos que representam ninhos de melanina nessa camada. Pigmento na derme papilar aparece como cinza e na derme reticular aparece com tonalidade azulada. Esses padrões de pigmentação podem ser uniformes, obscurecendo outras estruturas ou revelando padrões de pigmentação diferenciados, que correspondem a estruturas que podemos correlacionar com a histopatologia e na distinção entre lesões pigmentadas malignas e benignas (103).

Em 1989, em Hamburgo, ocorreu o encontro do chamado "Committee on Analytical Morphology of the Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung", com o objetivo de

definir achados e termos (tabela 1), standardizando a terminologia que deveria ser usada em trabalhos científicos e grupos de estudo com esse tema, para facilitar a comunicação e o estudo do método para o dermatologista clínico (105).

Tabela 1 – correlação de achados histopatológicos e seus significados diagnósticos propostos para os achados da dermatoscopia (106):

Critério da Dermatoscopia	Achados histopatológicos	Significado Diagnóstico
Rede pigmentar	Papilas dérmicas alongadas e pigmentadas com número aumentado de melanócitos na camada basal	Lesão melanocítica
Crescimento da rede pigmentar	Aumento do número de melanócitos atípicos irregularmente dispostos na epiderme hiperplásica	Início do desenvolvimento do melanoma
Rede pigmentar discreta	Papilas levemente pigmentadas	Lesão melanocítica benigna
Rede pigmentar proeminente	Papilas muito pigmentadas	Provável lesão melanocítica maligna
Rede pigmentar larga	Maior número de papilas pigmentadas	Melanoma, particularmente melanoma in situ
Rede pigmentar regular	Papilas regularmente distribuídas	Lesão melanocítica benigna
Rede pigmentar Irregular	Papilas irregularmente distribuídas	Nevo displásico, melanoma
Glóbulos	Ninhos de pigmento na derme papilar	Regular: nevo intradérmico Irregular: melanoma maligno
Áreas hipopigmentadas	Diminuição da quantidade de melanina	Lesões melanocíticas
Pontos pretos	Grupos de células pigmentadas na camada córnea	Melanoma
Véu esbranquiçado	Ortoceratose compacta e hipergranulose	Melanoma
Extensões irregulares, pseudópodos	Ninhos de pigmentação confluentes, juncional na borda da lesão	Melanoma
Áreas despigmentadas tipo cicatriz	Perda de melanina, fibrose	Melanoma em regressão
Áreas azul-acinzentadas	Fibrose e melanófagos na derme papilar	Melanoma em regressão
Despigmentação reticular	Papilas dérmicas muito crescidas	Nevo de Spitz
Áreas circunscritas vermelho-azuladas	Espaços vasculares dilatados na derme papilar	Hemangioma, angioqueratoma
Telangiectasia	Vaso dilatado na derme papilar	Carcinoma basocelular
Áreas com bordas cinzas-marrons-pretas	Agregados de células basalóides pigmentados	Carcinoma basocelular
Pontos branco-amarelados	Pseudocistos córneos	Ceratose seborreica

Nenhum desses achados é critério absoluto ou confirmatório para o diagnóstico de uma lesão melanocítica pigmentada, mas sim na avaliação crítica e simultânea da combinação desses padrões morfológicos, ou seja, o diagnóstico não pode ser baseado no achado de apenas uma dessas estruturas ou não pode ser excluído por sua ausência. A maioria dos trabalhos enfatiza o achado dessas estruturas como de "significado diagnóstico", representando os achados mais vistos em determinado tipo de lesão. Alguns desses padrões surgem em lesões em desenvolvimento, em que ainda não é possível um diagnóstico definitivo pela avaliação clínica ou dermatoscópica. Essas estruturas podem estar ausentes em lesões de pele pigmentadas não melanocíticas, o que representa um problema para o diagnóstico diferencial (106). Algumas alterações, como rede pigmentar irregular, presença de capilares, borda abrupta e irregular, véu azul-acinzentado, glóbulos e pontos pretos irregulares, são fortemente indicativas de nevos atípicos ou melanoma (106).

Segundo Wolff e cols (107), alguns critérios devem ser considerados na avaliação dermatoscópica:

- a presença de critérios é mais importante que sua ausência;
- a presença de um único critério não é suficiente para se fazer o diagnóstico;
- alguns critérios são mais importantes que outros no diagnóstico de certos tipos de lesões, ou seja, a seleção de alguns padrões ou critérios podem melhorar a acurácia diagnóstica para certos tipos de lesão melanocítica;
- a ausência de critérios definidos não permite o diagnóstico dermatoscópico.

Além disso, consideram a dermatoscopia com potencial de melhorar as limitações diagnósticas, pelo reconhecimento precoce de lesões pigmentares malignas em comparação com a avaliação clínica, com algumas vantagens, a saber:

- 1) melhora o diagnóstico diferencial entre lesões melanocítica e não-melanocíticas;
- 2) ajuda na distinção entre padrões de crescimento de lesões malignas e benignas;
- 3) melhora o diagnóstico preditivo de lesões pigmentadas e melanoma, favorecendo o diagnóstico precoce e diminuindo a necessidade de exérese precoce ou desnecessária de várias lesões (107).

Esse mesmo grupo, em 1987, concluiu que houve uma melhora na sensibilidade diagnóstica de quase todas as 318 lesões pigmentadas estudadas em uma pesquisa. Observou-se uma melhora da acurácia nas seguintes lesões: para melanomas nodulares pequenos, de 50% para 70%; para melanoma de espalhamento superficial não invasor, de 46% até 80%; para melanoma expansivo superficial invasor, de 64% para 90% e para lentigo maligno melanoma, de 67% para 88%. Paralelamente, o diagnóstico de nevo de Spitz pigmentado melhorou de 46% para 93% e do carcinoma basocelular pigmentado de 60% para 90%, ambas as lesões importantes no diagnóstico diferencial dos melanomas. Além disso, estabelece achados típicos para nevos displásicos como rede pigmentar irregular ou em pontos isolados. A completa ausência de rede pigmentar, comum a todos os tumores pigmentados não-melanocíticos, ou a presença de rede pigmentar em todas as lesões melanocíticas pigmentadas talvez seja um dos critérios mais importantes estabelecidos para o diagnóstico diferencial realizado pela dermatoscopia (108).

Não há dúvidas de que o método deva ser melhorado e que somente com estudos continuados poderemos estabelecer padrões de estudos que tornem esse tipo de avaliação mais objetiva, como por exemplo, a regra do ABCD (A de **assimetria** de forma; B de presença de **bordas** abruptas; C de presença de até 6 **cores**; D de **diferentes** estruturas) (120). Uma alternativa para esse problema é a análise de imagens dermatoscópicas por computador (109,110).

k) Radiação Ultravioleta: Alterações Detectadas pela Dermatoscopia

Ignazio Stanganelli e colaboradores, em 1996, baseados em estudos prévios que mostravam alterações da biologia e morfologia de nevos após exposição solar, aumento da contagem mitótica, proliferação de células névicas, aumento do componente juncional, inflamação e regressão durante o verão, desenvolveram um trabalho mostrando a prevalência de achados da epiluminescência digital em nevos localizados em áreas de exposição solar intermitente e sua correspondência histopatológica em séries de pacientes estudadas no verão e séries no inverno. No verão, foram detectadas alterações, como rede pigmentar mais proeminente, pontos pretos de tamanho variado e distribuição irregular, de

localização periférica e despigmentação periférica. As alterações da rede pigmentar correspondem na patologia a um número aumentado de melanócitos atípicos arranjados em ninhos irregulares na epiderme hiperplásica. Os pontos pretos correspondem a aglomerações de células pigmentadas nas camadas mais altas da epiderme e a coleções de melanina dentro e entre melanócitos. Sua irregularidade em tamanho e localização corresponde à atipia de células névicas (111). Esse mesmo grupo, em trabalho de 1997, comparou imagens digitais obtidas em seqüência de 40 nevos melanocíticos de 11 pacientes em três momentos: de 3 a 13 dias após exposição solar, com média de 6 dias e, por fim, após 5 semanas. Foi observado aumento de número e tamanho de pontos pretos e despigmentação. Em duas lesões foram percebidas estruturas compatíveis com crescimento radial, pseudópodos e áreas azul-acinzentadas. Como já visto, crescimento radial e pseudópodos correspondem à presença de ninhos de melanócitos atípicos na epiderme hiperplásica (112). As áreas azul-acinzentadas, de acordo com Kenet e colaboradores, são altamente compatíveis com atipia histológica. Um outro caso mostrou importante regressão da rede pigmentar, como resultado de reação inflamatória progressiva no local. Após cinco semanas, houve regressão parcial ou total das alterações detectadas nessas estruturas. Por fim, consideram que a exposição solar pode causar confusão na demonstração dos achados da microscopia de superfície por um certo período de tempo (112).

Com esse mesmo objetivo, Wolf e colaboradores avaliaram se doses suberitematógenas de UVB, muito usadas no tratamento de doenças de pele, podem levar a alterações em nevos melanocíticos detectáveis pela microscopia de superfície. Foram estudados 80 nevos em 13 pacientes, todos localizados no tronco, documentados antes e depois da terapia com UVB, que teve duração média de oito semanas e com dose média de 1120 mj/cm². Metade das lesões foram protegidas da exposição. Os nevos não protegidos tornaram-se mais irregulares e mais escuros, provavelmente relacionados com a ativação de melanócitos. Os nevos protegidos não mostraram alterações significativas. Nas imagens obtidas pela dermatoscopia, as principais alterações observadas foram a rede pigmentar e

glóbulos mais irregulares, mais escuros e largos, provavelmente relacionados com a síntese de melanina. Após cinco semanas já não se observavam alterações significativas (113).

Em 1998, esse grupo registrou os efeitos de 2 DEM em 15 lesões névicas de 4 pacientes, obtidas a partir da imagem da dermatoscopia digital antes e após 3, 7, 14 e 28 dias da exposição. Observaram no terceiro dia que as bordas estavam mais claras, os nevos mais escuros, as áreas hipopigmentadas estavam menores e a rede pigmentar mais clara e menos proeminente. Após 7 dias, além das alterações anteriores, os glóbulos tinham apresentado crescimento. Em 28 dias, todos os parâmetros, exceto as áreas hipopigmentadas, eram os mesmos de antes da exposição. Concluíram que a ativação do sistema de produção de melanina parece ser o fator mais importante para o surgimento das alterações observadas no estudo que, embora transitórias, algumas podem ser sugestivas de melanoma maligno. O diagnóstico pela dermatoscopia de lesões melanocíticas após severa queimadura solar deve ser analisado com cuidado, recomendando-se um novo exame dessa mesma lesão após o primeiro mês. (114, 115, 116, 117).

I) Imuno-histoquímica com S-100 e HMB-45

Para o reconhecimento de alterações precoces em lesões melanocíticas após exposição ao RUV, deve-se considerar também o uso de anticorpos não específicos, porém sensíveis para o diagnóstico de melanoma, e que são utilizados comumente para diagnóstico de lesões melanocíticas ou de melanomas. São os chamados marcadores tumorais, que podem ser produzidos pelas células neoplásicas, por células não-cancerígenas e pelo sistema imune associado ao tumor. Podem estar presentes intracelularmente ou na superfície da membrana celular de onde podem ser liberados para os fluidos corporais. O número de marcadores tumorais geralmente aceitos para uso rotineiro na oncologia dermatológica é limitado (118). A gama de anticorpos monoclonais atualmente disponíveis para o reconhecimento de lesões melanocíticas não diferencia entre células melanocíticas benignas e malignas, mas pode diferenciar entre carcinoma espinocelular e melanoma, por exemplo. Os anticorpos mais freqüentemente usados com esse objetivo são a proteína S-100 e o anticorpo HMB-45. Nenhum é totalmente específico

para lesões melanocíticas, porém podem ajudar no diagnóstico, se usados em conjunto com a Hematoxilina e Eosina.

A proteína S-100 possui baixo peso molecular, tem característica ácida e é termolábil. Originalmente extraída do cérebro bovino, seu nome deriva de sua solubilidade em sulfato de amônio 100% saturado em pH neutro. É um dímero constituído de duas subunidades: α e/ou β , em que três combinações são possíveis. Para a subunidade α , 13 diferentes genes localizados no cromossomo 1q21 já foram definidos. Dezesete tipos diferentes de proteínas S-100 diferentes já foram descritas. A proteína S-100 se expressa em uma larga variedade de tecidos de origem neuroectodérmica, mesodérmica e ectodérmica. O dímero $\beta\beta$ é encontrado principalmente nas células gliais e de Schwann do sistema nervoso central e células de Langerhans. O dímero $\alpha\alpha$ está presente no músculo esquelético, cardíaco e rins, nos macrófagos, monócitos e melanócitos. A forma $\alpha\beta$ é encontrada nas células gliais e de melanoma. No melanoma, a subunidade β é positivamente correlacionada com a invasividade do tumor. As proteínas S-100 representam a maior família ligadora de cálcio que, ativando enzimas e modulando a interação de proteínas, fazem parte de vários processos do ciclo celular e da diferenciação celular, como motilidade, exocitose e endocitose, síntese protéica, permeabilidade de membrana, divisão celular e apoptose. Uma interação específica de S-100 com p53 supressor de proteína tumoral já foi descrita. Essa interação inibe a fosforilação da p53 pela proteína-quinase, mediando essa função no controle do crescimento celular (101, 119). A proteína S-100 pode ser detectada no citoplasma de melanócitos epidérmicos normais, nevos melanocíticos e melanoma primário e metastático. A proteína S-100 também está presente em tumores de células de Schwann benignos e malignos, células de Langerhans, apêndices neurais da pele, glândulas sudoríparas, ductos mamários e células mioepiteliais do tecido mamário. Ainda que se possa distinguir entre os componentes intraepidérmicos de nevos displásicos e melanoma de nevos adquiridos com as subunidades α e β da proteína S-100, existe uma sobreposição considerável e total falta de especificidade usando subunidades S-100 α e β

para diferenciar células névicas dérmicas das de melanoma invasivo. (15) Comercialmente disponível, a proteína S-100 é rotineiramente usada na imuno-histoquímica como marcador de lesões melanocíticas, altamente sensível, mas não específica (118, 119).

O anticorpo HMB-45 reage normalmente com um oligossacarídeo junto a um glicoconjugado presente em melanossomos imaturos. Seu antígeno está presente em melanócitos cutâneos, no epitélio retiniano pré-natal e infantil e células de melanoma (120). O anticorpo monoclonal HMB-45 identifica a maioria dos melanomas e outros tumores com diferenciação melanocítica, com exceção ocasional dos tipos desmoplásico e de pequenas células, e não mostra reatividade cruzada com carcinomas, linfomas, sarcomas e variavelmente, com melanócitos fetais e neonatais ou situados mais profundamente nos nevos intradérmicos. HMB-45 também mostra reatividade com ninhos de células névicas e melanócitos epidérmicos situados próximos a um melanoma (15, 101,120).

m) Radiação Ultravioleta: Efeitos na imuno-histoquímica

São poucos ainda os trabalhos que mostram na imuno-histoquímica os efeitos da exposição à RUV em nevos melanocíticos. Em 1998, Tronnier e cols. compararam os efeitos entre um lado irradiado e o outro lado não-irradiado de nevos melanocíticos, removidos após uma semana de exposição com dose conhecida de UVB (4 DEM). Foram usados os anticorpos Ki-S11 (Ki-67), Ki-S7 (topoisomerase II α), PC10 (PCNA), DO-7 (p53), 6B6 (p21) e HMB-45. Observaram, após exposição à RUV-B, alterações morfológicas e aumento da reatividade de HMB-45, aumento da expressão de Ki-67 e topoisomerase II α e aumento acentuado de PCNA, indicando proliferação. Houve aumento dos níveis de p21, que se relaciona com um mecanismo inibidor de crescimento, provavelmente compensatório ao aumento desproporcional de PCNA, refletindo atividade de reparo ao DNA. Concluíram que a luz UV pode estimular a atividade proliferativa de melanócitos em nevos melanocíticos e, ao mesmo tempo, ativar os inibidores do ciclo celular a fim de permitir o reparo ao DNA (101).

OBJETIVOS E HIPÓTESES

5. OBJETIVOS E HIPÓTESES

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Descrever os efeitos mais comuns e significativos decorrentes da exposição à radiação ultravioleta B equivalente a duas doses eritematosas mínimas, em nevos melanocíticos, através da utilização simultânea de diferentes métodos de avaliação utilizados em dermatologia: clínica, dermatoscopia, histopatologia e imuno-histoquímica.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1º- Descrever e quantificar os efeitos clínicos mais prevalentes e significativos em nevos melanocíticos, originados da exposição à radiação ultravioleta B, equivalente a duas doses eritematosas mínimas.

2º- Descrever e quantificar os efeitos dermatoscópicos mais comuns e significativos em nevos melanocíticos, provenientes da exposição à radiação ultravioleta B, equivalente a duas doses eritematosas mínimas.

3º- Descrever e quantificar os efeitos histopatológicos mais prevalentes e significativos de nevos melanocíticos, originados da exposição à radiação ultravioleta B, equivalente a duas doses eritematosas mínimas.

4º- Descrever e quantificar, através dos anticorpos HMB-45 e da proteína S-100, os efeitos imunohistoquímicos provenientes da exposição de nevos melanocíticos à radiação ultravioleta B, equivalente a duas doses eritematosas mínimas.

5º- Entre esses achados, comparar de forma conjunta as alterações mais comuns de nevos melanocíticos irradiados com radiação ultravioleta, descritas isoladamente na literatura.

6º- Destacar entre os achados mais freqüentes e com significância estatística das quatro modalidades estudadas anteriormente, aquelas alterações que, por estímulo da radiação

ultravioleta, possam simular o início de uma transformação maligna ou malignidade já estabelecida.

HIPÓTESES

HIPÓTESE PRINCIPAL

Existem alterações típicas detectáveis pelos métodos convencionais clínico-patológicos que podem caracterizar um limiar de modificações estruturais e funcionais sugestivas de fotodano em nevos melanocíticos por irradiação com ultravioleta B.

HIPÓTESE SECUNDÁRIA

Existem alterações em nevos melanocíticos, detectáveis pelos métodos freqüentemente utilizados na clínica dermatológica, após exposição ultravioleta B, que podem simular o início de uma transformação maligna.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 - HURWITZ S. Clinical Pediatric Dermatology. A Textbook of Skin Disorders of Childhood and Adolescence. 2nd ed. Philadelphia (Pennsylvania): W.B. Saunders Company; 1993;8: 198-241.

2 - KOPF AW, KRIPKE ML, STERN RS. Sun and malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1984; 11: 674-684.

3 - MCGREGOR JM. The history of human photobiology. In: Hawk JLM. *Photodermatology*. 1st ed., Arnold, London, 1999, p. 1-4.

4 - ARMSTRONG BK. Epidemiology of malignant melanoma: Intermittent or total accumulated exposure to the sun? *J Dermatol Surg Oncol* 1988; 14:835-849.

5 - WHITE E, KIRKPATRICK CS, LEE JAN. Case control study of malignant melanoma in Washington State, constitutional factors and sun exposure. *Am J Epidemiol* 1994; 139: 857-868.

6 - HOUGHTON AN, VIOLA MV. Solar radiation and malignant melanoma of the skin. *J Am Acad Dermatol* 1981; 5(4): 477-483.

7 - ELDER DE. Human neoplasms and their relationship with sunlight. *J Invest Dermatol* 1989; 92(5): 297S-303S.

8 - HOLMAN CDJ, ARMSTRONG BK, HEENAN PJ. A theory of the etiology and pathogenesis of human cutaneous malignant melanoma. *J Natl Cancer Inst* 1983; 71:651-6. Apud: WHITEMAN D, GREEN A. Melanoma and sunburn. *Cancer Causes Control* 1994; 5: 319-324.

9 - NGUYEN TD, SISKIND TD, GREEN L, et al. Ultraviolet radiation, melanocytic naevi and their dose-response relationship. *Br J Dermatol* 1997; 137:91-95.

10 - TRONNIER M, WOLFF HH. U.V. Irradiated melanocytic nevi simulating melanoma *in situ*. *Am J Dermatopathol* 1995; 17(1): 1-6.

11 - THONNIER M, SMOLLE J, WOLFF HH. Ultraviolet irradiation induces acute changes in melanocytic nevi. *J Invest Dermatol* 1995; 104(4): 475-81.

12 - AKASU R. Diagnosis and differential diagnosis of malignant melanoma by dermatoscope and videomicroscope. *J Am Acad Dermatol* 1994; 21(11): 891-3.

13 - SINCLAIR R. Solar neovogenesis a surrogate for predicting arise in incidence of malignant melanoma because of ozone depletion. *J Am Acad Dermatol* 1994; 31(1): 134-5.

14 - VANDEBERG JL, HUBBARD DL, ROBINSON ES. Genetic analysis of ultraviolet radiation induced hyperplasia and neoplasia in a laboratory. *Arch Dermatol* 1994; 26(1): 12-7.

15 - PATHAK MA. Acute and chronic affects of the sun. In: FREEDBERG IM, EISEN AZ, WOLFF K (eds). *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. 5th ed. Mc-Graw Hill, New York, 1999; 138: 1598-1607.

16 - CLARK WH, HELDER DE, GUERRY IV, et al. A study of tumor progression: The precursor lesions of superficial spreading and nodular melanoma. *Human Pathol* 1984; 15: 1147-1165.

17 - RAMPEN FHJ, FLEUREN BAM, BOO MD, LEMMENS WAJG. Prevalence of common "acquired" nevocytic nevi and dysplastic nevi is not related to ultraviolet exposure. *J Am Acad Dermatol* 1988; 18: 679-83.

18 - HOLFMANN-WELLENHOF R, SOYER HIP, SMOLLE J, WOLFF H, REISCLE S, et al. Influence of two minimal doses of UV radiation on dermatoscopic features of acquired melanocytic naevi. Abstracts of 4th. World Conference of Melanoma. *Melanoma Research* 1987; 27(7): 1.

19 - TRONNIER M. Effects of UV light and mechanical irritation on the morphology of melanocytic naevi. *Melanoma Research* 1997; 46 (7): 1.

20 - STOLZ W. MERICLE I, NACHBAR F, et al. The ABCD rule of dermatoscopy. High prospective value in the diagnosis of doubtful melanocytic skin lesions. *J Am Acad Dermatol* 1994; 286(1): 12-7.

21 - PERES MP, FERREIRA J, FREITAG FM, BAKOS L. Mortalidade por melanoma no Rio Grande do Sul. In: 5^a CONFERÊNCIA NACIONAL DE MELANOMA, 2001, São Paulo.

22 - STOLZ W, NACHBAR F, MERKLE T, COGNETTA AB, VOGT T, et al. The ABCD rule of dermatoscopy. High prospective value in the diagnosis of doubtful melanocytic skin lesions. *J Am Acad Dermatol* 1994; 30: 551-9.

23 - FITZPATRICK TB, RHODES AR, WEINSTOCK MA, SOBER AJ, MIHM MC. Risk factors of recognizing predisposed individuals. *JAMA* 1987; 258 (21): 1346-3153.

24 - ELDER DE, GREENE DE, BONDI EE, et al. Acquired melanocytic nevi and melanoma: The dysplastic nevus syndrome. In: Ackerman AB. (ed): *Pathology of Malignant Melanoma*. New York, Masson Publishers USA Inc, pp 185-215, 1981.

25 - GARBE C, BÜTTNER P, WEISS J, SOYER HP, STOCKER U, et al. Associated factors in the prevalence of more than 50 common melanocytic nevi, atypical melanocytic nevi, and actinic lentiginos: multicenter case-control study of the central malignant melanoma registry of the central malignant melanoma of the German Dermatological Society. *J Invest Dermatol* 1994; 30: 40-48.

26 - KOICHEVAR IE, PATHAK MA, PARRISH JA. Photophysics, Photochemistry, and Photobiology. In: FREEDBERG IM, EISEN AZ, WOLFF K (eds). *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. 5th Ed. New York, Mc-Graw Hill, 1999, cap. 16, p. 220-229.

27 - BAKOS I, WAGNER M, BAKOS RM, LEITE CSM, SPERHACKE CL, DZEKANIAK KS, GLEISNER ALM. Sunburn, sunscreens, and phenotypes: some risk factors for cutaneous melanoma in southern Brazil. *Int J Dermatol* 2002; 41(9): 557-562.

28 - RHODES AR, MELSKI JW. Small congenital nevocellular nevi and the risk of cutaneous melanoma. *J Pediatr* 1982; 100: 219-224.

29 - HOLLY EA, KELLY JW, SHAPALL SN. Number of melanocytic nevi as a major risk factor for malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1987; 17: 459-468.

30 - GROB JJ, GOUVERNET J, AYMAR D. Count of benign melanocytic nevi as a major indicator of risk for nonfamilial nodular and superficial spreading melanoma. *Cancer* 1990; 66: 387-395.

31 - AUGUSTSSON A, STIERNER U, ROSDAHL I. Common and dysplastic nevi as a risk factor for cutaneous malignant melanoma in a Swedish population. *Acta Dermatol Venereol Suppl (Stockh)* 1991; 71: 518-524.

32 - RAMPEM FHJ, VAN DER MEEREN HLM, BOEZEMAN JBM. Frequency of moles as a key to melanoma incidence? *J Am Acad Dermatol* 1986; 15:1200-1203.

33 - GREEN A, SISKIND V, HANSEN ME, et al. Melanocytic nevi in schoolchildren in Queensland. *J Am Acad Dermatol* 1989; 20: 1054-1060.

34 - POPE DJ, SORAHAN T, MARSDEN JR, BALL PM, PECK IM, et al. Benign pigmented nevi in children. *Arch Dermatol* 1992; 128: 1201-1206.

35 - KELLY JW, RIVERS JK, MACLENNAN R, HARRISON S, LEWIS AE, et al. Sunlight: A major factor associated with the development of melanocytic nevi in Australian schoolchildren. *J Am Acad Dermatol* 1994; 30:40-8.

36 - LUTHER H, ALTMAYER P, GARBE C, JAHN S, SEGERLING M, et al. Increase of melanocytic nevus counts in children during 5 years of follow-up and analyses factors. *Arch Dermatol* 1996; 132: 1473-1478.

37 - WALTON RG, JACOBS AH, COX AJ. Pigmented lesions in newborn infants. *Br J Dermatol* 1976; 95: 389-396.

38 - CRIJNS MB, KLAVER A, VAN HEES C, VERMEER BJ, BERGMANN W, et al. Ultraviolet exposure and the development of banal and atypical naevi, a cross-sectional study on Curaçao and in the Netherlands. *Melanoma Research* 1997; 7: 407-415.

39 - YORAM H, FRIEDMAN-BIRNBAUM R, LINN S. Influence of cumulative sun exposure to the prevalence of common acquired nevi. *J Am Acad Dermatol* 1992; 27: 21-4.

40 - MISHIMA Y. Macromolecular changes in pigmentary disorders. *Arch Dermatol* 1965; 91: 519-557. Apud: Hawk JLM. *Photodermatology*. 1st ed., Arnold, London, 1999, p. 43-52.

41 - RHODES AR, SOBER AJ, DAY CL, MIHM MC, FITZPATRICK TB, et al. The malignant potential of congenital nevocellular nevi. *J Am Acad Dermatol* 1982; 6: 230-241.

42 - MacKIE RM. Melanocytic naevi and malignant melanoma. In: CHAMPION RH, BURTON JL, BURNS DA, BREATHNACH SM (eds). Rook/ Wilkinson/Ebling. *Textbook of Dermatology*. 6th ed. Malden: Blackwell Science; 1998, cap. 38, p. 1717-1815.

43 - RHODES AR, HARRIST TJ, DAY CI, NIHM MC, FITZPATRICK TB, SOBER AJ. Dysplastic melanocytic nevi in histologic association with 234 primary cutaneous melanomas. *J Am Acad Dermatol* 1983; 9: 563-574.

44 - CRIJNS MB, VINK J, VAN HEES CLM, VEERMER BJ, BERGMAN W. The occurrence in first and second-degree relatives of patients with "sporadic" dysplastic nevus syndrome. *Arch Dermatol* 1991; 127: 1346-1351.

45 - KOPF AW, LINDSSAY AC, ROGERS GS, KOPF AW, LINDSSAY AC, ROGERS GS, et al. Relationship of nevocytic naevi to sun exposure in dysplastic nevus syndrome. *J Am Acad Dermatol* 1985; 12: 656-662.

46 - KOPF AW, GOLD RS, ROGERS GS, HENNESSEY P, FRIEDMAN RJ, et al. Relationship of lumbosacral nevocytic nevi to sun exposure in dysplastic nevus syndrome. *Arch Dermatol* 1986; 122: 1003-1006.

47 - RIVERS JK, MAC LENNAN R, KELLY JW, LEWIS AE, TATE BJ, et al. The eastern Australian childhood nevus study: prevalence of atypical nevi, congenital like, and other pigmented lesions. *J Am Acad Dermatol* 1995; 32: 957-963.

48 - AUGUSTSSON A, STIERNER U, ROSDAHL I, et al. Melanocytic nevi in sun exposed and protected skin in melanoma patients and controls. *Acta Dermatol Venereol* 1991; 71: 512-517.

49 - AUGUSTSSON A, STIERNER U, ROSDAHL I. Regional distribution of melanocytic naevi in relation to sun exposure and site specific counts predicting total number of nevi. *Acta Dermatol Venereol* 1992; 72: 123-127.

50 - SAGEBIEL RW, BANDA RW, SCHENEIDER JS, et al. Age distribution and histologic patterns of dysplastic naevi. *J Am Acad Dermatol* 1992; 13: 975-82.

51 - ELDER D, ELENITSAS R, JOHNSON B, IOFFREDA M, MILLER JJ, MILLER OF. *Histopatologia da pele de Lever. Manual e Atlas*. 1ª ed. São Paulo (SP): Editora Manole Ltda.; 2001.

52 - MACKIE RM. Multiple melanoma and melanocytic naevi. *Br J Dermatol* 1982; 107: 621-9.

53 - OSBURN K, SCHOSSER RH, EVERETT MA. Congenital pigmented and vascular lesions in newborn infants. *J Am Acad Dermatol* 1987; 16: 788-92.

54 - REED WB, BECKER SW, BECKER SW Jr., et al. Giant pigmented naevi, melanoma and leptomeningeal melanocytosis. *Arch Dermatol* 1965; 91: 100-19. Apud: HURWITZ S. *Clinical Pediatric Dermatology. A Textbook of Skin Disorders of Childhood and Adolescence*. 2nd ed. Philadelphia (Pennsylvania): W.B. Saunders Company; 1993.

55 - ILLIG L, WEIDNER F, HUNDEIKER M, et al. Congenital naevi < 10 cm. as precursors to melanoma. *Arch Dermatol* 1985; 121: 1274-81. Apud: HURWITZ S. *Clinical Pediatric Dermatology. A Textbook of Skin Disorders of Childhood and Adolescence*. 2nd ed. Philadelphia (Pennsylvania): W.B. Saunders Company; 1993.

56 - ACKERMAN LV. Malignant melanoma of the skin: a clinical and pathological analysis of 75 cases. *Am J Clin Pathol* 1948; 18: 602-624.

57 - KLEIN-SZANTO AJP, SILVERS WK, MINTZ B. Ultraviolet radiation induced malignant skin melanoma in melanoma susceptible transgenic mice. *Cancer Research* 1994; 54: 4569-72.

58 - KENET RO, KANG S, KENET BJ, FITZPATRICK TB, SOBER AJ, BARNHILL RL. Clinical diagnosis of pigmented lesions using digital epiluminescence microscopy. Grading protocol and atlas. *Arch Dermatol* 1993; 129:157-175.

59 - MURPHY GM. *The acute effects of ultraviolet radiation on the skin*. In: Hawk JLM. *Photodermatology*. 1st ed. London, Arnold, 1999. Cap. 4, p. 43-52.

60 - STIERNER U, ROSDAHL I, AUGUSTSSON A, KAGEDAL B. UVB irradiation induces melanocyte increase in both exposed and shielded human skin. *J Invest Dermatol* 1989; 92: 561-564.

61 - URBACH F. Modification of ultraviolet carcinogenesis by photoactive agents. *J Invest Dermatol* 1959; 32: 373-8. In: Hawk JLM. *Photodermatology*. 1st ed., Arnold, London, 1999, p. 5-25.

62 - KRICKER A, ARMSTRONG BK, ENGLISH DR. Sun exposure and nonmelanocytic skin cancer. *Cancer Causes Control* 1994; 5: 367-92. In: Hawk JLM. *Photodermatology*. 1st ed., Arnold, London, 1999, p. 5-25.

63 - ARMSTRONG BK. Melanoma of the skin. *British Medical Bulletin* 1984; 40: 246-350. In: Hawk JLM. *Photodermatology*. 1st ed., Arnold, London, 1999, p. 5-25.

64 - WHITEMAN D, GREEN A. Melanoma and sunburn. *Cancer Causes Control* 1994; 5: 319-324.

65 - FORBES PD, URBACH F. Vascular and neoplastic changes in mice following ultraviolet radiation. *The biological Effects of Ultraviolet Radiation*. 1969; Pergamon Press: 279-90. Apud: FREEDBERG IM, EISEN AZ, WOLFF K (eds) *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. 5 ed. Mc Graw Hill, New York, 1999, cap. 81, p. 996-1077.

66 - ELWOOD JM. Melanoma and ultraviolet radiation. *Clinics in Dermatology* 1992; 10: 41-50.

67 - MOAN J, DAHLBACK A, SETLOW RB. Epidemiological support for a hypothesis for melanoma induction indicating a role for UVA radiation. *Photochem Photobiol* 1999; 70(2): 243-247.

68 - ROSDHAL I. Local and systemic effects on the epidermal melanocyte population in UV-irradiated mouse skin. *J Invest Dermatol* 1979; 73: 306-309.

69 - BINDER M, KITTLER H, STEINER A, DAWID M, PEHAMBERGER H, WOLFF K. Reevaluation of the ABCD rule for epiluminescence microscopy. *J Am Acad Dermatol* 1999; 40: 171-176.

70 - ARCHAMBAULT M, TAAR M, GILLCHREST BA. Keratinocytes and fibroblast in a human skin equivalent model enhance melanocyte survival and melanin synthesis after ultraviolet irradiation. *J Invest Dermatol* 1995; 104: 859-67.

71 - FISHER GJ, DATTA SC, TALWAR HS, et al. Molecular basis of sun-induced premature skin ageing and retinoid antagonism. *Nature* 1996; 379: 335-9.

72 - GILCHREST BA, SOTER NA, HAWK JLM, MIHM MC. The Human sunburn reaction: histologic and biochemical studies. *J Am Acad Dermatol* 1981; 5: 411-22.

73 - DIFFEY BL. *Human exposure to ultraviolet radiation*. In: HAWK JLM. *Photodermatology*. 1st ed. London, Arnold, 1999. Cap. 2, p. 5-24.

74 - ROSARIO R, MARK GJ, PARRISH JA, MIHM MC. Histological changes produced in skin by equally erythemogenic doses of UV-A, UV-B, UV-C and UVA with psoralens. *Br J Dermatol* 1979; 101: 299-300.

75 - SCHUARTZ A, BHARDWAJ R, ARAGANE Y, et al. Ultraviolet B induced apoptosis of keratinocytes: evidence for partial involvement of tumor necrosis factor alpha in the formation of sunburn cells. *J Invest Dermatol* 1995; 104: 922-7.

76 - CESTARI TF, KRIPKE ML, BAPTISTA P, BAKOS L, BUCANA CD. Ultraviolet radiation decreases the granulomatous response to lepromin in Humans. *J Invest Dermatol* 1995; 105: 8-13.

77 - KRIPKE M. Photoimmunology. *Photochem Photobiol* 1990; 52: 919-924.

78 - FISHER MS, KRIPKE ML. Suppressor T lymphocytes control the development of primary skin cancer in ultraviolet-irradiated mice. *Science* 1982; 216: 1133-4. In: ROSDAHL IK, SZABÓ G. Mitotic activity of epidermal melanocytes in UV-irradiated mouse skin. *J Invest Dermatol* 1978; 70: 143-148.

79 - ULRICH SE. Does exposure to UV radiation induce a shift to a Th-1-like immune reaction? *Photochem Photobiol* 1996; 64: 254-8.

80 - GLOVER MT, PROBY CR, LEIGH IM. Skin Cancer in renal transplant patients. *Cancer Bulletin* 1993; 45: 220-4.

81 - ARLETT CF, LOWE JE, HARCOURT AS, WAUGH APW, COLE J, et al. Hypersensitivity of human lymphocytes to UV-B and solar irradiation. *Cancer Research* 1993; 55: 609-614.

82 - YOSHIKAWA T, ERA V, BRUIN-SLOT W, et al. Susceptibility to effects of UVB radiation on induction of contact hypersensitivity as a risk factor for skin cancer in humans. *J Invest Dermatol* 1990; 95: 530-6.

83 - MENZIES SW, GREENOAK GE, REEVE VE, GALLANGHER CH. Ultraviolet radiation- induced murine tumors produced in the absence of ultraviolet radiation-induced systemic tumor immunosuppression. *Cancer Research* 1991; 51: 2772-9.

84 - VERMEER M, SCHMIEDER GJ, YOSHIKAWA T, et al. Effects of ultraviolet B light on cutaneous immune responses of humans with deeply pigmented skin. *J Invest Dermatol* 1991; 97: 729-34.

85 - QUEVEDO WC, SZABÓ G, VIRKS J, SENESI SJ. Melanocyte population in UV-irradiated human skin. *J Invest Dermatol* 1965; 45 Apud: 295-298. I ROSDHAL I, SZABÓ G. Mitotic activity of epidermal melanocytes in UV-irradiated mouse skin. *J Invest Dermatol* 1978; 70: 143-148.

86 - ROSDAHL IK, SZABÓ G. Mitotic activity of epidermal melanocytes in UV-irradiated mouse skin. *J Invest Dermatol* 1978; 70: 143-148.

87 - GARBE C, BÜTTNER P, WEISS J, et al. Risk factors for developing cutaneous melanoma and criteria for identifying persons at risk: multicenter case-control study of the central Malignant Melanoma Registry of the German Dermatological Society. *J Invest Dermatol* 1994; 102: 695-9.

88 - NICHOLLS EM. Development and elimination of pigmented moles and the anatomical distribution of primary malignant melanoma. *Cancer* 1973; 32: 191-95.

89 - FRIEDMANN PS, GILCHREST BA. Ultraviolet radiation directly induces pigment production by cultured human melanocytes. *J Cell Physiol* 1987; 133: 88-94. Apud: THONNIER M, SMOLLE J, WOLFF HH. Ultraviolet irradiation induces acute changes in melanocytic nevi. *J Invest Dermatol* 1995; 104(4): 475-81.

90 - TRONNIER M, ROLAND B, MATT D, BURG G, VORTMEYER A, ZHUANG Z. Ultraviolet induced acute histological changes in irradiated nevi are not associated with allelic loss. *Arch Dermatol* 1998; 134: 853-856.

91 - NORDLUND JJ, KIRKWOOD J, FORGET BM, et al. Demographic study of clinically atypical (dysplastic) nevi in patients with melanoma and comparison subjects. *Cancer Res.* 1985; 45: 1855-1861.

92 - SWERDLOW AJ, ENGLISH J, MACKIE RM, et al. Benign melanocytic naevi as a risk factor for malignant melanoma. *Br M J (Clin. Res. Ed.)* 1986; 292: 1555-1559.

93 - HOLMANN CDJ, HEENAN PJ, CARUSO V, GLANCY RJ, ARMSTRONG BK. Seasonal variation in the junctional component of pigmented naevi. *Int J Cancer* 1983; 31: 213-215.

94 - LARSEN TE, MOGENSEN SB, HOLME I. Seasonal variations of pigmented naevi. *Acta Derm Venereol* 1990; 70: 115-120.

95 - ROSDHAL I, SZABÓ G. Mitotic activity of epidermal melanocytes in UV-irradiated mouse skin. *J Invest Dermatol* 1978; 70: 143-148.

96 - ROSDHAL I. Melanocyte mitosis in UVB-irradiated mouse skin. *Acta Dermatol Venereol (Stockh)* 1978; 58: 217-221.

97 - LEE JAH. Sunlight and the etiology of malignant melanoma: a synthesis. *Med J Austr* 1970; 2: 846-851. In: ROSDHAL I, SZABÓ G. Mitotic activity of epidermal melanocytes in UV-irradiated mouse skin. *J Invest Dermatol* 1978; 70: 143-148.

98 - KRIPKE ML, ROMERDHAL C, STEPHENS LC, BUCANA C. The role of ultraviolet radiation in the induction of melanocytic skin tumors in inbred mice. *Cancer* 1989; 1: 209-216.

99 - DONAWHO CK, KRIPKE ML. Evidence that the local effect of ultraviolet radiation on the growth of murine melanomas is immunologically mediated. *Cancer Research* 1991; 51: 4176-4181.

100 - SEYKORA JT, SOBALLE PW, et al. UVB induces atypical melanocytic lesions and melanoma in human skin. *Am J Pathol* 1998; 152: 1179-1186.

101 - TRONNIER M, RUDOLPH P, MENZEL R, MÖLLER M, PAWARESCH R. Enhanced expression of Ki-67, topoisomerase IIa, PCNA, p53 and p21. Reflecting

proliferation and repair activity in UV-irradiated melanocytic nevi. *Human Pathol* 1998 Dec; 29 (12): 1480-1487.

102 - TRONNIER M, ALEXANDER M, WOLFF HH. Adhesion molecule expression in normal skin and melanocytic lesions. *J Cut Pathol* 1997; 24: 278-285.

103 - PEHAMBERGER H, BINDER M, STEINER A, WOLFF K. In vivo epiluminescence microscopy: Improvement of early diagnosis of melanoma. *Am J Dermatol* 1993; 100: 356S-362S.

104 - SOYER HP, SMOLLE J, HÖDL S, PACHERNEGG H, KERL H. Surface Microscopy. *Am J Dermatopathol* 1989; 11 (1): 1-10.

105 - NOZ KC, BAUWENS M, VERMEER BJ, BUUL PPW, VROLIJK H, et al. Comet assay demonstrates a higher ultraviolet B sensitivity to DNA damage in dysplastic nevus cells than in common melanocytic nevus cells and foreskin melanocytes. *J Invest Dermatol* 1996; 106: 1198-1202.

106 - STOLZ W, BAHMER FA, FRITSCH P, KREUSCH J, PEHAMBERGER H, et al. Terminology in surface microscopy. *J Am Acad Dermatol* 1990; 23: 1159-61.

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

108 - PEHAMBERGER H, STEINER A, WOLFF K. In vivo epiluminescence microscopy of pigmented skin lesions. II. Diagnosis of Small pigmented skin lesions and early detection of malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1987; 117: 584-91.

109 - GUILLOD JF, ANDREAS MS, SALOMON D, SAURAT JH. Epiluminescence videomicroscopy: Black dots and brown globules revisited by stripping the stratum corneum. *J Am Acad Dermatol* 1997; 36: 371-7.

110 - SAIDA T, OGUCHI S, ISHIHARA Y. In vivo observation of magnified features of pigmented lesions on volar skin using video macroscope. *Arch Dermatol* 1995; 131: 298-304.

111 - STANGANELLI I, RAFANELLI I, BUCCHI L. Seasonal prevalence of digital epiluminescence microscopy patterns in acquired melanocytic nevi. *J Am Acad Dermatol* 1996; 34: 460-4.

112 - STANGANELLI I, BAUER P, BUCCHI L, SERAFINI M, RAFANELLI S, et al. Critical effects of intense sun exposure on the expression of epiluminescence microscopy features of acquired melanocytic nevi. *Arch Dermatol* 1997; 133: 979-982.

113 - HOFMANN-WELLENHOF R, WOLF P, SOYER P, SMOLLE J, KERL H, et al. Influence of UVB therapy on dermoscopy features of acquired melanocytic nevi. *J Am Acad Dermatol* 1997; 37: 559-63.

114 - HOFMANN-WELLENHOF R, WOLF P, SOYER P, SMOLLE J, RIEGER E, et al. Ultraviolet radiation of melanocytic nevi. *Arch. Dermatol* 1998; 134: 845-850.

115 - SOYER HP, SMOLLE J, LEITINGER G, RIEGER E, KERL H. Diagnostic reliability of dermoscopic criteria for detecting malignant melanoma. *Dermatology* 1995; 190: 25-30.

116 - DELFINO M, FABBROCINI G, ARGENZIANO G, MAGLIOCCHETTI N, NOFRONI I. A statistical analysis of the characteristics of pigmented skin lesions using epiluminescence microscopy. *J Eur Acad Dermat Venereol* 1997; 9: 243-248.

117 - ARGENZIANO G, FABBROCINI G, CARLI P, DELFINO M, DE GIORGI V. Epiluminescence microscopy: criteria of cutaneous melanoma progression. *J Am Acad Dermatol* 1997; 37: 68-74.

118 - BROCHEZ L, NAEYAERT JM. Serological markers for melanoma. *Br J Dermatol* 2000; 143: 256-268.

119 - DURAY P, PALAZZO J, GOWN AM, OHUCHI N. Melanoma cell heterogeneity. A study of two monoclonal antibodies compared with S-100 protein in paraffin sections. *Cancer* 1988; 61: 2460-2468.

120 – GOWN AM. Monoclonal antibodies specific for melanocytic tumors distinguish subpopulations of melanocytes. *Am J Pathol* 1986; 123: 195.

7. ARTIGO EM PORTUGUÊS

**ALTERAÇÕES CLÍNICAS, DERMATOSCÓPICAS, HISTOPATOLÓGICAS E IMUNO-
HISTOQUÍMICA EM NEVOS MELANOCÍTICOS IRRADIADOS COM RAIOS
ULTRAVIOLETA B**

José Carlos Santos Mariante, Lucio Bakos

Trabalho realizado no Serviço de Dermatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre,
Porto Alegre, RS, Brasil;

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Clínica Médica, da Faculdade de
Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

Endereço para correspondência:

José Carlos Santos Mariante

Rua Felipe Camarão, 736 conj. 202.

90040-192 - Porto Alegre, RS - Brasil

e-mail: jcmariante@cpovo.net

SUMÁRIO

Objetivos: descrever os efeitos mais freqüentes e com significância estatística originados da exposição de nevos melanocíticos à radiação ultravioleta B (RUVB) em quantidade equivalente a duas doses eritematosas mínimas (DEM), detectáveis pela avaliação clínica, dermatoscopia, exame histopatológico e imuno-histoquímico com anticorpos HMB-45 e proteína S-100, bem como comparar com as alterações mais comuns descritas na literatura e destacar aquelas que podem simular uma possível transformação maligna por estímulo da radiação ultravioleta.

Pacientes e Métodos: foram avaliados 34 pacientes voluntários no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), perfazendo um total de 40 lesões melanocíticas. Após a determinação da DEM, metade de cada lesão melanocítica foi submetida à quantidade de RUVB equivalente a duas DEM. Após sete dias, a lesão era removida cirurgicamente. Para a análise clínica e dermatoscópica foram realizadas fotografias convencionais antes e após sete dias da exposição com RUVB. A análise estatística foi realizada com o Teste T de Wilcoxon. Na histopatologia foram analisadas as características mais freqüentes e na imuno-histoquímica foram comparados os resultados dos lados irradiados e não-irradiados, considerando-se a mediana dos valores expressa em cruces.

Resultados: as alterações mais significativas na avaliação clínica foram: cor vermelha mais escura, bordas menos nítidas, bem como eritema, pigmentação e escamação perilesionais; na dermatoscopia foram: rede pigmentar menos nítida e menos regular, pigmentação mais proeminente, eritema, vasos mais visíveis e borda mais abrupta; na histologia as alterações mais comuns foram: paraceratose, hiperplasia melanocítica e queratinocítica, aumento de núcleo e citoplasma; na imuno-histoquímica com HMB45, o lado irradiado demonstrou mais de 50% de células positivas e o lado não-irradiado menos de 5% de células positivas e a proteína S-100 demonstrou mais de 50% de células positivas no lado irradiado e entre 10 e 50% de células positivas no lado não-irradiado.

Conclusões: a pesquisa sugere que: 1) as alterações descritas na clínica, dermatoscopia, histologia e imuno-histoquímica provavelmente estão relacionadas ao

estímulo da síntese de melanina, vasodilatação, infiltrado inflamatório e espessamento da epiderme especialmente em nevos compostos e juncionais, provavelmente ligados ao nível de penetração dos raios UVB; 2) alguns casos podem simular o início de uma transformação maligna; 3) a avaliação imuno-histoquímica com HMB-45 mostrou-se mais eficiente que a proteína S-100 para a detecção de aumento da produção de melanina e heterogeneidade celular, após a exposição ao raio UVB.

Palavras-chave: 1. Nevos pigmentado: Radioterapia; 2. Nevo pigmentado: Patologia; 3 Melanoma; 4. Neoplasias cutâneas; 5. imuno-histoquímica; 6. Terapia ultravioleta.

INTRODUÇÃO

Há mais de um século é aceita a hipótese de que a exposição solar atua como importante fator de risco para o desenvolvimento do câncer da pele (1). Observou-se um aumento da incidência de melanoma no mundo, especialmente nas últimas décadas, com o aumento da exposição da população à radiação ultravioleta (RUV)(2). Nesse período, várias pesquisas epidemiológicas têm confirmado fortemente essa hipótese (3, 4, 5). Estudos em animais também têm demonstrado que a RUV pode atuar como iniciadora e promotora de diferentes etapas no processo de evolução tumoral melanocítica (6, 7). Por outro lado, a presença de um grande número de nevos melanocíticos também é indicativa de um maior risco para a ocorrência de melanoma (8, 9). Ainda que a maioria dos casos de melanoma apareça em áreas sem lesões prévias, o achado da associação de melanoma com lesões névicas benignas em estudos de patologia pode indicar uma possível transformação maligna de células névicas, após algum tipo de estímulo, sendo talvez o mais importante, a exposição ultravioleta (10).

Ao se considerar essa possibilidade, trabalhos epidemiológicos têm demonstrado que a exposição actínica intermitente oferece maior impacto carcinogênico que a exposição constante e em longo prazo, sugerindo que talvez uma simples exposição em dose e tempo adequados possam estimular o crescimento tumoral (5, 11). Além de estarem ligadas ao surgimento de um número aumentado de nevos, as queimaduras solares durante a infância podem ser consideradas como um dos fatores de risco independentes para o surgimento de

melanomas (12, 13). Assim, uma ou poucas exposições serão suficientes para atuar como iniciadoras ou promotoras de alterações em melanócitos e imunossupressoras, agindo como geradoras de instabilidade genética e de mutações associadas ao desenvolvimento tumoral (14). Tronnier e colaboradores demonstraram que a exposição de nevos melanocíticos a uma dose padrão de radiação ultravioleta B (RUVB) pode induzir a alterações morfológicas clínicas e anatomopatologicamente demonstráveis que simulam melanoma *in situ* (15), dose-dependentes e reversíveis em algumas semanas (16, 17). A imuno-histoquímica com HMB-45 mostrou aumento de sua expressão em todos os nevos, indicando a ativação dos melanócitos e formação de melanosomas (18). Posteriormente, esse mesmo grupo evidenciou pela imuno-histoquímica com HMB-45, p53, PCNA, Ki67 e KiS11 que a exposição de nevos melanocíticos a UVB induz a alterações morfológicas e a um aumento da atividade proliferativa e reparativa nos melanócitos, muito mais evidente em lesões expostas intermitentemente do que cronicamente (19).

Além dos achados de clínica, patologia e imuno-histoquímica, a dermatoscopia é atualmente um método de rotina na avaliação semiológica dermatológica, com boa sensibilidade e especificidade diagnóstica, *in vivo*, de lesões pigmentadas. Tem permitido a visualização de estruturas morfológicas de lesões pigmentadas, não visíveis a olho nu, correlacionadas com características histológicas específicas. Com os critérios próprios da técnica, nevos melanocíticos foram avaliados após sua exposição a 2 DEM, produzindo alterações transitórias na aparência dermatoscópica, especialmente após sete dias da exposição, eventualmente sugestivas de melanoma ou de transformação maligna (20).

Com base em alguns desses estudos, foram avaliados os efeitos após sete dias da exposição de duas DEM de RUV em nevos melanocíticos, considerando simultaneamente as alterações clínicas, dermatoscópicas, histopatológicas e Imuno-histoquímica, essas através do anticorpo HMB-45 e proteína S-100, e se algumas dessas alterações podiam simular o início de transformação maligna. Até o momento, nenhum trabalho científico agrupou concomitantemente essas quatro modalidades de avaliação para estudar os efeitos da RUV nos nevos melanocíticos irradiados.

PACIENTES E MÉTODOS

Delineamento: Experimento clínico do tipo antes-e-depois no qual cada paciente serviu como seu próprio controle.

Voluntários Estudados

Foram avaliados no Ambulatório de Lesões Pigmentadas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) indivíduos provenientes do atendimento de rotina do Ambulatório de Dermatologia do HCPA e do Ambulatório de Dermatologia da Prefeitura Municipal de Gravataí, com indicação de remoção, no período compreendido entre julho de 1999 e setembro de 2001. Os pacientes começaram a ser estudados após a apreciação do estudo pela Comissão de Ética em Pesquisa do HCPA, divulgação da pesquisa e após as consultas convencionais realizadas nos seus respectivos ambulatórios. A avaliação estatística determinou que o tamanho da amostra deveria ser de 35 a 40 (Amostra de conveniência).

Crítérios de Inclusão/Exclusão

Foram incluídas no estudo pessoas de ambos os sexos com lesões pigmentadas melanocíticas sem evidências clínicas ou dermatoscópicas de malignidade, entre 5 e 10 mm de diâmetro, e que, espontaneamente, quisessem se submeter à exérese dessas lesões, aceitando a participação após leitura e assinatura do consentimento informado. Foram excluídos pacientes com lesões pigmentadas não melanocíticas ou com características de malignidade pela clínica ou pela dermatoscopia, lesões sangrantes ou com infecção secundária, localizadas na face, em pacientes gestantes ou portadores de patologias fotossensíveis, em uso de drogas potencialmente fotossensibilizantes ou com história de exposição solar nos últimos 30 dias.

Equipamentos

1- Fonte de RUV-B: Psora-Comb Dermalight 80 - (Dr. K. Hönle GmbH, Munique, Alemanha), composto de 2 lâmpadas fluorescentes que emitem um espectro contínuo com pico de emissão em 313 nm e intensidade de irradiação de $5,1 \times 10 \text{ W/cm}^2$ de UVB (320-280 nm) e $6,15 \times 10 \text{ W/cm}^2$ de UVA (400-329 nm) após 5 minutos de aquecimento; o aparelho é equipado com um afastador de estrutura rígida, que o mantém a uma distância fixa da pele.

2- Máquina fotográfica de fotorreflexo, marca OLYMPUS OM 30, utilizando filme com sensibilidade ASA 100, acoplada ao Dermafoto (Heine, Optotechnik, Germany), que permite um aumento de 10 vezes; objetiva de dermatoscopia específica para esse tipo de câmera.

3- Radiômetro - IL 1700 Research Radiometer (International Light Co - USA), verificado com intervalos de 1 mês para controlar a emissão de UVB.

Desenvolvimento

1) Logística:

Verificados os critérios de inclusão e exclusão, este paciente era encaminhado para a primeira consulta, onde era esclarecido quanto aos objetivos da pesquisa, lia e assinava o Termo de Consentimento Informado, caso concordasse em fazer parte do estudo. Após, respondia a perguntas de um questionário padrão, sendo então realizado o exame dermatológico, a determinação do fototipo segundo Fitzpatrick (21), e a escolha da lesão pigmentada a ser analisada, sua fotografia clínica e dermatoscópica e, em seguida, o primeiro passo da medição da Dose Eritematosa Mínima (DEM) em região infra-axilar torácica (15, 19). Cobria-se a região era coberta por um tecido preto foto-opaco com quatro aberturas de 1 cm² para pacientes com pele clara e seis aberturas para pacientes com pele de pigmentação escura, através das quais se irradiava com fonte e dosagem de UVB conhecida, obtida com Psora-Comb Dermalight 80, com tempos estabelecidos previamente para cada fototipo, variando entre 30 e 180 segundos e correspondendo a doses de UVB entre 15 mJ/cm² a 91,8 mJ/cm², conforme medições realizadas com o radiômetro na fonte de UVB.

Na segunda consulta, após 24 horas, era realizada a medição da DEM, representada pela área que tivesse a menor tonalidade de eritema dentro dos quatro lados do quadrado, exibindo seus quatro ângulos. A essa abertura correspondia um tempo e dose de exposição. Metade da lesão pigmentada escolhida era coberta transversalmente com fita isolante foto-opaca, não fotossensível, e a outra metade exposta a duas vezes o valor determinado da DEM (11, 15), com o mesmo equipamento utilizado para sua determinação.

Na terceira avaliação, após sete dias, nova foto clínica e da dermatoscopia era realizada, antes da exérese do nevo. O espécime, após encaminhamento para o Serviço de Patologia, era seccionado no sentido longitudinal para permitir a visualização, na mesma lâmina, do lado protegido e do irradiado do corte histológico. As lâminas foram coradas com hematoxilina-eosina e processadas para imuno-histoquímica com os anticorpos HMB-45 e proteína S-100.

2) Imuno-histoquímica

A preparação das lâminas envolveu a desparafinização e hidratação, bloqueio da peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio a 5%, recuperação antigênica, bloqueio de reações inespecíficas, incorporação do anticorpo primário com HMB45 (DAKO, Hamburg, Germany; 1:50) e proteína S100 (Dako, Hamburg, Germany; 1:200), revelação e contracoloração (Técnica PAP).

3) Registro das Alterações

Todas as fotografias clínicas, dermatoscópicas e as lâminas de histologia e imuno-histoquímica foram analisadas por dois dermatologistas experientes em cada uma destas técnicas, seguindo os itens de avaliação constantes na literatura (anexo 4). Para avaliação das alterações detectadas em cada caso foram utilizados quatro diferentes instrumentos de registro. Tanto a avaliação clínica quanto a dermatoscópica foram realizadas com uma seqüência de fotografias em ordem diferente, tendo para cada caso uma fotografia inicial sem exposição ao ultravioleta e outra de sete dias após a exposição, colocadas lado a lado. Na histopatologia foi considerada a ocorrência ou não das alterações, tendo como base o lado não-irradiado do mesmo nevo, pela falta de parâmetros de avaliação típicos para cada característica considerada. As considerações da imuno-histoquímica foram baseadas em trabalhos prévios que usaram a mesma metodologia (15, 16, 17, 18, 19). Em caso de discordância ou dúvidas sobre alguns desses itens, uma terceira opinião de um dermatologista ou patologista diferente dos anteriores determinava o resultado final referente somente ao item em dúvida. Os parâmetros considerados para cada abordagem foram:

a) Avaliação Clínica: cor, cor nova, bordas, eritema perilesional, pigmentação perilesional e escamação. Na característica cor nova ou variações de padrão de cor presentes, foram analisadas as cores: preta, marrom, vermelho, cinza e amarelo, considerando suas alterações em mais claro ou mais escuro. As variações de borda avaliadas foram borda mais ou menos nítida, mais ou menos esmaecida e pigmentação mais clara ou mais escura;

b) Avaliação da Dermatoscopia: neoformação de rede pigmentar, mais ou menos nítida, mais ou menos regular, neoformação ou aumento de tamanho de glóbulos e pontos pretos, pigmentação mais proeminente, mais discreta, mais ou menos regular, eritema, vasos, bordas mais abruptas ou mais claras; áreas hipopigmentadas novas, maiores ou com formas mais ou menos regulares.

c) Avaliação da Histopatologia: hiperplasia melanocítica, aumento do núcleo e citoplasma dos melanócitos, atipia celular, atrofia epidérmica, paraceratose, hiperplasia de queratinócitos, hiperpigmentação basilar, infiltrado inflamatório, fusão de cones e fibroplasia lamelar. Nesse caso avaliou-se somente a presença ou ausência da estrutura considerada, tendo como base o lado oposto e não-irradiado.

d) Avaliação da imuno-histoquímica: foram avaliados os lados irradiados e não-irradiados, dependendo do número de células positivas até a derme papilar, em campo de 400 aumentos. Tanto para HMB-45 quanto S-100 a avaliação foi feita em número de cruzes: para uma cruz (+) na presença de 1 a 5% de células positivas; duas cruzes (++) no caso de 5 a 10%; três cruzes (+++), tratando-se de 10 a 50% de células positivas; quatro cruzes (++++), para mais de 50% de células positivas e nenhuma cruz havendo menos de 1% de células positivas.

Análise Estatística

A análise estatística seguiu os padrões de estudos prévios com metodologia semelhante (19, 20). Na avaliação clínica e dermatoscópica, para cada característica analisada e citada previamente, comparando-se o lado irradiado com o não-irradiado a análise foi realizada com o Teste T de Wilcoxon. Para essa análise foram consideradas

todas as características que sofreram algum tipo de alteração, ignorando-se o grau de alteração. A análise foi realizada no programa SPSS (Statistical Package for the Social Science). Foram consideradas como tendo significância estatística aquelas características que tiveram como resultado final desse teste um valor de P menor que 0,05.

Na histopatologia foi considerada apenas a frequência simples das alterações.

Na imuno-histoquímica foi determinada a mediana de valores em cruces para os grupos irradiado e não-irradiado, independentemente para HMB-45 e S-100.

Em todas as formas de avaliação descritas nos nevos, os resultados foram detalhados em cinco grupos: um geral e quatro dependendo dos tipos histopatológicos das lesões: composto, intradérmico, juncional e somatório do composto com o juncional.

Considerações Éticas

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre com o número 98191, caracterizado como tendo um risco maior que o mínimo. Todos os pacientes participantes cederam seu consentimento escrito, após a leitura do termo e orientações necessárias.

RESULTADOS

Um total de 40 lesões pigmentadas foi selecionado inicialmente em 34 pacientes. Dois pacientes abandonaram o estudo, tendo sido excluídos da análise final dos resultados. Dois casos foram excluídos somente da avaliação clínica e da dermatoscopia, por terem apresentado problemas técnicos na fotografia realizada.

Dos 38 nevos avaliados, 12 foram do tipo histopatológico intradérmico, 20 do tipo composto e 6 do tipo juncional. Do total de pacientes, 36% foram do sexo masculino. A média de idade foi de 25 anos, sendo de 21 anos em portadores do tipo histopatológico intradérmico, 29 do tipo composto e 31 em indivíduos com o tipo juncional.

Algumas características das lesões pigmentadas e dos pacientes estão sumarizadas na Tabela 1. Com relação a essas características podemos destacar:

1) os fototipos mais comuns foram o 2 e o 3. Essa distribuição foi similar entre os diferentes tipos histopatológicos de nevos;

2) entre os pacientes avaliados, a aferição da DEM variou entre 15,3 e 61,2 mJ/cm², com maior número de pacientes com DEM 45,9mJ/cm²;

3) a localização mais freqüente dos nevos foi no dorso, com maior número de lesões do tipo composto (n=20);

4) 47% dos pacientes tinham notado alterações prévias ao estudo, principalmente aquelas com o tipo intradérmico (75%). As principais alterações notadas foram: crescimento (18 casos) e sangramento prévio (2 casos);

5) 44% dos pacientes da amostra geral e 75% dos pacientes com nevos intradérmicos afirmaram que seus nevos eram congênitos;

6) história familiar de neoplasia maligna de pele foi registrada em 18% dos pacientes. Dois casos (5,3%) possuíam história pessoal de neoplasia de pele, ambos portadores de nevos do tipo juncional. Um caso apresentava história pessoal de melanoma e outro de carcinoma basocelular.

ALTERAÇÕES CLÍNICAS

Foram considerados 36 casos nessa análise. Para essas alterações e para as demais observadas pelos diferentes métodos, foram avaliadas suas diferenças de significância estatística de forma geral e entre os diferentes tipos histopatológicos (tabela 2). Como o número final de nevos juncionais foi muito menor que os demais tipos, para fins de estatística foi considerada também a soma das alterações dos nevos juncionais e compostos, os últimos por apresentarem também melanócitos na junção dermo-epidérmica.

A alteração "**cor vermelha mais escura**" (P=0,02) foi a mais significativa dentro da característica "**cor nova**", tanto no escore geral quanto na soma das alterações dos tipos histopatológicos compostos e juncionais, principalmente por sua maior detecção nos nevos do tipo composto. A **borda** que ficou **menos nítida** (P=0,04), foi outra alteração que seguiu a mesma tendência, ou seja, mostrou-se mais comum nos nevos do tipo composto.

Outras modificações clínicas com significância estatística no escore geral que surgiram após irradiação UVB foram **eritema perilesional** (P=0,002), **pigmentação perilesional** (P=0,02) e **escamação** (P=0,016), por influência tanto de nevos compostos

como intradérmicos (Figuras 2, 3, 4). Algumas características como **cor de melanina mais escura** e **cor vermelha mais clara** foram observadas mais no lado não-irradiado do que no lado irradiado. Em dois casos foi observado fenômeno de halo (figura 2).

ALTERAÇÕES NA DERMATOSCOPIA

Foram considerados 36 casos para essa análise. As alterações na dermatoscopia com significância estatística foram: **rede pigmentar menos nítida** na classificação geral ($P=0,02$), **rede pigmentar menos regular** ($P=0,006$), **pigmentação mais proeminente** ($P=0,005$), **eritema** ($P=0,0007$), **borda mais abrupta** ($P=0,01$) e **vasos mais proeminentes** ($P=0,04$) na classificação geral (Tabela 3). Algumas dessas características também são estatisticamente significativas em nevos juncionais ou compostos, isoladamente ou na soma de ambos. A ocorrência de **neoformação** ($P=0,04$) ou **aumento de tamanho de glóbulos** ($P=0,04$) foi observada isoladamente em nevos compostos (Figuras 5, 6, 7).

Outras alterações detectadas, porém estatisticamente não significativas, foram: **diminuição do tamanho de glóbulos, pontos pretos e áreas hipopigmentadas**.

ALTERAÇÕES NA HISTOPATOLOGIA

Foram considerados 38 casos para essa análise. As alterações histopatológicas mais comuns foram, em ordem de frequência (Tabela 4): **paraceratose, hiperplasia melanocítica, hiperplasia de queratinócitos, aumento de núcleo e citoplasma de melanócitos, fusão de cones, atipia celular, infiltrado inflamatório, fibroplasia lamelar, hiperpigmentação de camada basilar e atrofia epidérmica**, com variações individuais dependendo do tipo histológico, como por exemplo, a maior ocorrência de atipia celular nos nevos compostos (Figuras 8, 9, 10, 11, 12). A não ser por infiltrado inflamatório, a porção dérmica mais profunda não mostrou alterações significativas entre o lado irradiado e o não-irradiado. Não foram contabilizados os casos de surgimento de alterações também no lado protegido. Por esse motivo, em vários casos, as diferenças entre os lados irradiados e não-irradiados não foram muito grandes.

Outras alterações menos comuns foram: apoptose, hiperplasia lentiginosa, presença de células gigantes, formação de ninhos proliferativos, fibrose cicatricial e um caso com regressão e penetração no folículo piloso.

ALTERAÇÕES NA IMUNO-HISTOQUÍMICA

Foram considerados 38 casos nessa análise. Os valores expressados em cruces, por determinação de sua mediana, foram praticamente os mesmos entre os diferentes tipos histopatológicos de nevos, tanto para o anticorpo HMB-45 quanto para a proteína S-100, apesar de uma pequena diferença no tipo juncional (Tabela 6).

Para HMB-45, na avaliação final e também para os tipos composto e juncional, no lado irradiado a mediana foi de quatro cruces (mais de 50% de células positivas) e no tipo intradérmico de três cruces (entre 10 e 50% das células positivas). No lado não-irradiado, a não ser para o tipo histopatológico juncional, predominou a marcação de uma cruz (até 5% de células positivas). 30% dos casos demonstraram a presença de dendritos (Fig. 13).

Para proteína S-100, na avaliação geral e de todos os tipos histopatológicos, no lado irradiado também houve marcação de quatro cruces. No lado não-irradiado (Figura 14), predominou a marcação de três cruces.

DISCUSSÃO

As alterações mais comuns, com significância estatística, na clínica, foram: eritema e pigmentação perilesional e descamação. Talvez por serem menos sutis, de mais fácil detecção, são os mais evidenciados nas pesquisas (22). São os principais efeitos da radiação UVB, com significado histopatológico representado por inflamação, pigmentação e espessamento da pele.

O eritema é considerado um evento tardio após exposição UVB e representa a vasodilatação subjacente, já identificável de uma a seis horas após a exposição (21). Dependendo da dose, do tipo de pele e local, essa alteração atinge a intensidade máxima em 24 horas, com esmaecimento em três dias, podendo persistir mais tempo em indivíduos mais idosos, com pele clara ou com defeito de reparação do DNA (23). Seu estímulo surge como uma resposta direta ao dano causado ao DNA celular dos queratinócitos (21).

A pigmentação ou bronzeamento, também considerado um efeito tardio relacionado à exposição UVB, em geral após 72 horas, representa a síntese melanocítica de melanina ou melanogênese, tendo como resposta um efeito fotoprotetor dose-dependente. Evidências mostram que esse estímulo surge em resposta a um possível dano ao DNA celular dos queratinócitos, mediado por fatores como o MSH ou hormônio estimulador de melanócitos, com aumento da atividade da tirosinase (23).

Também proporcional ao grau de dano ligado ao UVB, a escamação é a manifestação clínica do espessamento da epiderme e derme por aumento das mitoses e hiperplasia, que inicia entre 24 e 48 horas e se torna evidente de uma a três semanas após a exposição (23). Seu mecanismo de surgimento ainda não foi esclarecido.

As outras alterações detectadas, como pigmentação vermelha mais escura ou a borda menos nítida, estão de acordo com alguns dos achados de Hofmann-Wellenhof e colaboradores (20), que usaram metodologia de trabalho similar, com evidência de tais alterações já a partir do terceiro dia de exposição. A cor vermelha, por representar uma das variações de tonalidades da melanina, pode ter ficado mais escura por um aumento de sua produção. Ao mesmo tempo, o eritema ao redor do nevo representado por vasodilatação subjacente pode atingir também o nevo, influenciando diretamente essa variação de cor. Eritema e escamação também podem ter levado à diminuição de nitidez da borda, por aumento do fluxo sanguíneo local e indução de infiltrado inflamatório estimulado por prostaglandinas e por dano ao DNA (26).

A maioria das alterações encontradas foi de leve intensidade. Isso ocorreu provavelmente devido aos limites ópticos da inspeção visual, como a realizada neste trabalho. Atualmente, a maioria dos trabalhos que utiliza comparação de imagens, usa metodologia com equipamento digital e, conseqüentemente, com maior sensibilidade e parâmetros diferenciados em relação à avaliação tradicional.

É importante frisar que a fotografia dermatoscópica convencional é a que mais se aproxima da avaliação através dos dermatoscópios manuais, ainda com limitações no aumento e na definição de imagens, se comparada à análise digital. As características

dermatoscópicas alteradas foram: rede pigmentar menos nítida e menos regular, pigmentação mais intensa, borda mais proeminente, especialmente em nevos juncionais, neoformação e aumento de tamanho de glóbulos em nevos compostos, eritema e vasos proeminentes.

Alterações como rede pigmentar mais proeminente e maior, aumento da pigmentação, pontos pretos de tamanho variável e com distribuição irregular e periférica e despigmentação periférica têm forte relação com a ativação do mecanismo de síntese da melanina pelos melanócitos e indução de infiltrado inflamatório local, compatíveis com os achados histopatológicos, como os de estudos de nevos removidos nos meses de verão se comparados com os removidos no inverno (26, 27). Esses achados têm relação direta com a profundidade de penetração dos raios UVB e a localização anatômica dos melanócitos nesses tipos de nevos. Embora obtidos através de metodologia diferente, esses resultados diferem dos achados do presente trabalho, como a rede pigmentar menos nítida regular e os pontos pretos sem nenhuma alteração significativa, após irradiação com UVB. Hofmann-Wellenhof e colaboradores, em um estudo com pacientes em fototerapia, usando doses suberitematosas em nevos melanocíticos, observaram efeitos semelhantes, com aumento da pigmentação, aumento de glóbulos e da largura da rede pigmentar, dando ao nevo uma aparência mais irregular (28). Stanganelli e colaboradores observaram os efeitos críticos da exposição solar intensa na expressão dos achados de dermatoscopia de nevos melanocíticos, evidenciando, maior número de pontos pretos, glóbulos e aumento da rede pigmentar 5 a 13 dias depois da exposição, permanecendo até seis semanas após. Em quatro lesões obtiveram alterações dermatoscópicas comuns aos melanomas (29). Achados como pigmentação mais proeminente, neoformação e aumento de tamanho de glóbulos e borda mais abrupta são citados por alguns autores como sugestivos de malignidade (30, 31).

Ao se avaliar isoladamente essas alterações, pode-se entender mais facilmente seu significado clínico. A rede pigmentar que representa a presença de melanina nas células epidérmicas corresponde à distribuição desse pigmento na camada basal (30). Soyer

relaciona a presença de rede pigmentar em nevos juncionais, como uma pigmentação e alongamento das papilas dérmicas, com um aumento do número de melanócitos na camada basal (31). É provável que todo o processo que afete a junção dermo-epidérmica possa produzir alguma alteração de rede pigmentar. No presente estudo, observou-se uma diminuição de nitidez da rede pigmentar, que pode ser interpretada como uma despigmentação da mesma. Despigmentação de rede pigmentar pode significar uma provável reação imunológica contra as células névicas, responsável pela perda da estrutura da rede pigmentar. Em diferentes condições, essa despigmentação pode ser interpretada como marcadora de atipia, assim como a irregularidade da rede pigmentar (32), que nas fases iniciais de progressão tumoral pode ser menos evidente, provavelmente ligada ao baixo número ou descontinuidade das atipias celulares ou quando o melanoma surge associado a um nevo preexistente (31). Kenet e colaboradores colocam a presença de rede pigmentar menos regular, entre outros achados, como um dos mais sensíveis para auxiliar o diagnóstico de atipias melanocíticas severas, porém menos específicos que pseudópodos, crescimento radial, pontos pretos periféricos e véu esbranquiçado (33). Afirmam também que representa uma desordem arquitetural, ligada a variações de ninhos de células névicas juncionais ou a um crescimento pagetóide de melanócitos (33).

Os glóbulos representam a presença de ninhos de melanócitos na junção dermo-epidérmica ou na derme papilar. Argenziano e colaboradores detectaram glóbulos em aproximadamente 78% dos melanomas de espalhamento superficial (34). Menzies e colaboradores conferiram uma especificidade de 85% em relação à presença de glóbulos em melanomas (35). Essa característica, para alguns autores, representa um achado com baixa especificidade para melanoma, pois freqüentemente está presente em nevos benignos, mas deve ser valorizada como indicativo para atipia melanocítica, especialmente se tiver irregularidade de forma e tamanho (6, 33, 37).

A presença de pigmentação escura (35) e bordas abruptas é muito mais comum nas lesões displásicas e nos melanomas que em nevos pigmentados (38). A pigmentação mais escura representa provavelmente a ativação do mecanismo de síntese de melanina

inicialmente e, posteriormente, a proliferação de melanócitos, uma vez mantido o estímulo (22). Nesse caso, o estímulo é representado pela radiação ultravioleta B, cuja penetração incide principalmente até o nível juncional, explicando talvez sua presença mais significativa na junção dermo-epidérmica de nevos compostos em comparação com os intradérmicos. Esse mesmo estímulo explica a presença da característica borda mais abrupta em quase todos os nevos juncionais estudados. Esse achado em dermatoscopia pode representar, em alguns casos, uma sobreposição de características, como pigmentação mais escura, crescimento radial, irregularidade de rede pigmentar, pontos pretos, glóbulos, que na periferia de um nevo podem significar um aumento de sensibilidade para o diagnóstico de atipias melanocíticas e melanomas (35).

A presença de vasos que ficaram mais visíveis pode ter uma ligação direta com o achado de eritema ou de neovascularização. Embora não específico, um padrão vascular de aspecto variado, como as telangectasias, ou um aumento da presença de vasos, também é observado em áreas de regressão de melanomas não muito pigmentados ou em carcinomas basocelulares (32, 33), com sensibilidade estimada em 57% e especificidade de 83% (33). O eritema se refere justamente à presença de vasodilatação capilar junto às papilas dérmicas e representa alta sensibilidade com baixa especificidade para o diagnóstico de melanoma ou atipia severa (33).

Podemos concluir que os achados de dermatoscopia em nevos melanocíticos após exposição a 2 DEM de ultravioleta B estão relacionados ao aumento da produção de melanina pelos melanócitos, que afeta os achados de rede pigmentar, pigmentação geral, bordas e glóbulos e que, por inflamação, altera também vasos com eritema. Essas manifestações provavelmente ativam-se como mecanismos de defesa contra as ações da radiação UV. Embora na maioria dos casos o aspecto dos nevos não se altere muito, a presença do conjunto de algumas dessas alterações, em algumas lesões pigmentadas, pode adquirir um aspecto clínico ou dermatoscópico que lembre ou até mesmo simule o aspecto de uma lesão melanocítica em transformação maligna, lentigo maligno ou melanoma *in situ* ou que já tenha algum grau de transformação maligna, mesmo sendo

transitória (20). É importante enfatizar que os critérios diagnósticos em dermatoscopia para lesões pigmentadas expostas à radiação UV devem ser analisados com cuidado ou então devem ser criados parâmetros diagnósticos específicos para esta situação (20). A maioria dos autores recomenda uma nova avaliação desta lesão após 30 dias da exposição (20, 28).

Conforme a frequência de aparecimento em números totais, podemos agregar as alterações histopatológicas em três grupos: 1 – grupo com as características mais frequentes, como hiperplasia de queratinócitos e de melanócitos, paraceratose, aumento de núcleo e citoplasma de melanócitos; 2 – grupo com achados de frequência intermediária, como infiltrado inflamatório, fusão de cones e fibroplasia lamelar; 3 - grupo com as características menos frequentes, do tipo atipia celular, atrofia epidérmica e hiperpigmentação de camada basal (tabela 4). Resta saber se a dose de radiação UVB imposta ou o tempo de observação das alterações menos frequentes, sejam suficientes para sua manifestação.

Tronnier e colaboradores afirmam que um único episódio de irradiação com radiação ultravioleta B pode induzir alterações morfológicas em nevos melanocíticos, em alguns casos de difícil distinção dos melanomas *in situ*, pelo aumento do número de melanócitos suprabasais, alargamento de núcleo e citoplasma de melanócitos e infiltrado inflamatório leve (16). O achado de um número aumentado de melanócitos acima da junção dermo-epidérmica, segundo Lever, representa um dos principais critérios para o diagnóstico de melanoma *in situ* (39). Em um estudo com nevos removidos 2 a 4 semanas após a irradiação, não foram encontradas diferenças significativas na localização e número de melanócitos intraepidérmicos e células névicas entre o lado irradiado e o não-irradiado, indicando que essas alterações são reversíveis (16) e, mais importante, que caracterizam os nevos após irradiação UV, geralmente em sete dias, juntamente com os nevos recorrentes, nevos genitais e nevos congênitos, dentro do grupo dos chamados “simuladores de melanoma”. Em nevos “não-simuladores”, normalmente não se observa um número significativo de células com atipia celular e polimorfismo, ao contrário de alguns casos de nevos simuladores (15). Neste estudo, embora tenha sido uma característica não muito

freqüente na contagem geral, com nenhum caso mais severo, a atipia esteve presente em 50% dos casos de nevos compostos (Tabela 5). Mesmo estando em maior número, ao compararmos sua ocorrência em nevos intradérmicos (16,6%), observamos a influência da RUV-B, que tem pouca penetração dérmica (500 μ m), atingindo especialmente os melanócitos epidérmicos em relação aos melanócitos na derme papilar.

A ativação celular que ocorre após a exposição ao UV resulta também em aumento de núcleo e citoplasma no lado irradiado, fenômeno bem conhecido em estudos prévios (40). Correspondem a alterações ultraestruturais, como as evidenciadas por Tronnier e colaboradores por microscopia eletrônica, mostrando os melanócitos com numerosos melanossomos em diferentes estágios, localizados ao redor de um núcleo alargado, indicando uma produção ativa de melanossomos (15). Além do aumento de número, observaram também um polimorfismo dos melanossomos, como já descritos previamente em melanócitos de lentigos gerados por PUVA (41).

A chave para um diagnóstico diferencial mais preciso de nevos expostos à RUV, parece estar na paraceratose, normalmente presente acima da camada córnea, e na hiperkeratose, presente em vários casos de nevos melanocíticos expostos à radiação UV. Ambas resultam da hiperplasia que ocorre na derme, epiderme e estrato córneo após essa exposição. Esse processo inicia-se 24 a 48 horas após a irradiação aguda de UVB associada a um aumento de síntese de DNA, RNA e proteínas e persiste normalmente por um período de até 6 semanas. Como resultado, podemos ter um espessamento de até duas vezes da derme e epiderme normais. Além disso, um infiltrado inflamatório superficial também é indicativo de alguma agressão exógena sobre essa lesão (23).

Outras alterações avaliadas neste estudo, como a fusão de cones e a fibroplasia lamelar, ainda pouco descritas em outros trabalhos com metodologia similar, embora evidenciadas em menor número estiveram nitidamente presentes em vários casos. Elas podem ser características e indicativas de lesões com atipia em andamento ou já estabelecidas que podem eventualmente ser precursoras de melanomas (39).

Neste estudo foram observados alguns casos, especialmente de nevos do tipo composto, que apresentaram a maioria das alterações descritas acima (tabela 5). Estes casos são os mais propensos a tornarem-se “simuladores de melanoma”. A presença de atipia melanocítica, como descrita em algumas situações, embora de leve intensidade, talvez pudesse significar uma espécie de sinal inicial para um processo de desenvolvimento tumoral, tendo como gatilho a agressão causada pelo UVB. Embora a maioria dos trabalhos indique uma reversão total das alterações após 30 dias (15, 16, 20), é impossível saber se nos presentes casos se haveria a permanência de atipia após 7 ou 30 dias de exposição. É possível que a resposta usual à radiação UV em nevos não evolua para nenhuma alteração permanente do DNA celular e que os eventos genéticos que levam à transformação de alguns casos sejam eventos raros (42). Talvez, para a ocorrência de um evento iniciador ou promotor tumoral, seja necessária uma dose maior de RUV ou mais episódios de exposição, após um tempo maior de espera. Nesse sentido, torna-se imprescindível, antes do diagnóstico definitivo, em nível de histopatologia, a história clínica do paciente de exposição ultravioleta nos últimos 30 dias sobre a lesão em estudo.

Nas lesões pigmentares avaliadas pela imuno-histoquímica, foi observada uma regularidade muito grande dos resultados aferidos em cruces, tanto para os lados irradiados quanto para os não-irradiados, para HMB45 e S100, nos diferentes tipos de nevos.

O anticorpo HMB-45 foi inicialmente introduzido como um marcador específico para melanoma (42). Estudos posteriores demonstraram que representa um glicoconjugado oncofetal associado a melanossomos imaturos (44) e um marcador de ativação melanocítica (45), sendo possível a observação de dendritos que aumentam em número e tamanho, antes somente detectados por microscopia eletrônica. O aumento da atividade melanocítica demonstrado pelo HMB-45 já foi estudado em diferentes tipos de lesões melanocíticas benignas e malignas (16). Os resultados obtidos neste estudo, que demonstraram o aumento da expressão de HMB-45 no lado fotoexposto, parecem estar diretamente relacionados com a formação de melanossomos. Tronnier e colaboradores com a mesma metodologia de pesquisa, além de HMB-45 evidenciaram aumento da expressão de KI-67,

Topoisomerase II α , PCNA, p53 e p21 e concluíram que a radiação ultravioleta, além de estimular a atividade proliferativa dos melanócitos em lesões melanocíticas, ativa também inibidores do ciclo celular e assim permite o reparo do DNA celular (19). Em nenhum desses trabalhos foi utilizada a proteína S100.

S100 é uma proteína de baixo peso molecular, termolábil e carreadora de cálcio. Pode se expressar em uma grande variedade de tecidos de origem neuroectodérmica, mesodérmica e ectodérmica (46, 47). Ativando enzimas ou como modulador de proteínas, faz parte de vários processos de evolução do ciclo celular e diferenciação celular. Em imuno-histoquímica é rotineiramente usada como marcadora sensível, mas não específica, de lesões melanocíticas (46, 48).

Foi observada uma menor diferença entre os resultados obtidos com a proteína S100, comparando-se o lado irradiado com quatro cruzes e o não-irradiado com três cruzes. Parece demonstrar que a proteína S100 não é um marcador ideal de ativação celular melanocítica pela radiação ultravioleta, como o HMB45, na dose e tempo de observação utilizados. Estudos já demonstraram que HMB45 mostrou-se mais eficiente para a detecção da heterogeneidade celular tumoral que S100, além de ser específico para melanócitos névicos e não apresentar reações cruzadas com sarcomas, carcinomas ou linfomas (49).

A observação das quatro modalidades de avaliação utilizados nos nevos detectou alterações no lado não-irradiado que, de alguma forma, podem ter influenciado os resultados no lado irradiado, aparecendo em números próximos, iguais ou maiores e alterando a significância estatística de algumas características em diferentes tipos histopatológicos de nevos. Na clínica (tabela 2), por exemplo, temos as características **melanina mais escura** e **pigmentação mais clara** e na dermatoscopia (tabela 3) a **pigmentação mais discreta** e **áreas hipopigmentadas maiores**, que representam bem esses achados.

Há muitos anos, procura-se uma explicação para a ocorrência desse tipo de alteração (23, 50), o que também explicaria a ocorrência de nevos displásicos ou até mesmo

de melanomas em áreas fotoprotetidas. Algumas teorias já foram levantadas para explicar esse fenômeno, sendo possível sua transposição para este estudo:

1 - provavelmente estão ligadas ao aumento da atividade mitótica, sem um aparente aumento do conteúdo de melanina na epiderme. As alterações podem surgir a partir de um possível fator estimulador de mitoses originado do lado irradiado (51), talvez uma substância que possa controlar o equilíbrio da população de melanócitos em toda a superfície corporal e, dessa forma, preparando a pele para futuras exposições à radiação UV (52);

2 - o número de melanócitos pode ser controlado por um sistema inibitório presente nos dendritos dos melanócitos que, com um intrincado mecanismo, regula a população de células, determinada pelo balanço entre fatores inibitórios e estimulatórios (52).

3 - apesar dos cuidados adotados na proteção do lado irradiado, com nenhum estudo evidenciando essa relação, é possível uma influência da estimulação mecânica local, passagem de luz ou outras variáveis.

CONCLUSÕES

A análise, após sete dias, dos efeitos de 2 DEM de radiação ultravioleta B em uma amostra de nevos melanocíticos demonstrou que:

1) as alterações clínicas mais comuns foram: cor vermelha mais escura, bordas menos nítidas, eritema perilesional, pigmentação perilesional e descamação.

2) as alterações dermatoscópicas foram: rede pigmentar menos nítida e menos regular, pigmentação difusa mais proeminente, neoformação e aumento de tamanho de glóbulos, borda mais abrupta, eritema e vasos mais proeminentes;

3) as características histopatológicas mais comuns foram: hiperplasia melanocítica, paraceratose, hiperplasia de queratinócitos, aumento de núcleo e de citoplasma de melanócitos;

4) a imuno-histoquímica demonstrou a expressão do antígeno HMB-45 aumentada e mais intensa que a da proteína S-100;

5) a observação de alterações também no lado protegido pode ser decorrente da presença de um fator ativador de melanócitos, originado a partir do lado irradiado;

6) algumas alterações descritas, como aumento da pigmentação na clínica, rede pigmentar menos nítida e regular, borda mais proeminente e neoformação de glóbulos na dermatoscopia, presença de atipias celulares, aumento de núcleo e citoplasma, fusão de cones e fibroplasia lamelar na histopatologia e aumento da expressão de HMB-45 na imunohistoquímica, são semelhantes às encontradas nos lentigos malignos e nos melanomas *in situ*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- RHODES AR, WEINSTOCK MA, FITZPATRICK TB, MIHM MC, SOBER AJ. Risk factors for cutaneous melanoma - A practical method of recognizing predisposed individuals. *JAMA* 1987; 258(21): 3146-3153.
- 2- KOH HK. Cutaneous melanoma. *N Engl J Med* 1991; 325: 171-182.
- 3- KOPF AW, ABADIR MC, MAEGHOOB AA. Case-control study of melanocytic nevi on the buttocks in atypical mole syndrome: Role of solar radiation in the pathogenesis of atypical moles. *J Am Acad Dermatol* 1995; 33(1): 31-6.
- 4- HOUGHTON AN, VIOLA MV. Solar radiation and malignant melanoma of the skin. *J Am Acad Dermatol* 1981; 5(4): 477-483.
- 5- KOPF AW, KRIPKE ML, STERN RS. Sun and malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1984; 11(4): 674-684.
- 6- ROSDAHL IK, SZABÓ G. Mitotic activity of epidermal melanocytes in UV-irradiated mouse skin. *J Invest Dermatol* 1978; 70(3): 143-8.
- 7- NORDLUND JJ, ACKLES AE, TRAYNOR FF. The proliferative and toxic effects of ultraviolet light and inflammation on epidermal pigment cells. *J Invest Dermatol* 1981; 77(4): 361-8.
- 8- SKENDER-KALNENAS TM, ENGLISH DR, HEENAN PJ. Benign melanocytic lesions: Risk markers or precursors of cutaneous melanoma? *J Am Acad Dermatol* 1995; 33(6): 1000-7.
- 9- GARBE C, BÜTTNER P, SOYER HP. Risk factors for developing cutaneous melanoma and criteria for identifying persons at risk: Multicenter melanoma registry of the German Dermatological Society. *J Invest Dermatol* 1994; 102(5): 695-9.
- 10- RHODES AR, HARRIST TJ, DAY CL. Dysplastic melanocytic nevi in association with 234 primary cutaneous melanomas. *J Am Acad Dermatol* 1983; 9: 563-574.
- 11- STIERNER U. Melanocytes, moles and melanoma: a study on UV effects. *Acta Derm Venereol Suppl* 1991; 168: 1-31.

12- KELLY JW, RIVERS JK, MACLENNAN R, HARRISON S, LEWWIS AE, TATE BJ. Sunlight: a major factor associated with the development of melanocytic nevi in Australian schoolchildren. *J Am Acad Dermatol* 1994; 30(1): 40-8.

13- BAKOS I, WAGNER M, BAKOS RM, LEITE CSM, SPERHACKE CL, DZEKANIAK KS, GLEISNER ALM. Sunburn, sunscreens, and phenotypes: some risk factors for cutaneous melanoma in southern Brazil. *Int J Dermatol* 2002; 41(9): 557-562.

14- HELDER DE. Human melanocytic neoplasms and their relationship with sunlight. *J Invest Dermatol* 1989; 92(5): 297S-303S.

15- TRONNIER M, WOLFF HH. UV-irradiated melanocytic nevi simulating melanoma in situ. *Am J Dermatopathol* 1995; 17: 1-6.

16- TRONNIER M, SMOLLE J, WOLFF HH. Ultraviolet irradiation induces acute changes in melanocytic nevi. *J Invest Dermatol* 1995; 104: 475-8.

17- TRONNIER M, RUDOLPH P, KOSER T. A single erythemogenic UV-irradiation is more effective in enhancing the proliferative activity of melanocytes in melanocytic nevi compared to fractionally applied high doses. *J Invest Dermatol* 1996 (abstr); 107: 460.

18- TRONNIER M, ALEXANDER M, WOLFF HH. Adhesion molecule expression in normal skin and melanocytic lesions. *J Cutan Pathol* 1997; 24: 278-285.

19- TRONNIER M, RUDOLPH P, MENZEL R. Enhanced expression of Ki-67, topoisomerase II α , PCNA, p53 and p21. Reflecting proliferation and repair activity in UV-irradiated melanocytic nevi. *Human Pathol* 1998; 29(12): 1480-7.

20- HOFMANN-WELLENHOF R, SOYER P, WOLF IH, WOLF P. Ultraviolet radiation of melanocytic nevi. A dermoscopic study. *Arch Dermatol* 1998; 134: 845-850.

21- PATHAK MA, NGHIEM P, FITZPATRICK TB. Acute and chronic effects of the sun. In: FREEDBERG IM, EISEN AZ, WOLFF K. (eds). *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. 5th Ed. New York, Mc-Graw Hill, 1999, cap. 138, p. 1598-1606.

22- PARRISH JA, JAENICKE KF, ANDERSON RR. Erythema and melanogenesis action spectrum of normal human skin. *Photochem Photobiol* 1982; 36: 187-91.

- 23- MURPHY GM. The acute effects of ultraviolet radiation on the skin In: HAWK JLM. Photodermatology. 1st ed. London, Arnold, 1999. Cap. 4, p. 43-52.
- 24- ELLER MS, OSTROM K, GILCHREST BA. DNA damage enhances melanogenesis. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* 1996; 93: 1087-92 In: HAWK JLM. Photodermatology. 1st ed. London, Arnold, 1999 Cap. 4, p. 43-52.
- 25- NAYLOR MF. Erythema, skin cancer and sunscreens. *Arch Dermatol* 1997; 133: 373-5.
- 26- LAESEN TE, MOGENSEN SB, HOLME I. Seasonal variations of pigmented naevi: intercorrelations of clinical and histological variables with special reference to seasonal variation. *Acta Dermatol Venereol* 1990; 70:115-120.
- 27- STANGANELLI I, RAFANELLI S, BUCCHI L. Seasonal prevalence of digital epiluminescence microscopy patterns of acquired melanocytic nevi. *J Am Acad Dermatol* 1996; 34: 460-4.
- 28- HOFMANN-WELLENHOFF R, WOLF P, SOYER HP. Influence of UVB therapy on the dermoscopic features of acquired melanocytic nevi. *Am J Acad Dermatol* 1997; 37: 559-563.
- 29- STANGANELLI I, BUCCHI L. Critical effects of intense sun exposure on the expression of epiluminescence microscopy features of melanocytic nevi. *Arch Dermatol* 1997; 133: 979-982.
- 30- YADAV S, VOSSAERT KA, KOPF AW. Histopathologic correlates of structures seen on dermoscopy (Epiluminescence Microscopy). *Am J Dermatopathol* 1998; 14(4): 297-305.
- 31- 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: 1-10.
- 32- SOYER HP, SMOLLE J, LEITINGER G. Diagnostic reliability of dermoscopic criteria for detecting malignant melanoma. *Dermatology* 1995; 190: 25-30.

- 33- KENET R, FITZPATRICK TB, SOBER AJ. Clinical diagnosis of pigmented lesions using digital epiluminescence microscopy: grading protocol and atlas. *Arch Dermatol* 1993; 129: 157-174.
- 34- ARGENZIANO Z, FABBROCINI G, CARLI P, GIORGI V, DELFINO M. Epiluminescence microscopy: criteria of melanoma progression. *J Am Acad Dermatol* 1997; 37: 68-74.
- 35- MENZIES SW, INGVAR C, CROTTY KA, McCARTHY WH. Frequency and morphologic characteristics of invasive melanomas lacking specific surface microscopic features. *Arch Dermatol* 1995; 132: 1178-82.
- 36- STEINER A, BINDER M, WOLFF K. Statistical evaluation of epiluminescence microscopy criteria for melanocytic pigmented skin lesions. *J Am Acad Dermatol* 1993; 29: 581-8.
- 37- GUILLOD JF, SKARIA MA, SALOMON D, SAURAT JH. Epiluminescence videomicroscopy: black dots and brown globules revisited by stripping the stratum corneum. *J Am Acad Dermatol* 1997; 36: 371-7.
- 38- NILLES M, BOEDEKER RH, SCHILL WB. Surface microscopy of naevi and melanomas: clues to melanoma. *Br J Dermatol* 1994; 130: 349-355.
- 39- ELDER D, IOFFREDA M, MILLER JJ, ELENITSAS R, JOHNSON B MILLER OF In: Synopsis and Atlas of Lever's Histopathology of the Skin. 1st Ed Brazil: Manole Editora; 2001. p. 15-62.
- 40- FRIEDMAN OS, GILCCHREST BA. Ultraviolet radiation directly induces pigment production by cultured human melanocytes. *J Cell Physiol* 1987; 133: 88-94.
- 41- NAKAGAWA H, RHODES AR, MONTAZ TK, FITZPATRICK TB. Morphologic alterations of epidermal melanocytes and melanossomes in PUVA lentigines: a comparative ultrastructural investigation of lentigines induced by PUVA and sunlight. *J Invest Dermatol* 1984; 82: 101-7.
- 42- BÖNI R, MATT D, TRONNIER M. Ultraviolet-induced acute histological changes in irradiated nevi are not associated with allelic loss. *Arch Dermatol* 1998; 134: 853-6.

43- GOWN AM, VOGEL AM, HOAK DH. Monoclonal antibodies specific for melanocytic tumors distinguish subpopulations of melanocytes. *Am J Pathol* 1986; 123: 195-203.

44- KAPUR RP, BIGLER AS, SKELLY M, GOWN AM. Anti-melanoma antibody HMB45 identifies an oncofetal glycoconjugate associated with immature melanossomas. *J Histochem Cytochem* 1992; 40: 207-212.

45- SKELTON HG III, SMITH KJ, BARRET TL, LUPTON GP, GRAHAN JH. HMB-45 staining in benign and malignant melanocytic lesions. *Am J Dermatopathol* 1991; 13: 543-550.

46- BROCHEZ L, NAEYAERT JM. Serological markers for melanoma. *Br J Dermatol* 2000; 143: 256-268.

47- JÄCKELI A, DEICHMAN M, WALDMANN V. S-100 β protein in serum, a tumor marker in malignant melanoma-current state of knowledge and clinical experiences. *Hautartz* 1999; 50: 250-6.

48- SCHÄFER BW, HEIZMANN CW. The S100 family of EF-hand calcium-binding proteins: functions and pathology. *TIBS* 1996; 21: 134-40.

49- DURAY PH, PALAZZO J, GOWN AM, OHUCHI N. Melanoma cell heterogeneity. A study of two monoclonal antibodies compared with S-100 protein in paraffin sections. *Cancer* 1988; 61: 2460-8.

50- QUEVEDO WC, SZABÓ G, VIRKS J, SINESI SJ. Melanocyte populations in UV-irradiated human skin. *J Invest Dermatol* 1965; 45: 295-8.

51- STIERNER U, ROSDAHL I, AUGUSTSSON A, KAGEDAL B. UVB irradiation induces melanocyte increase in both exposed and shielded human skin. *J Invest Dermatol* 1989; 92: 561-4.

52- ROSDAHL IK. Local and systemic effects on the epidermal melanocyte population in UV-irradiated mouse skin. *J Invest Dermatol* 1979; 73: 306-9.

ANEXO 1

ANEXO 1 – FIGURAS E TABELAS

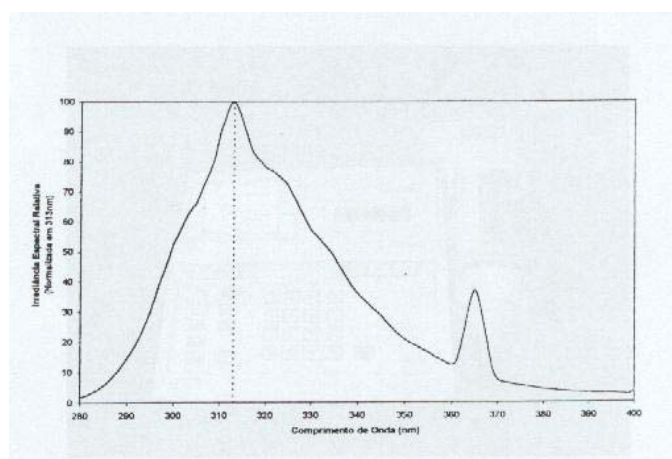


FIGURA 1 – Curva de irradiância espectral relativa da fonte de UVB

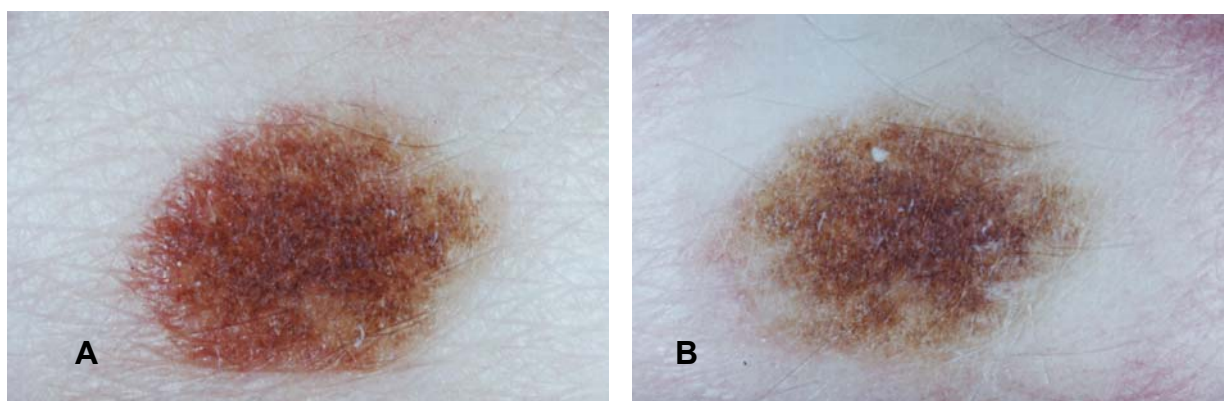


FIGURA 2 – Nevo melanocítico composto. A, Imagem clínica inicial. B, Imagem clínica após sete dias de exposição com duas DEM. Observar a diminuição da nitidez da borda, com aparente halo ao redor do todo o nevo. Notar a presença de escamação e eritema à direita no lado irradiado.

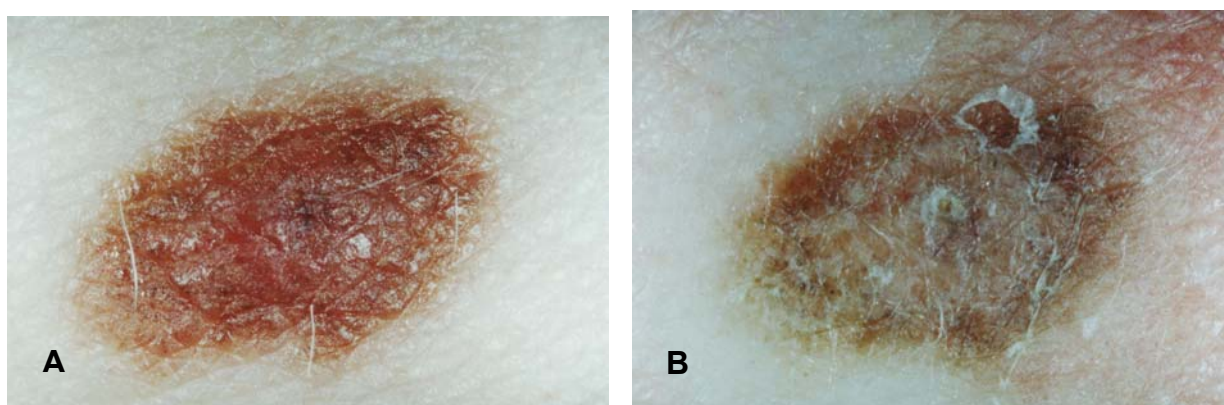


FIGURA 3 – Nevo melanocítico juncional. A, Imagem clínica inicial. B, Imagem clínica após sete dias de exposição com duas DEM. Observar a diminuição da nitidez da borda, bem como escamação e eritema à direita no lado irradiado. Notar as variações de cores do nevo.

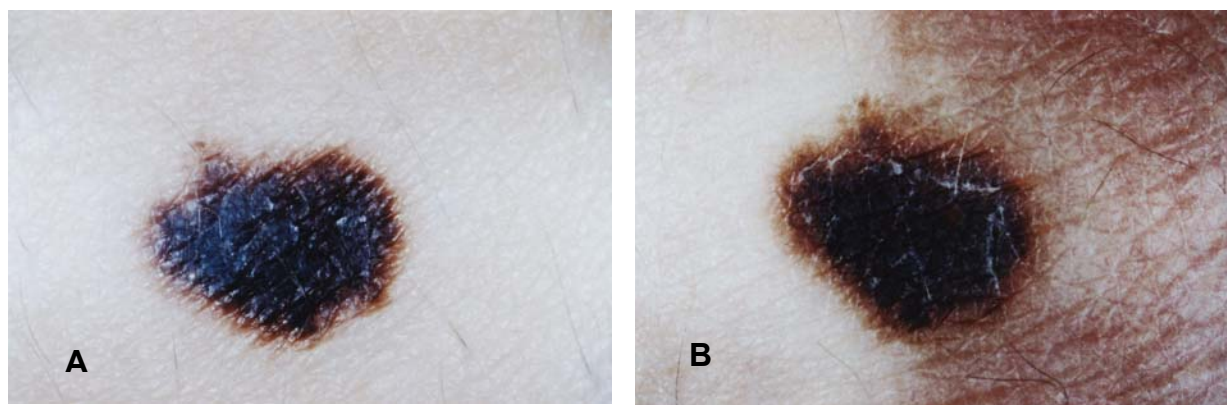


FIGURA 4 – Nevo melanocítico juncional A, Imagem clínica inicial. B, Imagem clínica após sete dias de exposição com duas DEM. Observar a pigmentação peri-lesional no lado irradiado (direito).

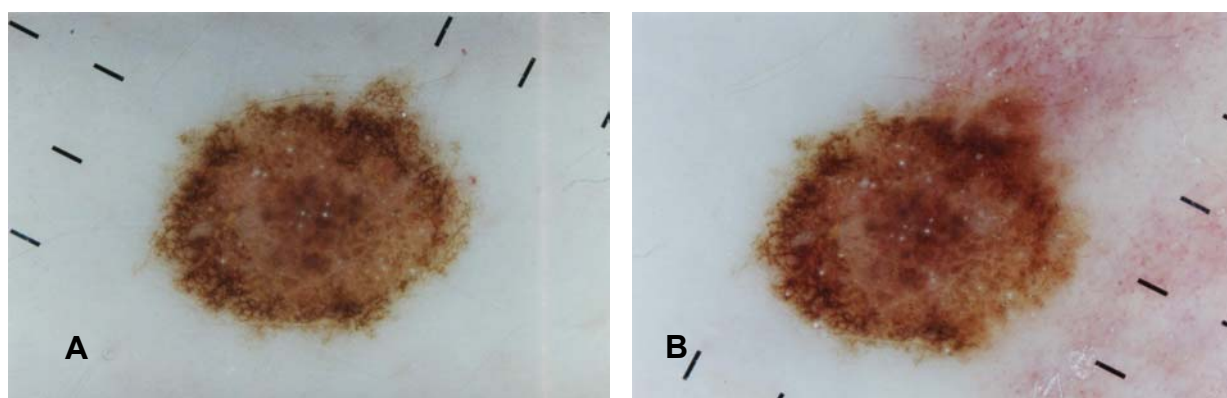


FIGURA 5 – Nevo melanocítico composto A, Imagem dermatoscópica inicial. B, Imagem dermatoscópica após sete dias de exposição com duas DEM. Observar a borda superior direita do nevo com menos nitidez, mais abrupta e com rede pigmentar menos nítida e regular. Notar o eritema peri-lesional no lado direito irradiado e a formação de halo hipocrômico ao redor da lesão.

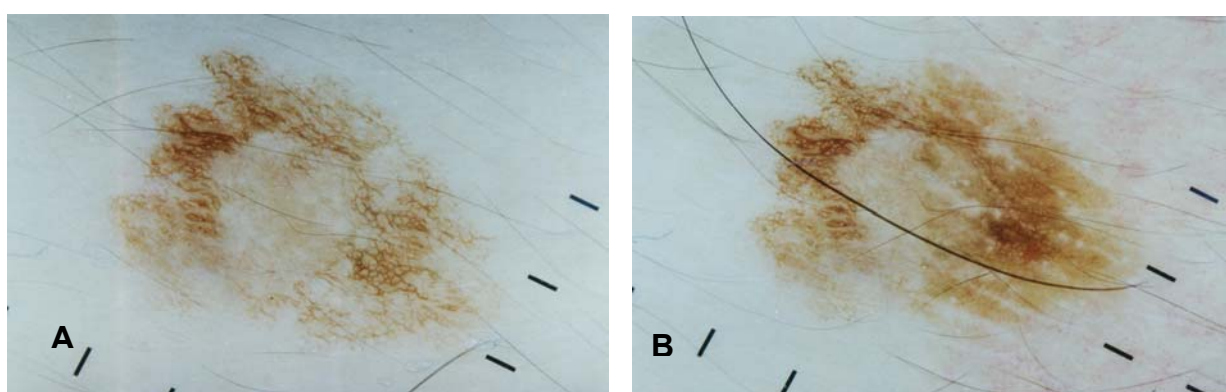


FIGURA 6 – Nevo melanocítico intradérmico A, Imagem dermatoscópica inicial. B, Imagem dermatoscópica após sete dias de exposição com duas DEM. Observar o aumento da pigmentação e rede pigmentar menos nítida e menos regular, destacando a borda da lesão, além do eritema peri-lesional no lado direito irradiado.

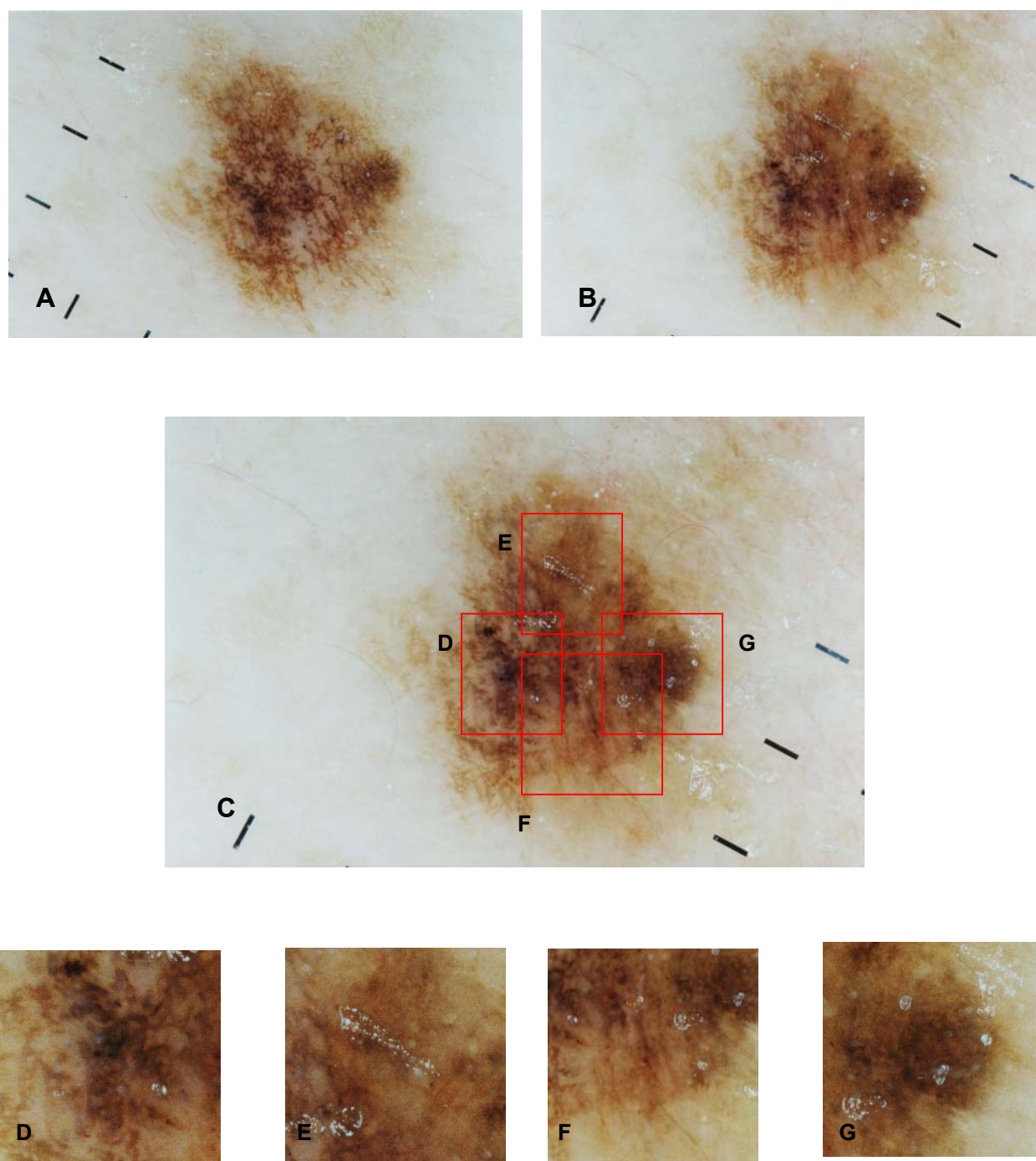


FIGURA 7 – Nevo melanocítico juncional. A, Imagem dermatoscópica inicial. B, imagem dermatoscópica após sete dias de exposição a 2 DEM. Na porção central do nevo observar glóbulos maiores e mais numerosos. Na periferia, na borda direita irradiada, notar rede pigmentar menos regular e menos nítida, bem como o aumento de sua pigmentação. C, Salientamos os detalhes da foto dermatoscópica. D, presença de glóbulos mais numerosos e maiores. E, Em detalhe, o aumento da pigmentação local. F, Em detalhe, rede pigmentar da borda menos nítida e regular. F e G, Em detalhe, borda mais abrupta e com aumento de pigmentação, bem como rede pigmentar menos nítida e regular.

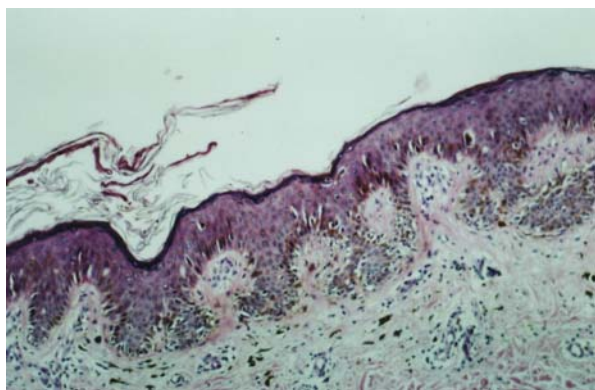


Figura 8 – Nevo melanocítico juncional. Hiperqueratose no lado esquerdo do corte histopatológico corado com hematoxilina-eosina (HE), e nos dois lados, presença de fusão de cones, hiperpigmentação de camada basal, hiperplasia de melanócitos e aumento de núcleo e citoplasma (Aumento original de 100X).

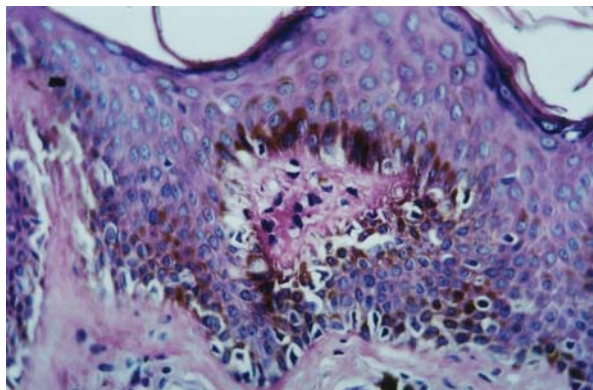


Figura 9 – Nevo melanocítico juncional. Corte histopatológico corado com HE com destaque no lado irradiado evidenciando fusão de cones, hiperplasia de melanócitos e queratinócitos, aumento de núcleos e citoplasmas e discreta hiperpigmentação de camada basilar (aumento original de 400 vezes).

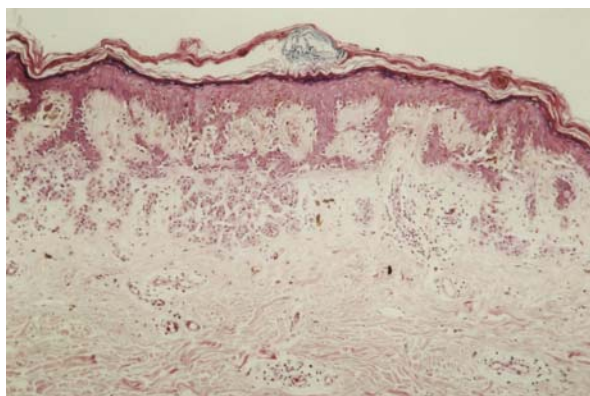


Figura 10 – Nevo melanocítico composto **A**. Corte histopatológico corado com HE evidencia o lado irradiado de nevo melanocítico destacando paraceratose, hiperqueratose e fusão de cones (aumento original de 100 vezes) **B**. No mesmo nevo destacamos intensa hiperplasia melanocítica, aumento de núcleos e citoplasmas, atipias celulares e fusão de cones (aumento original de 400 vezes).

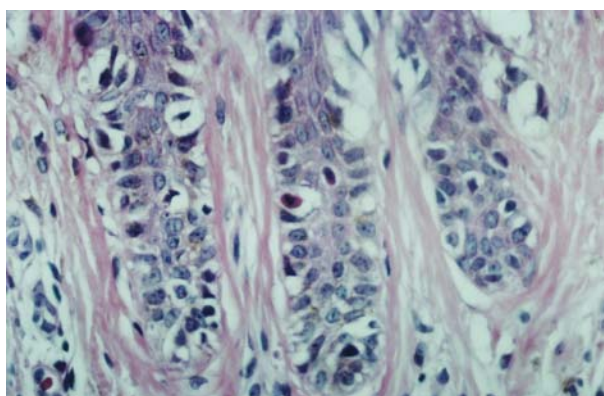
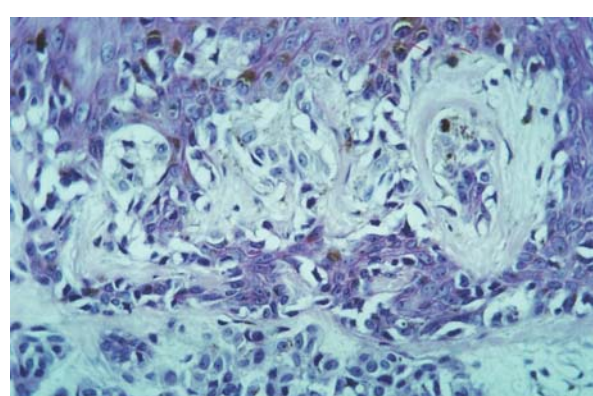


Figura 11 – Nevo melanocítico composto. Corte histopatológico do lado irradiado corado com HE destacando a fibroplasia lamelar circundando os cones interpapilares, bem como hiperplasia de melanócitos e atipias celulares (aumento original de 400 vezes).

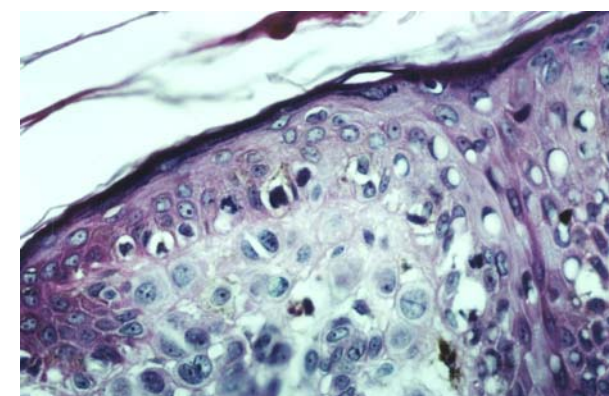


Figura 12 – Nevo melanocítico composto. Corte histopatológico do lado irradiado corado com HE, mostrando atipias celulares e hiperplasia melanocítica (aumento original de 400 vezes).

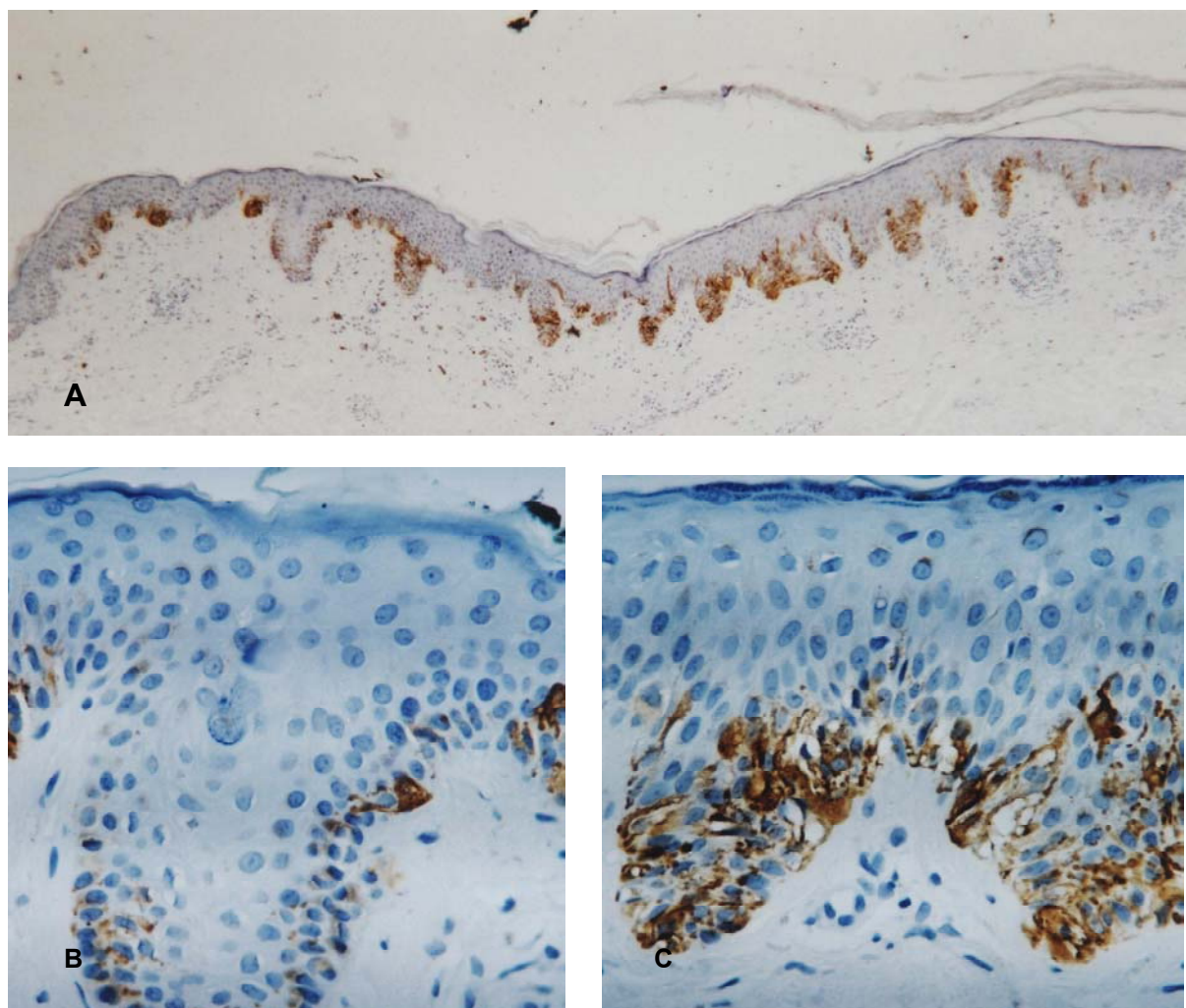


Figura 13 – Nevo melanocítico junctional A - Corte histopatológico com incorporação do anticorpo HMB-45, apresentando no lado direito, irradiado, maior número de células positivas nas papilas dérmicas, bem como hiperqueratose e fusão de cones, em relação ao lado esquerdo, não irradiado (aumento original de 25X). B – No mesmo nevo observar os cones interpapilares com número reduzido de células positivas em relação aos cones localizados no lado irradiado (Figura C). C – Papila dérmica do lado irradiado evidenciando aumento do número de células positivas para HMB-45 e dendritos nos cones interpapilares adjacentes (aumento original das figuras B e C de 400 vezes).

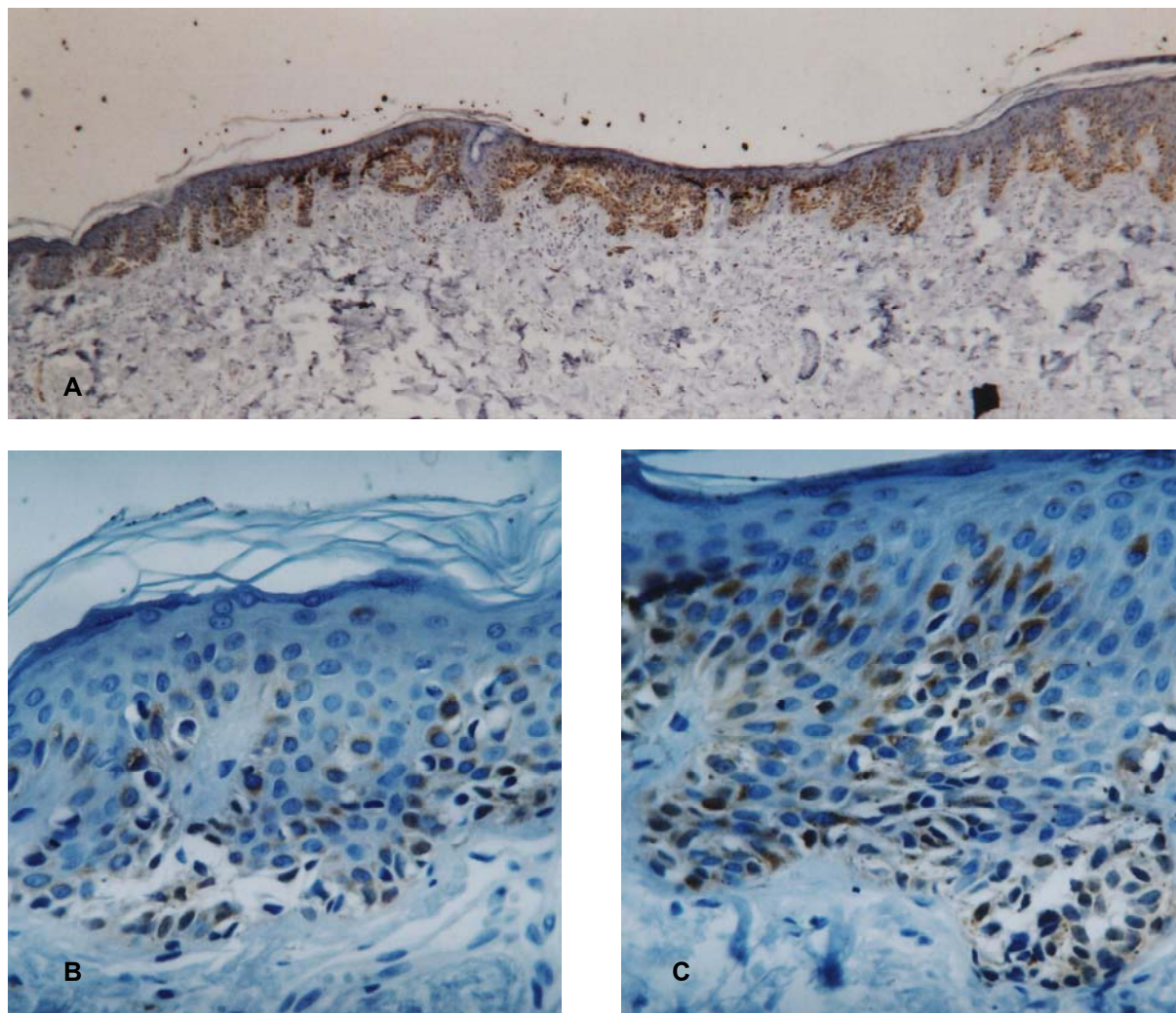


Figura 14 – Nevo melanocítico composto **A** – Corte histopatológico com incorporação da proteína S100, apresentando células positivas no lado direito, irradiado e no lado esquerdo, não irradiado, bem como fusão de cones (aumento original de 25 vezes). **B** – Lado esquerdo, não irradiado, do mesmo nevo evidenciando um número um pouco menor de células positivas para proteína S100 em relação ao lado direito irradiado (Figura C). **C** – Em destaque, presença de células positivas para proteína S100 em cones interpapilares localizados no lado irradiado (aumento original das figuras B e C de 400 vezes).

TABELA 1 – CARACTERÍSTICAS DOS NEVOS E DA POPULAÇÃO ESTUDADA

	Tipos Histopatológicos	Composto (n=20)	Juncional (n=6)	Intradérmico (n=12)	Geral (n=38)
Sexo	Masculino	9	1	8	18
	Feminino	11	5	4	20
Média de Idade (anos)		29	31.8	21.6	25.6
Fototipos	I	1	-	2	3
	II	7	-	5	12
	III	8	4	2	14
	IV	3	1	1	5
	V	-	1	1	2
	VI	1	-	1	2
DEM	15.3 mJ/cm²	7	-	-	7
	30.6 mJ/cm²	1	-	6	7
	45.9 mJ/cm²	10	6	5	21
	61.2 mJ/cm²	2	-	1	3
Localização	Dorso	15	3	8	26
	Tórax	-	2	1	3
	Abdome	2	1	2	5
	Extremidades	3	-	1	4
Tamanho Médio	Eixo Maior (mm)	7.6	7.3	6.4	7.1
	Eixo Menor (mm)	5.3	6	5.5	5.6
Alterações Prévias (%)		35	33	75	47
Congênito (%)		30	33	75	44
História Pessoal de Neoplasia		-	2	-	2
História Familiar de Neoplasia		3	1	3	7

TABELA 2 – FREQUÊNCIA DAS ALTERAÇÕES CLÍNICAS ENCONTRADAS NOS LADOS NÃO IRRADIADO E IRRADIADO COM UVB

CARACTERÍSTICAS		TIPO HISTOLÓGICO ALTERAÇÕES	COMPOSTO (n=19)	JUNCIONAL (n=6)	COMP./JUNC. (n=25)	INTRADÉRMICO (n=11)	GERAL (n=36)
Cor	Melanina	Mais Escura	6/6 (1,00)	2/3 (0,41)	8/9 (0,65)	1/6 (0,09)	12/10(0,80)
		Mais Clara	2/5 (0,31)	1/1 (1,00)	3/6 (0,37)	1/6(0,09)	4/12 (0,07)
Cor Nova	Preto	Mais Escura	0/1 (0,31)	0/0 (1,00)	0/1(0,31)	0/0 (1,00)	0/1 (0,31)
		Mais Clara	0/1 (0,31)	0/0 (1,00)	0/1 (0,31)	0/1 (0,31)	0/1 (0,31)
	Marrom	Mais Escura	2/4 (0,46)	1/1 (0,65)	3/5 (0,32)	2/1 (0,59)	5/6 (0,59)
		Mais Clara	1/7 (0,06)	0/0 (1,00)	1/7 (0,06)	0/1 (0,31)	2/8 (0,07)
	Vermelho	Mais Escura	0/6 (0,02)	0/1 (0,31)	0/7 (0,01)	2/2 (0,58)	2/9 (0,02)
		Mais Clara	3/0 (0,10)	1/2 (0,78)	4/2 (0,34)	1/0 (0,31)	5/2 (0,20)
	Cinza	Mais Escura	1/1 (1,00)	0/2 (0,17)	1/3 (0,36)	0/0 (1,00)	1/3 (0,36)
		Mais Clara	1/4 (0,22)	0/1 (0,31)	1/5 (0,14)	1/1 (1,00)	2/6 (0,20)
	Amarelo	Mais Escura	3/6 (0,47)	1/2 (0,59)	4/8 (0,38)	1/2 (0,59)	5/10 (0,32)
		Mais Clara	0/3 (0,10)	0/0 (1,00)	0/3 (0,10)	4/0 (0,06)	4/3 (0,93)
Bordas	Borda Nítida	Mais Nítida	2/3 (0,68)	0/2 (0,17)	2/5 (0,39)	2/2 (1,00)	4/7 (0,53)
		Menos Nítida	1/7 (0,05)	2/1 (0,59)	3/8 (0,14)	1/4 (0,17)	4/12 (0,04)
	Borda Esmacida	Mais Esmacida	4/7 (0,39)	1/2 (0,59)	5/9 (0,33)	1/4 (0,17)	6/13 (0,13)
		Menos Esmacida	2/3 (0,68)	1/2 (0,42)	3/5 (0,40)	1/0 (0,31)	4/5 (0,59)
	Pigmentação	Mais Escura	2/3 (0,89)	0/2 (0,17)	2/5 (0,31)	1/0 (0,31)	3/5 (0,52)
		Mais Clara	3/7 (0,15)	3/0 (0,10)	6/7 (0,50)	1/3 (0,46)	7/10 (0,42)
Eritema Peri-lesional			0/12 (0,002)	0/4 (0,06)	0/16 (0,0004)	1/8 (0,02)	1/24 (0,00)
Pig. Peri-lesional			2/4 (0,46)	0/3 (0,10)	2/8 (0,04)	0/2 (0,17)	2/10 (0,02)
Escamação			1/6 (0,06)	0/3 (0,10)	1/9 (0,02)	0/6 (0,04)	1/15 (0,016)

Cada célula representa respectivamente o número de alterações dos lados não-irradiado, irradiado e entre parênteses, a significância estatística segundo o Teste de Wilcoxon ($P < 0,05$).

TABELA 3 – FREQUÊNCIA DAS ALTERAÇÕES DERMATOSCÓPICAS ENCONTRADAS NOS LADOS NÃO IRRADIADO E IRRADIADO COM UVB.

ESTRUTURA	TIPO HISTOLÓGICO ALTERAÇÕES	COMPOSTO (n=19)	JUNCIONAL (n=6)	COMP./JUNC. (n=25)	INTRADÉRMICO (n=11)	GERAL (n=36)
Rede Pigmentar	Neoformação	2/1 (0,42)	0/2 (0,17)	2/3 (0,58)	0/1 (0,31)	2/4 (0,46)
	Mais Nítida	3/1 (0,27)	0/1 (0,31)	3/2 (0,78)	1/0 (0,31)	4/2 (0,60)
	Menos Nítida	1/11 (0,12)	1/4 (0,34)	2/15 (0,008)	3/3 (0,75)	5/18 (0,02)
	Mais regular	2/2 (0,71)	0/0 (1,00)	2/2 (0,71)	1/0 (0,31)	3/2 (0,50)
	Menos Regular	0/10 (0,005)	1/2 (0,42)	1/12 (0,005)	2/3 (0,50)	3/15 (0,006)
Glóbulos	Neoformação	0/5 (0,04)	0/0 (1,00)	0/5 (0,04)	1/2 (1,00)	1/7 (0,12)
	Aumento de Tamanho	1/6 (0,04)	0/0 (1,00)	1/6 (0,04)	1/1 (1,00)	2/7 (0,10)
Pontos Pretos	Neoformação	1/3 (0,36)	1/0 (0,31)	2/3 (0,68)	0/1 (0,31)	2/4 (0,46)
	Aumento de Tamanho	0/0 (1,00)	1/0 (0,31)	1/0 (0,31)	0/0 (1,00)	1/0 (0,31)
Pigmentação	Mais Proeminente	2/9 (0,01)	4/2 (0,91)	6/11 (0,03)	1/6 (0,07)	7/17 (0,005)
	Mais Discreta	3/4 (0,73)	1/1 (1,00)	4/5 (0,76)	5/1 (0,14)	9/6 (0,49)
	Mais Regular	0/3 (0,10)	0/1 (0,31)	0/4 (0,06)	1/1 (1,00)	1/5 (0,11)
	Mais Irregular	2/4 (0,34)	1/1 (1,00)	3/5 (0,40)	0/1 (0,31)	3/6 (0,28)
Eritema		2/11 (0,03)	0/3 (0,10)	2/14 (0,01)	0/6 (0,02)	2/20 (0,0007)
Bordas	Mais Abrupta	0/0 (1,00)	0/5 (0,04)	0/5 (0,04)	0/2 (0,17)	0/7 (0,01)
	Mais Clara	3/8 (0,18)	1/2 (0,59)	4/10 (0,15)	2/2 (1,00)	6/12 (0,21)
Vasos		2/4 (0,20)	1/3 (0,27)	3/7 (0,09)	1/3 (0,34)	4/10 (0,04)
Áreas Hipopigmentadas		4/4 (1,00)	1/1 (1,00)	5/5 (1,00)	2/2 (1,00)	7/7 (1,00)
	Maior	2/3 (0,68)	0/1 (0,31)	2/4 (0,46)	3/1 (0,14)	5/5 (0,64)
	Novas	0/2 (0,17)	1/0 (0,31)	1/2 (0,59)	2/1 (0,14)	3/3 (0,75)
	Forma mais regular	1/0 (0,31)	0/0 (1,00)	1/0 (0,31)	0/1 (0,31)	1/1 (1,00)
	Forma Mais Irregular	2/7 (0,13)	1/2 (0,59)	3/9 (0,12)	2/3 (0,61)	5/12 (0,13)

Cada célula representa respectivamente o número de alterações do lado não-irradiado, irradiado, e entre parênteses, a significância estatística segundo o Teste de Wilcoxon ($p < 0,05$)

TABELA 4 – FREQUÊNCIA DE ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS APÓS IRRADIAÇÃO UVB

TIPO HISTOLÓGICO ALTERAÇÕES	COMPOSTO (n=20)	JUNCIONAL (n=6)	COMP./JUNC. (n=26)	INTRADÉRMICO (n=12)	GERAL (n=38)
Hiperplasia Melanocítica	85	100	88	91,6	89,5
Aumento de Núcleo	70	66	69	83,3	73,7
Aumento de Citoplasma	60	83	65	83,3	71,1
Hiperpigmentação de Camada Basilar	20	0	27	16,6	23,7
Atrofia Epidérmica	0	16	3,8	8,3	5,3
Hiperplasia de Queratinócitos	90	100	92	66,6	84,2
Paraceratose	95	83	92	83,3	89,5
Atipia Celular	50	33	46,1	16,6	36,8
Infiltrado Inflamatório	60	66	92,3	50	57,9
Fusão de Cones Interpapilares	60	66	92,3	75	65,8
Fibroplasia Lamelar	50	50	50	50	50

Cada célula apresenta os valores em percentuais relacionados ao número total de nevos em cada tipo histológico e a soma de todas as lesões pigmentadas.

TABELA 5 – RELAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE PACIENTES E ALTERAÇÕES MAIS COMUNS NA HISTOLOGIA APÓS IRRADIAÇÃO COM UVB

Número de Alterações	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
Composto	2(2)	3(3)	5(3)	2	1(1)	1	3(1)	1	2	
Juncional		1(1)	2	1(1)		1		1		
Intradérmico		2(1)	2	3(1)	2		2			1
Geral	2(2)	6(5)	9(3)	6(2)	3(1)	2	5(1)	2	2	1

Cada célula representa o número de lesões pigmentadas com o número de características alteradas na histologia após irradiação com UVB em cada coluna.

Entre parênteses, o número de lesões pigmentadas com atipias celulares.

TABELA 6 – IMUNORREATIVIDADE COM HMB-45 E S-100 DE NEVOS MELANOCÍTICOS APÓS 7 DIAS DE EXPOSIÇÃO COM RUVB (2 DEM) NOS LADOS IRRADIADO E NÃO IRRADIADO.

VALORES DAS MEDIANAS (n=38)

TIPO HISTOLÓGICO	COMPOSTO	JUNCIONAL	COMP./JUNC.	INTRADÉRMICO	GERAL
HMB-45 LADO IRRADIADO	++++	++++	++++	+++	++++
HMB-45 LADO NÃO IRRADIADO	+	++	+	+	+
S-100 LADO IRRADIADO	++++	++++	++++	++++	++++
S-100 LADO NÃO IRRADIADO	+++	+++	+++	+++	+++

Os valores em cruces representam: 0, negativo ou menos de 0,5% de células positivas; 1+, de 0,5 a 5% de células positivas; 2+, de 5 a 10% de células positivas; 3+, de 10 a 50% de células positivas; 4+, mais de 50% de células positivas.

ARTIGO EM INGLÊS

ABSTRACT

Objectives: to describe the most frequent and statistically significant effects of the exposure of melanocytic nevi to ultraviolet B (UVB) radiation in two minimal erythema doses (MED) in melanocytic nevi detectable by clinical examination, dermatoscopy, histopathology and immunohistochemistry with HMB-45 antigens and protein S-100, and to compare these effects with the most common changes described in the literature, especially those that can simulate possible UV-induced malignancy.

Patients and Methods: A total of 40 melanocytic lesions were assessed in 34 volunteering patients at Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). After determining the MED, half of each melanocytic lesion was submitted to two MED of UVB radiation. After seven days, the lesion was surgically removed. Conventional and dermoscopic photographs were taken before and after seven days of exposure to UVB radiation, for clinical and dermatoscopic analysis. The statistical analysis consisted of Wilcoxon T test. The most frequent characteristics were analyzed by histopathology and the results of irradiated and nonirradiated parts were compared by immunohistochemistry, considering the median of the values expressed in crosses.

Results: The most relevant characteristics observed in the clinical examination were: darker red color, poorly defined margins, erythema, pigmentation and perilesional scaling. The dermatoscopic examination revealed poorly defined and less irregular pigment network, more prominent pigmentation, erythema, easily visible vessels and more abrupt margin. Histology showed parakeratosis, melanocytic and keratinocytic hyperplasia, enlarged nucleus and cytoplasm. On immunohistochemistry with HMB45, the irradiated part showed more than 50% of positive cells while the nonirradiated part had less than 5% of positive cells. Protein S-100 presented more than 50% of positive cells on the irradiated part, and between 10 and 50% of positive cells on the nonirradiated part.

Conclusions: The study suggests that: 1) the changes observed in the clinical, dermatoscopic, histological and immunohistochemical exams are probably related to the stimulus to melanin synthesis, vasodilation, inflammatory infiltrate and thickening of the

epidermis, especially in compound and junctional nevi, probably associated with the level of penetration of UVB beams; 2) Some cases may simulate the onset of a malignant transformation. 3) immunohistochemistry with HMB-45 proved more efficient than S-100 for the detection of increased production of melanin and cellular heterogeneity after exposure to UVB.

Key-words: 1. Pigmented nevi: Radioterapy; 2. Pigmented nevi: Patology; 3. Melanoma; 4. Cutaneous Malignancy; 5. Immunohistochemistry, 6. Ultraviolet therapy.

INTRODUCTION

The hypothesis that sun exposure is an important risk factor for skin cancer has been supported for over one century. (1) There has been an increase in the incidence of melanoma on a worldwide basis, especially in the last few decades, due to the greater exposure of the population to ultraviolet (UV) radiation. (2) Several epidemiological studies have confirmed this hypothesis during this period. (3, 4, 5) Animal studies have shown that UV radiation can act as a triggering mechanism or a promoting agent of different stages of development of melanocytic tumors. (6, 7) On the other hand, the presence of a large number of melanocytic nevi also indicates a higher risk for melanoma. (8, 9) Although most cases of melanoma are observed in areas with no previous lesions, the association of melanoma with benign nevocytic lesions in pathological studies could indicate a possible malignant transformation of nevus cells after some sort of stimulus, among which, the most important is perhaps the exposure to UV radiation. (10)

By considering this possibility, epidemiological studies have shown that intermittent actinic exposure may have a greater carcinogenic impact than long-term constant exposure, thus suggesting that perhaps some simple exposure in an adequate dose and time may stimulate tumor growth. (5, 11) Aside from their association with the development of an increased number of nevi, sunburns in childhood can be regarded as one of the independent risk factors for the incidence of melanomas. (12, 13). Therefore, one or a few exposures are enough to trigger off or promote melanocytic and immunosuppressive changes, causing genetic instability and mutations associated with the development of tumors. (14) Tronnier et

al. have shown that the exposure of melanocytic nevi to a standard dose of UVB radiation may induce clinical and pathological changes in morphology that simulate melanoma *in situ*, (15) which are dose-dependent and reversible within a few weeks. (16, 17) Immunohistochemistry with HMB-45 showed an increased expression of these changes in all nevi, indicating the activation of melanocytes and formation of melanosomes. (18). Later on, immunohistochemistry with HMB-45, p53, PCNA, Ki67 and KiS11 showed that the exposure of melanocytic nevi to UVB, in the same group, provokes morphological changes and a more evident increase of the proliferative and repair activity of melanocytes in intermittently exposed lesions than those which are chronically exposed. (19)

In addition to the clinical, pathological and immunohistochemical findings, dermatoscopy (epiluminescence microscopy, surface microscopy) is currently a routine method for semiotic assessment of the skin, showing good *in vivo* sensitivity and specificity for pigmented lesions. This method has allowed viewing morphological structures of pigmented lesions, not seen with the naked eye, correlated with specific histological characteristics. Using the specific criteria of the method, the melanocytic nevi were analyzed. After exposure to two MED, transient changes in the dermatoscopic appearance were observed, especially after seven days of exposure, being occasionally suggestive of melanoma or of malignant transformation. (20)

Based upon some of these studies, the effects of exposure of two MED of UV radiation were analyzed in melanocytic nevi after seven days, simultaneously considering the clinical, dermatoscopic, histopathological and immunohistochemical changes, through the HMB-45 antigen and protein S-100, also checking whether some of these changes can simulate the onset of malignant transformation. To date, no scientific study has grouped these four evaluation methods in order to investigate the effects of irradiated melanocytic nevi.

PATIENTS AND METHODS

Design: Clinical experimental study of the **before-and-after** type, in which each individual acts as his/her own control.

Subjects Studied

Patients were observed at the clinic of Pigmented Lesion of the Unit of Dermatology of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) between July 1999 and September 2001. The patients were referred after the study was approved by the Research and Ethics Committee of HCPA, widely advertised, and after the patients had conventional consultations at their respective outpatient clinics. The statistical analysis established that the sample should include 35 to 40 patients (Convenience sample).

Inclusion and Exclusion criteria

Both male and female patients with pigmented melanocytic lesions were included in the study. The lesions should not show any clinical or dermatoscopic evidence of malignancy and should have between 5 and 10 mm in diameter. All of the patients spontaneously agreed to have the lesions surgically removed. After that, they read and signed an informed consent form. The exclusion criteria were patients with pigmented nonmelanocytic lesions, or malignant melanocytic lesions, confirmed by clinical examination or dermatoscopy; bleeding lesions, secondary infection, lesions on the face or in pregnant women or in patients with photosensitive pathologies, using potentially photosensitizing topical or systemic drugs, with history of sun exposure in the last 30 days.

Equipment

4- UVB radiation source: Psora-Comb Dermalight 80 - (Dr. K. Hönle GmbH, Munich, Germany), consisting of two fluorescent lamps with a continuous spectrum and peak emission at 313 nm and intensity of $5.1 \times 10 \text{ W/cm}^2$ of UVB (320-280 nm) and $6.15 \times 10 \text{ W/cm}^2$ of UVA (400-329 nm) after 5 minutes of heating; the device is equipped with a rigid spacer, which keeps it at a fixed distance from the skin.

5- OLYMPUS OM 30 photoreflex camera, with an ASA 100 film, coupled to the Dermaphoto (Heine, Optotechnik, Germany), which allows a 10X magnification, with a dermatoscopy objective lens specific to this camera.

6- Radiometer - IL 1700 Research Radiometer (International Light Co - USA), calibrated at intervals of one month for the control of UVB emissions.

Development

1) Logistics:

After inclusion and exclusion criteria were met and after the clarification of the study objectives, the patient was referred for first consultation. During the first consultation, the patient received explanation about the objectives of the study, read and signed the informed consent form, if he or she agreed to participate. After that, the patient answered a standardized questionnaire and the dermatological exam was carried out in order to determine the patient's phototype (21) and to choose the pigmented lesion to be investigated. After this selection, clinical and dermatoscopic photographs of the lesion were taken and the first measurement of the Minimal Erythema Dose (MED) was made on the, infra-axillary region (15, 19). The area was covered with a black, lightproof piece of cloth with four openings of 1 cm² for fair-skinned patients and six openings for dark-skinned ones, through which a controlled dose of UVB was irradiated, obtained with Psora-Comb Dermalight 80, with preset timing for each phototype, ranging between 30 and 180 seconds and corresponding to UVB doses between 15 mJ/cm² and 91.8 mJ/cm² respectively, as measured by the radiometer in the UVB source (Figure 1).

In the second consultation, after 24 hrs, the MED was measured, represented by the area with the lowest degree of erythema within the four sides and angles of the square. The exposure time and dose was established by this opening. Half of the pigmented lesion was covered with a black tape and the other half was exposed to two determined MED value, (11, 15, 16, 17) using the same equipment used for the determination.

In the third consultation, a new clinical and dermatoscopic photograph was taken before the excision of the nevus. The specimen was referred for pathological analysis and

sectioned lengthwise to allow viewing both the nonirradiated and the irradiated part (histological section) in the same slide. The slides were stained with hematoxylin-eosin and processed for immunohistochemistry with HMB-45 antigens and protein S-100.

2) Immunohistochemistry

The preparation of the slides involved the deparaffination and hydration, endogenous peroxidase block with hydrogen peroxide at 5%, antigen retrieval, block of nonspecific reactions, incorporation of primary antibody with HMB45 (DAKO, Hamburg, Germany; 1:50) and protein S100 (Dako, Hamburg, Germany; 1:200), revelation, and counterstaining (PAP technique). (19)

3) Recording of alterations

All clinical and dermatoscopic photographs and the histological and immunohistochemical slides were analyzed by two dermatologists qualified in each of these techniques, according to the assessment items described in the literature. For the assessment of changes in each case, four different registry tools were employed. The analysis was conducted with a sequence of photographs in a different order, both for clinical and dermatoscopic evaluation, with an initial photograph taken previously to exposure to UVR radiation and another one taken seven days after, placed side by side. On histopathology, the existence or not of changes was based upon the nonirradiated part of the same nevus, due to the lack of typical parameters for the evaluation of each characteristic. The immunohistochemical characteristics were based on previous studies that used the same methodology. (19) In case of disagreement or doubt over some items, a third dermatologist or pathologist was heard, whose opinion was final for that specific item. The parameters considered for each approach were:

A) Clinical evaluation: Color, new color, margins, perilesional erythema, perilesional pigmentation and scaling. The new color or variation of color patterns included the following: black, brown, red, gray, and yellow, with lighter and darker hues. The margins were regarded as more or less defined, more or less shaded and with lighter or darker pigmentation.

B) Dermatoscopic evaluation: Neof ormation of pigment network, more or less defined, more or less regular, neof ormation or enlarged size of cells and black dots, more prominent pigmentation, more discreet, more or less regular, erythema, vessels, more abrupt or lighter margins; new hypopigmented areas, larger or with more or less regular forms.

C) Pathological evaluation: Melanocytic hyperplasia, enlarged nucleus and cytoplasm of melanocytes, cellular atypia, epidermal atrophy, parakeratosis, hyperplasia of keratinocytes, basal layer hyperpigmentation, inflammatory infiltrate, fusion of cones and lamellar fibroplasia. In this case, only the presence or absence of the structure considered was assessed, based on the opposite and nonirradiated side.

D) Immunohistochemical evaluation: The irradiated and nonirradiated sides were evaluated and, depending on the number of positive cells in the basal layer in a field of X400. The assessment for both HMB-45 and S-100 was based on the number of crosses. One cross (+) stood for presence of 1 to 5% of positive cells, two crosses (++) from 5 to 10%, three crosses (+++) from 10 to 50% of positive cells and four crosses (++++) for more than 50% of positive cells or no cross if less than 1% of positive cells.

Statistical analysis

The statistical analysis followed the patterns of previous studies that used a similar methodology. (19,20) For each analyzed and previously mentioned characteristic in the clinical and dermatoscopic evaluation, the analysis was carried out with the Wilcoxon T test, comparing the irradiated with the nonirradiated part. For this analysis, all characteristics that presented some change, without considering its level, were considered. The analysis was performed in the SPSS (Statistical Package for the Social Science) program. Those characteristics whose p value was lower than 0.05 were considered to be statistically significant.

On histopathology, only the simple frequency of changes was considered.

On immunohistochemistry, the median of the values was determined in crosses for the irradiated and nonirradiated groups, independently for HMB-45 and S-100.

In all forms of evaluation described, the results were separated into five different groups, one general and four of them depending on the histopathological type: compound, intradermal, junctional and the combination of compound and junctional nevi.

Ethical Considerations

The study was approved by the Research Ethics Committee of Hospital de Clínicas de Porto Alegre, under number 98191, characterized as having a risk greater than the minimum. All participants signed a consent form after receiving the necessary instructions.

RESULTS

A total of 40 pigmented lesions were initially selected from 34 patients. Two patients abandoned the study, and were therefore removed from the final data analysis. Two cases were excluded only from clinical and dermatoscopic evaluation due to technical problems regarding the photographs.

Among the 38 nevi that were assessed, 12 were of the intradermal type, 20 of the compound type and 6 of them were of the junctional type. Regarding the patient population, 36% were males. The mean age was 25 years, 21 years for the intradermal nevi, 29 for the compound type and 31 for the junctional nevi.

Some characteristics of the pigmented lesions and the patients are summarized in Table 1. Among these characteristics, we have the following:

- 4) Phototypes 2 and 3 were the most common. This distribution was similar among the different histopathological types of nevi.
- 5) Among the analyzed patients, MED ranged between 15.3 and 61.2 mJ/cm², with a greater number of patients with a MED of 45.9mJ/cm²
- 6) The majority of nevi was found on the dorsal region (back). Most of them were of the compound type (n=20).
- 7) 47% of the patients had noticed some changes prior to the study, especially concerning the intradermal type (75%). The main reported changes were: growth (18 cases) and previous bleeding (2 cases).

- 8) 44% of the patients of the study and 75% of the patients with intradermal nevi said that their nevi were congenital.
- 9) Family history of malignant skin melanoma was observed in 18% of the patients. Two cases presenting junctional nevi (5.3%) had personal history of skin cancer. One case had personal history of melanoma and another of basal cell carcinoma.

CLINICAL CHANGES

Thirty-six cases were considered for this analysis. For these changes and for the other ones detected by different methods, the discrepancy in terms of statistical significance of the general form and between the different histopathological types was analyzed (Table 2). Since the final number of junctional nevi was much lower than the other types, the sum of changes related to junctional and compound nevi was also included, as the latter present melanocytes at dermo-epidermal junction.

The “**darker red color**” (P=0.02) was the most significant “**new color**” characteristic in the general classification, and in the sum of changes of the compound and junctional type, especially due to the larger presence of compound nevi. Another change such as less clearly defined margin (P=0.04), follows the same trend, that is, it is more common in compound nevi.

Other clinical changes with statistical significance that arose after UVB irradiation were **perilesional erythema** (P=0.002), **perilesional pigmentation** (P=0.02) and **scaling** (P=0.016) in the general score, influenced both by compound and intradermal nevi (Figures 2, 3, and 4). Some characteristics such as **darker melanin color** and **lighter red color** were more often observed in the nonirradiated than in the irradiated part. Halo formation was observed in two cases (Figure 2).

DERMATOSCOPIC CHANGES

Thirty-six cases were considered for this analysis. The statistically significant dermatoscopic changes included: **less distinct pigment network** (P=0.02), **less regular pigment network** (P=0.006), **more prominent pigmentation** (P=0.005), **erythema** (P=0.0007), **more abrupt margin** (P=0.01) and **more prominent vessels** (P=0.04), in the

general classification (Table 3). Some of these characteristics were statistically significant in junctional nevi only or compound nevi only or still in the sum of both nevi. The existence of **neof ormation** ($P=0.04$) or **increase in size of the globules** ($P=0.04$) was solely observed in compound nevi (Figs. 5, 6, and 7).

Other observed changes, not statistically significant were: **reduced size of the globules, black dots** and **hypopigmented areas**.

HISTOPATHOLOGICAL CHANGES

Thirty-eight cases were considered for this analysis. The most common histopathological changes, in order of frequency, were (Table 4): **parakeratosis, melanocytic and keratinocytic hyperplasia, enlarged nucleus and cytoplasm of melanocytes, fusion of rete ridges, cellular atypia, inflammatory infiltrate, lamellar fibroplasia, hyperpigmentation of the basal layer** and **epidermal atrophy**, with individual variations depending on the histological type. The highest incidence of cellular atypia was found in compound nevi (Figures 8, 9, 10, 11, and 12). Except for the inflammatory infiltrate, the deepest portion of the skin did not show significant changes between the irradiated and the nonirradiated sides. The cases in which there were changes in the shielded part were not computed. Therefore, in several cases, the differences between the irradiated and nonirradiated sides were not so sharp.

Other less common changes were apoptosis, lentiginous hyperplasia, presence of giant cells, formation of proliferative nests, cicatricial fibrosis and one case with regression and penetration into the hair follicle.

IMMUNOHISTOCHEMICAL CHANGES

Thirty-eight cases were considered for this analysis. The values expressed in crosses, by determination of their median, were practically the same between the different types of nevi, both for the HMB-45 antigen and protein S-100, despite a slight difference in the junctional type (Table 6).

For HMB-45, in the final evaluation, and also for the compound and junctional types, the median on the irradiated part was four crosses (more than 50% of positive cells) and

three crosses for the intradermal type (between 10 and 50% of positive cells). On the nonirradiated part, except for the junctional type, one cross prevailed (up to 5% of positive cells). 30% of the cases showed presence of dendrites (Figure 13).

For protein S-100, in the general evaluation and of all the histopathological types, there were also four crosses on the irradiated part. On the nonirradiated part (Figure 14), three crosses were present.

DISCUSSION

The most common clinical changes, with statistical significance, were: erythema and perilesional pigmentation, and scaling. Since these changes are less subtle and more easily detected, they are most frequently observed in studies. (22) The major effects of UVB radiation, with histopathological significance represented by inflammation, are respectively pigmentation and thickening of the skin.

Erythema is considered a late event after exposure to UVB and represents a reflectance device of the underlying vasodilation, which can be identified between one and six hours postirradiation. (21) Depending on the dose, type of skin and site, this change will have its highest intensity within 24 hours, fading within three days, but possibly persisting for a longer period in older individuals or in those with DNA repair defect. (23) The stimulus originates as a direct response to the damage inflicted upon the cellular DNA of keratinocytes. (21)

Pigmentation or tanning, also regarded as a late effect of UVB exposure, usually after 72 hours, represents the melanocytic synthesis of melanin or melanogenesis, whose response is a dose-dependent photoprotective effect. Some evidence shows that this stimulus occurs in response to a possible damage to the cellular DNA of keratinocytes, mediated by factors such as the MSH (melanocyte stimulating hormone), which enhances tyrosinase activity. (23)

Proportional to the level of UVB-induced damage, scaling represents clinically the thickening of the epidermis and dermis due to an increase in mitosis and hyperplasia, which

starts between 24 and 48 hours and becomes evident within one to three weeks after exposure. (23) Its triggering mechanism has not been clearly established yet.

The other changes, such as darker red pigmentation or poorly defined margin, are in agreement with some of the findings made by Hofmann-Wellenhof et al., (20) who used a similar methodology, with evidence of such changes after the third day of exposure. As the red color represents one of the variations in melanin colors, it may have turned darker due to an increased production of melanin. Also, the erythema around the nevus represented by underlying vasodilation may also affect the nevus, thus having a direct influence on color changes. Erythema and scaling might also have caused the margin to be less clearly defined, due to an increase in the local blood flow and induction of the inflammatory infiltrate stimulated by or prostaglandins and by DNA damage. (26)

Most changes showed mild intensity. This is probably due to the optical limits of visual inspection, as the one observed in the present study. Currently, most studies that use image comparison, use digital equipment and, consequently, have higher sensitivity and differentiated parameters in relation to conventional evaluation methods.

It is important to underscore that conventional dermatoscopic photography is the method that most closely resembles the evaluation by means of hand-held dermatoscopes, with limits of magnification and resolution of images, if compared to digital imaging. The dermatoscopic changes were: less distinct pigment network, more intense pigmentation, more prominent margin, especially in junctional nevi, neoformation and increase of globules in compound nevi, erythema and more prominent vessels.

Changes such as more prominent and larger pigment network, increased pigmentation, different-sized black dots with irregular and peripheral distribution and peripheral depigmentation have a strong correlation with the activation of the mechanism for melanin synthesis by melanocytes and induction of local inflammatory infiltrate, compatible with histopathological findings, as in those studies on nevi removed in summertime, compared to nevi removed in the winter. (26, 27) These findings are directly related to the dermal penetration depth of UVB beams and the anatomical location of melanocytes in these

types of nevi. Although a different methodology was used, these results differ from our findings, including a less distinct, regular pigment network and black dots with no significant changes, after UVB irradiation. Hofmann-Wellenhof et al. have studied patients on phototherapy, by using suberythemalous doses in melanocytic nevi, and observed similar effects, with increased pigmentation, increase in globules and enlargement of the pigment network, giving the nevus a more irregular aspect. (28) Stanganelli et al. have observed the critical effects of intense sun exposure on the expression of dermatoscopic findings of melanocytic nevi, showing a larger number of black dots, globules after exposure and enlarged pigment network after 5 to 13 days of exposure, which persisted for up to six weeks thereafter. In four lesions, they observed dermatoscopic changes that were characteristic of melanomas. (29) Findings such as more prominent pigmentation, neoformation, and increase in globule size and more abrupt margin are cited by some authors as suggestive signs of malignancy. (30, 31)

Analyzing these changes separately, their clinical relevance can more easily be understood. The pigment network that represents the presence of melanin in epidermal cells corresponds to the distribution of this pigment in the dermal papillae. (30) Soyer views the presence of the pigment network in junctional nevi as the pigmentation and elongation of dermal papillae, with an increase in the number of melanocytes in the basal layer. (31) Likely, all the process that affects the dermal-epidermal junction can cause some change in the pigment network. In the present study, we observed that the pigment network was less distinct, which could be interpreted as depigmentation. Depigmentation of the pigment network may represent a probable immunological reaction against nevus cells, responsible for the loss of structure of the pigment network. Under different conditions, the depigmentation may be interpreted as a marker of atypia, as well as irregularity of the pigment network, (32) which can be less evident at the initial stages of tumor growth, probably resulting from the low number or discontinuity of cellular atypia or when the melanoma is associated with a preexisting nevus. (31) Kenet et al. regard the presence of an irregular pigment network, among other findings, as one of the most sensitive findings that

could help with the diagnosis of severe melanocytic atypias, but less specific than pseudopods, radial growth, peripheral black dots and whitish veil (33). These authors also state that the findings represent an architectural disorder, associated with variations of the nests of junctional nevus cells or with the pagetoid growth of melanocytes. (33)

The globules represent the presence of melanocyte nests at the dermal-epidermal junction or in the papillary dermis. Argenziano et al. have detected globules in approximately 78% of the melanomas with superficial spreading. (34) Menzies et al. have found a specificity of 85% regarding the presence of globules in melanomas. (35) This characteristic, for some authors, represents low specificity for melanoma, since it is frequently present in benign nevi, but should be regarded as an indicative sign of melanocytic atypia, especially if it has an irregular shape and size. (33, 36, 37)

The presence of dark pigmentation (35) and abrupt margins are far more common in dysplastic lesions and in melanomas than in pigmented nevi. (38) Probably, a darker pigmentation initially represents the activation of the melanin synthesis mechanism and, later on, the proliferation of melanocytes, provided the stimulus is maintained. (22) In this case, the stimulus is represented by ultraviolet B radiation whose penetration occurs up to the junctional level, perhaps explaining its increased significance in compound nevi. This stimulus explains the presence of a characteristically more abrupt margin in almost all the junctional nevi analyzed. This dermatoscopic finding may represent, in some cases, overlapping characteristics, such as darker pigmentation, radial growth, irregular pigment network, black dots, and globules, which may translate into increased sensitivity for the diagnosis of melanocytic atypia and melanomas in the peripheral region of a nevus. (35)

The presence of more visible vessels may be related to the detection of erythema or neovascularization. Albeit nonspecific, a vascular pattern of various aspects, such as telangiectasias or the presence of more vessels, was also observed in regression areas with melanomas or in basal cell carcinomas, (32, 33) with an estimated sensitivity of 57% and a specificity of 83%. (33) The erythema refers to the presence of capillary vasodilation in

dermal papillae and means high sensitivity with low specificity for the diagnosis of melanoma or severe atypia. (33)

We may conclude that the dermatoscopic findings in melanocytic nevi after exposure to two MED of UVB are related to the increased production of melanin by melanocytes that affect the findings on the pigment network, general pigmentation, margins and globules and, which by inflammation, also alter vessels producing erythema. These manifestations are triggered as a defense mechanism against UV radiation effects. Although, in most cases, the aspect of nevi does not suffer remarkable changes, the joint presence of some of these changes, in some pigmented lesions, may acquire a clinical or dermatoscopic aspect that resembles or even simulates malignant transformation of a melanocytic lesion, malignant lentigo or melanoma *in situ* or lesions that already show a certain level of malignancy, even while transient. (20) It is important that the dermatoscopic criteria for the diagnosis of pigmented lesions exposed to UV radiation are carefully analyzed or specific diagnostic parameters be created for this situation. (19) Most authors recommend a new assessment of the lesion after 30 days of exposure. (20, 28)

According to the total frequency of lesion development, we can categorize histopathological changes into three groups: 1 – Group with highly frequent characteristics such as hyperplasia of keratinocytes and melanocytes, parakeratosis, enlarged nucleus and cytoplasm; 2 – group with intermediately frequent characteristics such as inflammatory infiltrate, fusion of rete ridges cones, and lamellar fibroplasia; 3 - group with less frequent characteristics such as cellular atypia, epidermal atrophy, and hyperpigmentation of the basal layer, (Table 4). It should be investigated whether the dose of UVB radiation or the time at which the less frequent changes are observed, are sufficient for their manifestation.

Tronnier et al. stated that a single episode of irradiation with UVB radiation could cause morphological changes in melanocytic nevi, in some cases difficult to differentiate from melanomas *in situ*, due to the increased number of suprabasal melanocytes, enlarged nucleus and cytoplasm of melanocytes, and mild inflammatory infiltrate. (16) The increased number of melanocytes above the dermal-epidermal junction is one of the major criteria for

the diagnosis of melanoma *in situ*, according to Lever. (39) In a study of nevi removed two to four weeks postirradiation, no significant differences were observed regarding the location and number of intraepidermal melanocytes and nevus cells between the irradiated and the nonirradiated sides, thus indicating that such changes are reversible (16). Most importantly, they characterize the nevi after UV irradiation usually within seven days, along with recurrent and genital nevi and congenital nevi, in a group best known as melanoma “simulators.” In “nonsimulators”, a significant number of cells with cellular atypia and polymorphism is not observed, in contrast to some cases of nevi simulating melanoma. (15) In the present study, although atypia was not a much frequent characteristic in the final counting, with no severe cases, it was detected in 50% of the cases of compound nevi (Table 5). Even though compound nevi were found in a higher number, when comparing the presence of atypia in intradermal nevi (16.6%), the influence of UVB radiation is observed, through its has low penetration into the dermis (500 μ m), and affecting epidermal melanocytes more frequently than the melanocytes in the papillary dermis.

The cellular activation that occurs after UV exposure also results in enlargement of the nucleus and cytoplasm on the irradiated part, a phenomenon that is widely known and shown in previous studies. (40) These changes are ultrastructural, as those demonstrated by Tronnier et al. by electronic microscopy, showing melanocytes with several melanosomes at different stages, located around the enlarged nucleus, indicating an active production of melanosomes. (15) In addition to the increased number of melanosomes, these authors also observed polymorphism of melanosomes, as previously described for PUVA lentigines (41).

The key to an accurate differential diagnosis seems to be parakeratosis, usually found above the corneal layer and hyperkeratosis, which is observed in several cases of UVB-exposed melanocytic nevi. Both result from hyperplasia, which occurs in the dermis, epidermis and in the *stratum corneum* after exposure. This process starts 24 to 48 hours after acute irradiation of UVB associated with an increase in the synthesis of DNA, RNA and proteins, usually persisting for up to 6 weeks. As a result, we may have thickening of the dermis and epidermis could be twice as big as the one normally expected. Furthermore, a

superficial inflammatory infiltrate also indicates some exogenous aggression against the lesion. (23)

Other changes analyzed in our study, such as fusion of rete ridges and lamellar fibroplasia, poorly described in other studies with similar methodology, were present in several cases, although in a low intensity. These changes can be characteristic and indicative of lesions with in-progress atypia or atypia already firmly established, and could be precursors of melanomas. (39)

In the present study, some cases, especially of compound nevi, observed most of the changes described above (Table 5). These cases are more likely to become “melanoma simulators.” The presence of mild melanocytic atypia, as described in some situations, could perhaps be some sort of initial indicative sign of a process of tumor development, having UVB aggression as its origin. Although most studies indicate a total reversion of these changes after 30 days, (15, 16, 20), it is difficult to know whether atypia can persist after 7 or 30 days of exposure in the present cases. Possibly, the usual response to UV radiation in nevi will not develop into a permanent change in cellular DNA and the genetic events that lead to malignant transformation, in some cases, are rare. (42) Maybe, a greater dose of UV radiation or more exposure episodes, after a longer waiting period, would be necessary before an event that could cause tumor development is triggered. Therefore, it is essential to have the clinical history of the patient regarding the exposure of the lesion to UV radiation in the last 30 days, in order to make the definitive diagnosis in terms of histopathology.

In pigmented lesions assessed by immunohistochemistry, the results graded in crosses showed to be quite regular, both in terms of the irradiated and nonirradiated sides, for HMB45 and S100, in different types of nevi.

The HMB-45 antigen was initially introduced as a specific marker of melanoma. (43) Later studies showed that it represents an oncofetal glycoconjugate associated with immature melanosomes (44) and a marker of melanocytic activation, (45) with dendrites that increase in number and size, formerly detected only by electronic microscopy. The enhanced melanocytic activity demonstrated by the HMB-45 has already been investigated in different

types of benign and malignant melanocytic lesions. (16) The results obtained through this study, which revealed an increase in the expression of HMB-45 on the exposed part, seem to be directly related to the formation of melanosomes. Tronnier et al., in addition to HMB-45, have used the same methodology and found an increased expression of KI-67, Topoisomerase II α , PCNA, p53 and p21, concluding that ultraviolet radiation activates inhibitors of the cellular cycle, thus allowing for cellular DNA repair, in addition to stimulating the proliferative activity of melanocytes in melanocytic lesions. (18) None of these studies used protein S100.

S100 is a thermolabile, calcium-carrying protein with low molecular weight. Its expression can be observed in various neuroectodermal, mesodermal and ectodermal tissues. (46, 47) This protein activates enzymes or acts as a protein modulator, and participates in several processes of cellular cycle evolution and cellular differentiation. In immunohistochemistry, it is routinely used as a sensitive but nonspecific marker of melanocytic lesions. (46, 48)

A slighter difference was seen between the results obtained through protein S100, when comparing the irradiated part (four crosses) and the nonirradiated part (three crosses). These results seem to show that protein S100 is not an ideal marker of melanocytic cellular activity by ultraviolet radiation, as HMB45 is, in the dose and at the observation time used. Studies have already shown that HMB45 proved more efficient in the detection of tumoral cellular heterogeneity than S100, since it is more specific to melanocytes of the nevus and it does not present cross-reaction with sarcomas, carcinomas or lymphomas. (49)

The observation of the four approaches used to evaluate the nevi revealed changes on the nonirradiated part, which somehow might have influenced the results on the irradiated part, appearing in approximate, equal or greater number, and changing the statistical significance of some characteristics in different histopathological types of nevi. In clinical evaluation (Table 2), for instance, **darker melanin**, and **lighter pigmentation** was founded while in dermatoscopy (Table 3) **more discreet pigmentation**, and **larger hypopigmented areas** well illustrate these findings.

This type of change has been investigated for many years and an explanation for its occurrence (23, 50) as well as an explanation for the occurrence of dysplastic nevi or melanomas in UVB-protected areas, has been sought. Some theories have been proposed, as presented below:

1 – Probably these changes are related to an increased mitotic activity, without an apparent increase in the amount of melanin in the epidermis. The changes may originate from a possible mitosis-stimulating factor on the irradiated part, (51) perhaps a substance that could control the balance of melanocyte population in the whole body surface, thus preparing the skin for future exposure to UV radiation. (52)

2 – The number of melanocytes can be controlled by an inhibitory system found in the dendrites of melanocytes, with an intricate mechanism, regulate the population of cells, determined by the balance between inhibitory and stimulating factors. (52)

3 – Despite the precautions adopted for protection of the irradiated part, and although no study shows evidence of this relationship, the influence of local mechanical stimulation, light penetration and other variables could be possible.

CONCLUSIONS

The analysis of a sample of melanocytic nevi seven days after the effects of ultraviolet B radiation showed that:

1) The most common clinical changes were: darker red color, poorly defined margins, perilesional erythema, perilesional pigmentation, and scaling.

2) The dermatoscopic changes included: less distinct and less regular pigment network, more prominent diffuse pigmentation, neof ormation and increased globules, more abrupt margin, erythema and more prominent vessels.

3) The most common histopathological characteristics were: melanocytic hyperplasia, parakeratosis, hyperplasia of keratinocytes, enlarged nucleus and cytoplasm.

4) Immunohistochemistry showed that the expression of the HMB45 antigen is high on the irradiated site and more intense than that of protein S-100.

5) The observation of changes also on the shielded part may result from the presence of an activator of melanocytes, originated on the irradiated part.

6) Some changes such as increased pigmentation in the clinical examination; less distinct and regular pigment network, more prominent margin and neoformation of globules at dermatoscopy; presence of cellular atypia, enlarged nucleus and cytoplasm, fusion of cones and lamellar fibroplasia at histopathology; and increased expression of HMB-45 at immunohistochemistry are similar to those found in malignant lentigines and in melanomas *in situ*.

REFERENCES

1-RHODES AR, WEINSTOCK MA, FITZPATRICK TB, MIHM MC, SOBER AJ. Risk factors for cutaneous melanoma - A practical method of recognizing predisposed individuals. *JAMA* 1987; 258(21): 3146-3153.

2-KOH HK. Cutaneous melanoma. *N Engl J Med* 1991; 325: 171-182.

3-KOPF AW, ABADIR MC, MAEGHOOB AA. Case-control study of melanocytic nevi on the buttocks in atypical mole syndrome: Role of solar radiation in the pathogenesis of atypical moles. *J Am Acad Dermatol* 1995; 33(1): 31-6.

4-HOUGHTON AN, VIOLA MV. Solar radiation and malignant melanoma of the skin. *J Am Acad Dermatol* 1981; 5(4): 477-483.

5-KOPF AW, KRIPKE ML, STERN RS. Sun and malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1984; 11(4): 674-684.

6-ROSDAHL IK, SZABÓ G. Mitotic activity of epidermal melanocytes in UV-irradiated mouse skin. *J Invest Dermatol* 1978; 70(3): 143-8.

7-NORDLUND JJ, ACKLES AE, TRAYNOR FF. The proliferative and toxic effects of ultraviolet light and inflammation on epidermal pigment cells. *J Invest Dermatol* 1981; 77(4): 361-8.

8-SKENDER-KALNENAS TM, ENGLISH DR, HEENAN PJ. Benign melanocytic lesions: Risk markers or precursors of cutaneous melanoma? *J Am Acad Dermatol* 1995; 33(6): 1000-7.

9-GARBE C, BÜTTNER P, SOYER HP. Risk factors for developing cutaneous melanoma and criteria for identifying persons at risk: Multicenter melanoma registry of the German Dermatological Society. *J Invest Dermatol* 1994; 102(5): 695-9.

10-RHODES AR, HARRIST TJ, DAY CL. Dysplastic melanocytic nevi in association with 234 primary cutaneous melanomas. *J Am Acad Dermatol* 1983; 9: 563-574.

11-STIERNER U. Melanocytes, moles and melanoma: a study on UV effects. *Acta Derm Venereol Suppl* 1991; 168: 1-31.

12-KELLY JW, RIVERS JK, MACLENNAN R, HARRISON S, LEWIS AE, TATE BJ. Sunlight: a major factor associated with the development of melanocytic nevi in Australian schoolchildren. *J Am Acad Dermatol* 1994; 30(1): 40-8.

13 - BAKOS I, WAGNER M, BAKOS RM, LEITE CSM, SPERHACKE CL, DZEKANIAK KS, GLEISNER ALM. Sunburn, sunscreens, and phenotypes: some risk factors for cutaneous melanoma in southern Brazil. *Int J Dermatol* 2002; 41(9): 557-562.

14 - HELDER DE. Human melanocytic neoplasms and their relationship with sunlight. *J Invest Dermatol* 1989; 92(5): 297S-303S.

15 -TRONNIER M, WOLFF HH. UV-irradiated melanocytic nevi simulating melanoma in situ. *Am J Dermatopathol* 1995; 17: 1-6.

16 -TRONNIER M, SMOLLE J, WOLFF HH. Ultraviolet irradiation induces acute changes in melanocytic nevi. *J Invest Dermatol* 1995; 104: 475-8.

17 -TRONNIER M, RUDOLPH P, KOSER T. A single erythemogenic UV-irradiation is more effective in enhancing the proliferative activity of melanocytes in melanocytic nevi compared to fractionally applied high doses. *J invest Dermatol* 1996 (abstr); 107: 460.

18 -TRONNIER M, ALEXANDER M, WOLFF HH. Adhesion molecule expression in normal skin and melanocytic lesions. *J Cutan Pathol* 1997; 24: 278-285.

19 -TRONNIER M, RUDOLPH P, MENZEL R. Enhanced expression of Ki-67, topoisomerase II α , PCNA, p53 and p21. Reflecting proliferation and repair activity in UV-irradiated melanocytic nevi. *Human Pathol* 1998; 29(12): 1480-7.

20 -HOFMANN-WELLENHOF R, SOYER P, WOLF IH, WOLF P. Ultraviolet radiation of melanocytic nevi. A dermoscopic study. *Arch Dermatol* 1998; 134: 845-850.

21 - PATHAK MA, NGHIEM P, FITZPATRICK TB. Acute and chronic effects of the sun. In: FREEDBERG IM, EISEN AZ, WOLFF K. (eds). *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. 5th Ed. New York, Mc-Graw Hill, 1999, cap. 138, p. 1598-1606.

22 -PARRISH JA, JAENICKE KF, ANDERSON RR. Erythema and melanogenesis action spectrum of normal human skin. *Photochem Photobiol* 1982; 36: 187-91.

23 -MURPHY GM. The acute effects of ultraviolet radiation on the skin In: HAWK JLM. *Photodermatology*. 1st ed. London, Arnold, 1999. Cap. 4, p. 43-52.

24 -ELLER MS, OSTROM K, GILCHREST BA. DNA damage enhances melanogenesis. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* 1996; 93: 1087-92 In: HAWK JLM. *Photodermatology*. 1st ed. London, Arnold, 1999 Cap. 4, p. 43-52.

25 -NAYLOR MF. Erythema, skin cancer and sunscreens. *Arch Dermatol* 1997; 133: 373-5.

26 -LAESEN TE, MOGENSEN SB, HOLME I. Seasonal variations of pigmented naevi: intercorrelations of clinical and histological variables with special reference to seasonal variation. *Acta Dermatol Venereol* 1990; 70:115-120.

27 -STANGANELLI I, RAFANELLI S, BUCCHI L. Seasonal prevalence of digital epiluminescence microscopy patterns of acquired melanocytic nevi. *J Am Acad Dermatol* 1996; 34: 460-4.

28 -HOFMANN-WELLENHOFF R, WOLF P, SOYER HP. Influence of UVB therapy on the dermatoscopic features of acquired melanocytic nevi. *Am J Acad Dermatol* 1997; 37: 559-563.

29 -STANGANELLI I, BUCCHI L. Critical effects of intense sun exposure on the expression of epiluminescence microscopy features of melanocytic nevi. *Arch Dermatol* 1997; 133: 979-982.

30 -YADAV S, VOSSAERT KA, KOPF AW. Histopathologic correlates of structures seen on dermoscopy (Epiluminescence Microscopy). *Am J Dermatopathol* 1998; 14(4): 297-305.

31 -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: 1-10.

32 -SOYER HP, SMOLLE J, LEITINGER G. Diagnostic reliability of dermoscopic criteria for detecting malignant melanoma. *Dermatology* 1995; 190: 25-30.

- 33 -KENET R, FITZPATRICK TB, SOBER AJ. Clinical diagnosis of pigmented lesions using digital epiluminescence microscopy: grading protocol and atlas. *Arch Dermatol* 1993; 129: 157-174.
- 34 -ARGENZIANO Z, FABBROCINI G, CARLI P, GIORGI V, DELFINO M. Epiluminescence microscopy: criteria of melanoma progression. *J Am Acad Dermatol* 1997; 37: 68-74.
- 35 -MENZIES SW, INGVAR C, CROTTY KA, McCARTHY WH. Frequency and morphologic characteristics of invasive melanomas lacking specific surface microscopic features. *Arch Dermatol* 1995; 132: 1178-82.
- 36 -STEINER A, BINDER M, WOLFF K. Statistical evaluation of epiluminescence microscopy criteria for melanocytic-pigmented skin lesions. *J Am Acad Dermatol* 1993; 29: 581-8.
- 37 -GUILLOD JF, SKARIA MA, SALOMON D, SAURAT JH. Epiluminescence videomicroscopy: black dots and brown globules revisited by stripping the stratum corneum. *J Am Acad Dermatol* 1997; 36: 371-7.
- 38 -NILLES M, BOEDEKER RH, SCHILL WB. Surface microscopy of naevi and melanomas: clues to melanoma. *Br J Dermatol* 1994; 130: 349-355.
- 39 -ELDER D, IOFFREDA M, MILLER JJ, ELENITSAS R, JOHNSON B MILLER OF In: Synopsis and Atlas of Lever's Histopathology of the Skin. 1st Ed Brazil: Manole Editora; 2001. p. 15-62.
- 40 -FRIEDMAN OS, GILCCHREST BA. Ultraviolet radiation directly induces pigment production by cultured human melanocytes. *J Cell Physiol* 1987; 133: 88-94.
- 41 -NAKAGAWA H, RHODES AR, MONTAZ TK, FITZPATRICK TB. Morphologic alterations of epidermal melanocytes and melanosomes in PUVA lentigines: a comparative ultrastructural investigation of lentigines induced by PUVA and sunlight. *J Invest Dermatol* 1984; 82: 101-7.
- 42 -BÖNI R, MATT D, TRONNIER M. Ultraviolet-induced acute histological changes in irradiated nevi are not associated with allelic loss. *Arch Dermatol* 1998; 134: 853-6.

43 -GOWN AM, VOGEL AM, HOAK DH. Monoclonal antibodies specific for melanocytic tumors distinguish subpopulations of melanocytes. *Am J Pathol* 1986; 123: 195-203.

44 -KAPUR RP, BIGLER AS, SKELLY M, GOWN AM. Anti-melanoma antibody HMB45 identifies an oncofetal glycoconjugate associated with immature melanosomes. *J Histochem Cytochem* 1992; 40: 207-212.

45 -SKELTON HG III, SMITH KJ, BARRET TL, LUPTON GP, GRAHAN JH. HMB-45 staining in benign and malignant melanocytic lesions. *Am J Dermatopathol* 1991; 13: 543-550.

46 -BROCHEZ L, NAEYAERT JM. Serological markers for melanoma. *Br J Dermatol* 2000; 143: 256-268.

47 -JÄCKELI A, DEICHMAN M, WALDMANN V. S-100 β protein in serum, a tumor marker in malignant melanoma-current state of knowledge and clinical experiences. *Hautartz* 1999; 50: 250-6.

48 -SCHÄFER BW, HEIZMANN CW. The S100 family of EF-hand calcium-binding proteins: functions and pathology. *TIBS* 1996; 21: 134-40.

49 -DURAY PH, PALAZZO J, GOWN AM, OHUCHI N. Melanoma cell heterogeneity. A study of two monoclonal antibodies compared with S-100 protein in paraffin sections. *Cancer* 1988; 61: 2460-8.

50 -QUEVEDO WC, SZABÓ G, VIRKS J, SINESI SJ. Melanocyte populations in UV-irradiated human skin. *J Invest Dermatol* 1965; 45: 295-8.

51 - STIERNER U, ROSDAHL I, AUGUSTSSON A, KAGEDAL B. UVB irradiation induces melanocyte increase in both exposed and shielded human skin. *J Invest Dermatol* 1989; 92: 561-4.

52 - ROSDAHL IK. Local and systemic effects on the epidermal melanocyte population in UV-irradiated mouse skin. *J Invest Dermatol* 1979; 73: 306-9.

ANNEXE 1

ANNEXE 1 – FIGURES AND TABLES

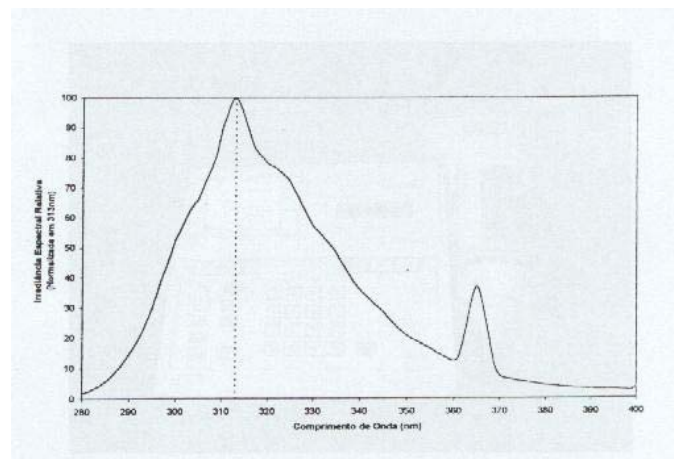


Figure 1 – Spectral irradiation curve relative to the UVB source.

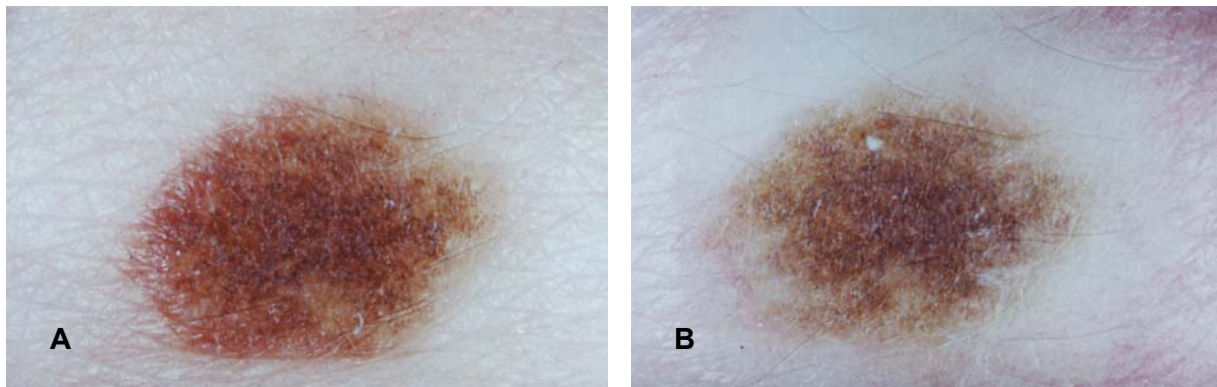


Figure 2 – Compound melanocytic nevi. A. Initial clinical image. B. Clinical image after seven days of exposure with two MED. Observe the poorly defined margin, with apparent halo formation around the whole nevus. Notice the presence of scaling and erythema on the right of the irradiated part.

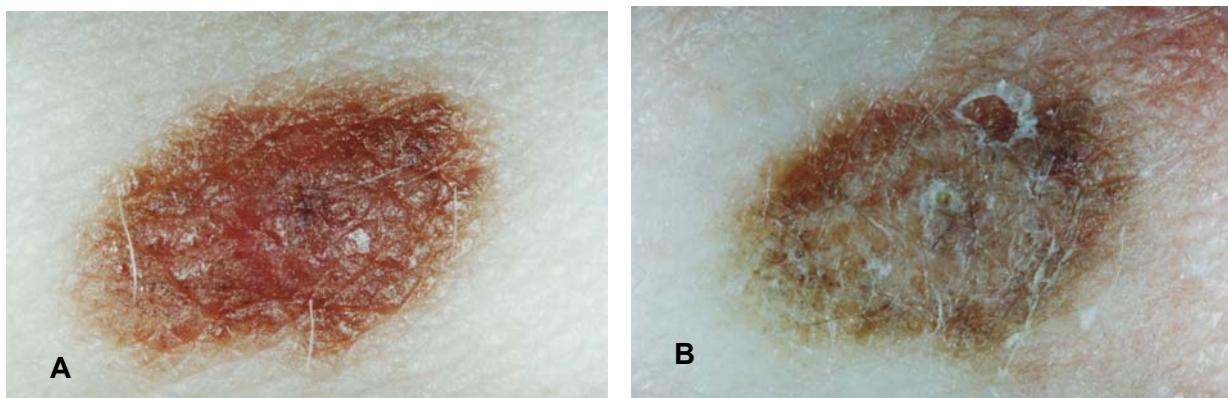


Figure 3 – Junctional melanocytic nevi. A. Initial clinical image. B. Clinical image after seven days of exposure with two MED. Observe the poorly defined margin, exfoliation and erythema on the right side of the irradiated part. Notice the color variation of the nevus

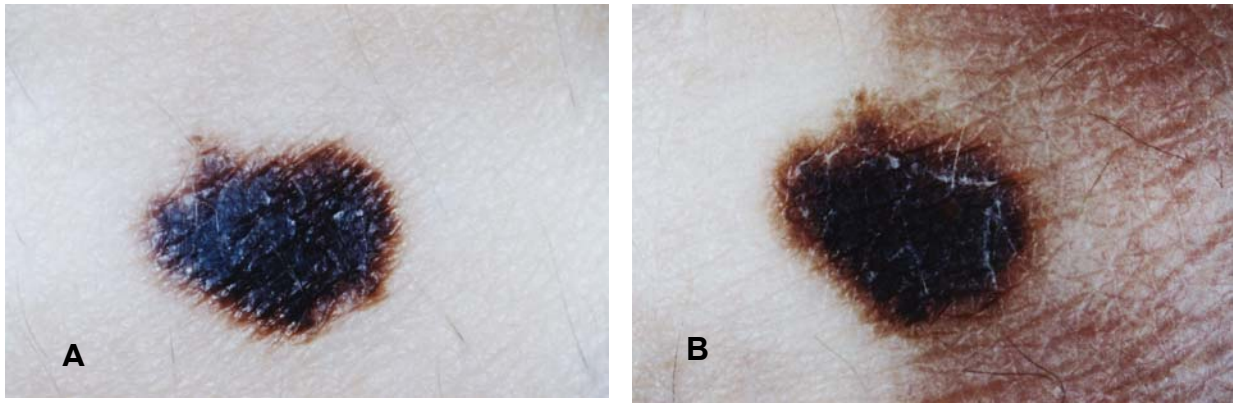


Figure 4 – Junctional melanocytic nevus. A. Initial clinical image. B. Clinical image after seven days of exposure with two MED. Observe the perilesional pigmentation on the irradiated part.

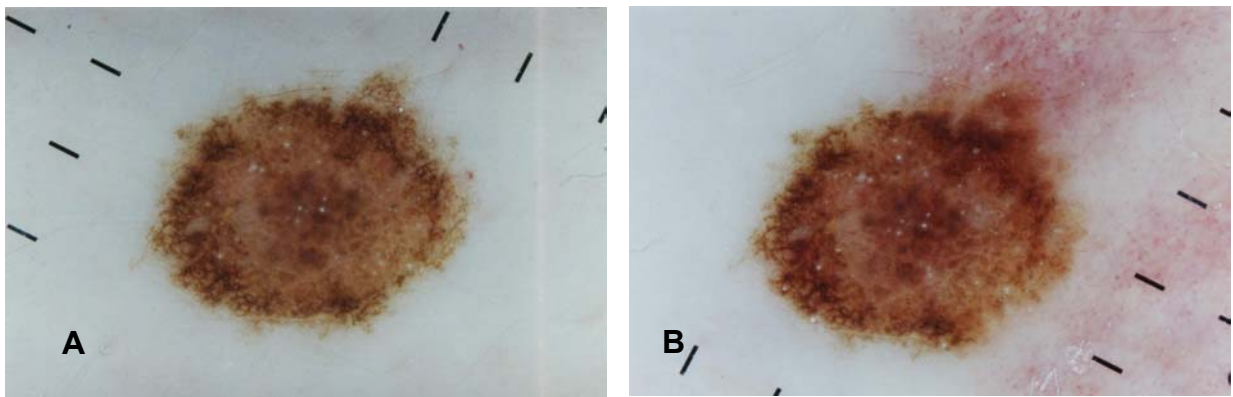


Figure 5 – Compound melanocytic nevi. A, Initial dermatoscopic image. B. Dermatoscopic image after seven days of exposure with two MED. Observe that the upper right margin of the nevus is poorly defined and more abrupt, with poorly defined and less regular pigment network. Note the perilesional erythema and the formation of hypochromic halo around the lesion.

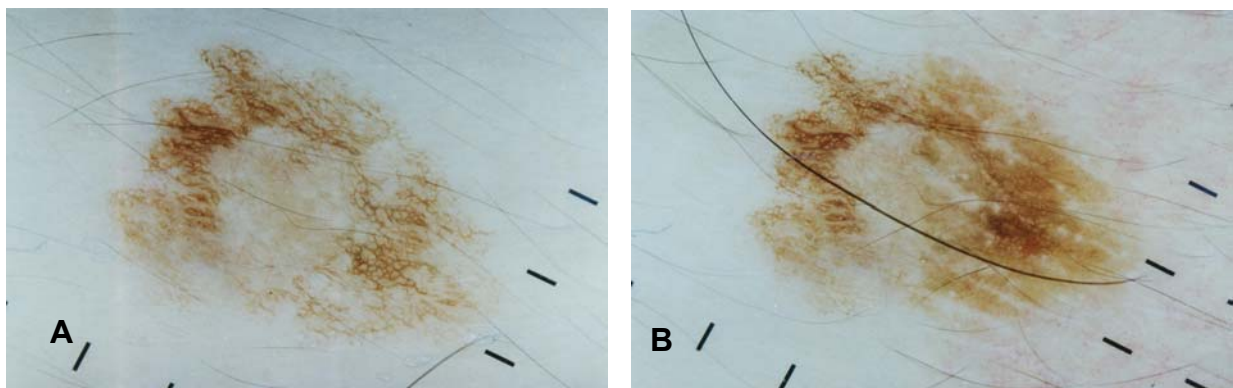


Figure 6 – Intradermal melanocytic nevi. A. Initial dermatoscopic image. B. Dermatoscopic image after seven days of exposure with two MED. Observe the increased pigmentation and poorly defined and less regular pigment network, especially showing the margin of the lesion and perilesional erythema.

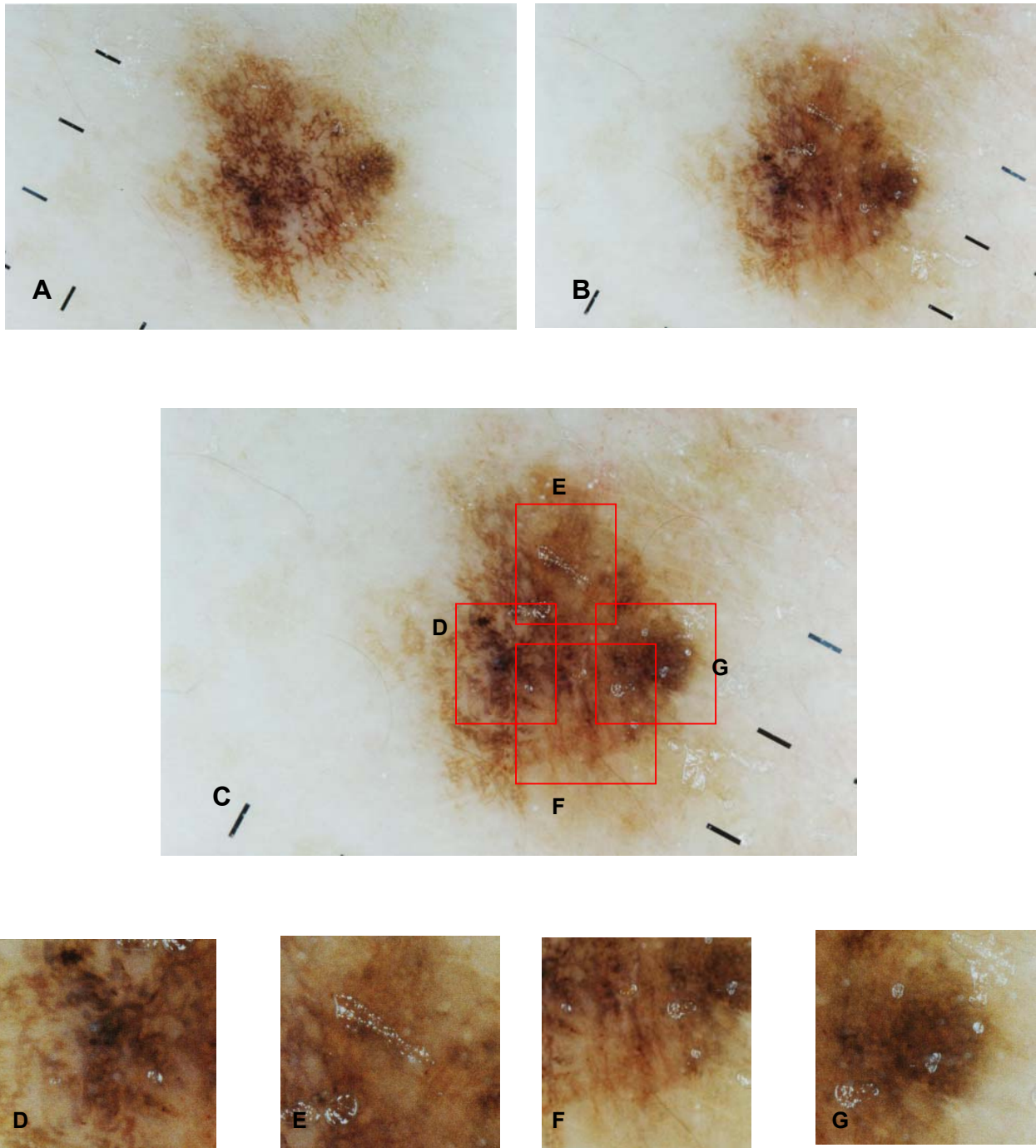


Figure 7 – Junctional melanocytic nevi. A. Initial dermatoscopic image. B. Dermatoscopic image after seven days of exposure with two MED. Observe larger and more numerous globules at the central part of the nevus. Note less regular and poorly defined pigment network, with increased pigmentation, in the peripheral region, on the right irradiated margin. C. Details of the dermatoscopic photograph. D. Presence of larger and more numerous globules. E. Detail of increased local pigmentation. F. Detail showing poorly defined and less regular pigment network of the margin. F and G. Detail showing more abrupt margin, with increased pigmentation, and poorly defined and less regular pigment network.

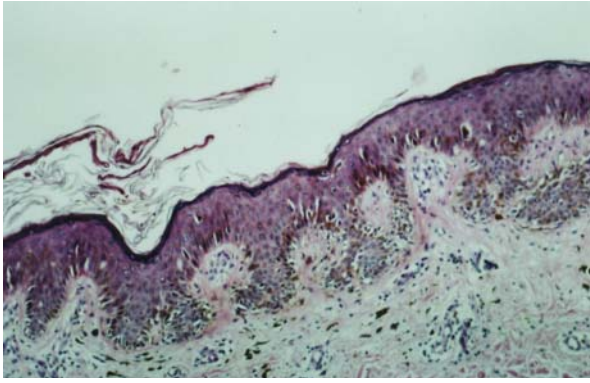


Figure 8 – Junctional melanocytic nevi. Hyperkeratosis on the left side of the histopathological section stained with hematoxylin-eosin (HE) and on both sides, presence of fusion of rete ridges, hyperpigmentation of the basal layer, hyperplasia of melanocytes and enlargement of nucleus and cytoplasm (Original magnification X100)

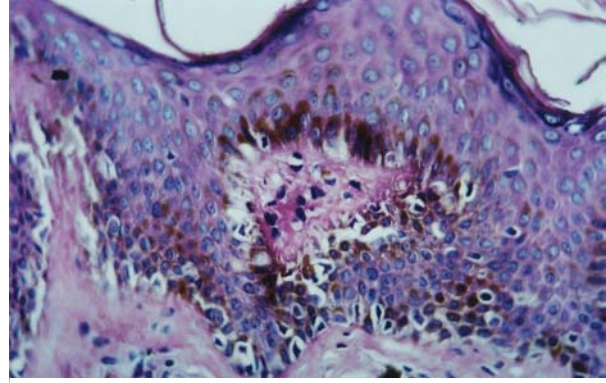


Figure 9 – Junctional melanocytic nevi. Histopathological section stained with HE, with special attention to the irradiated part, showing fusion of rete ridges, hyperplasia of melanocytes and keratinocytes, enlargement of nucleus and cytoplasm, and slight hyperpigmentation of the basal layer (Original magnification X400)

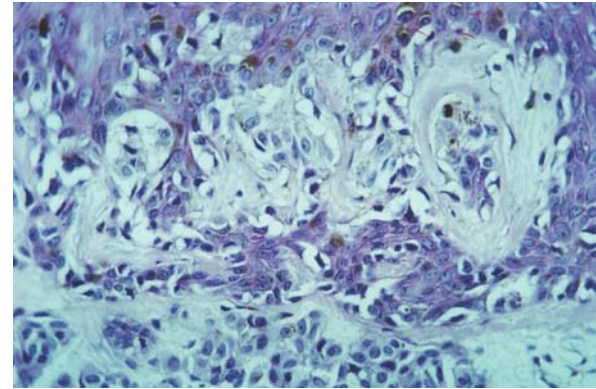
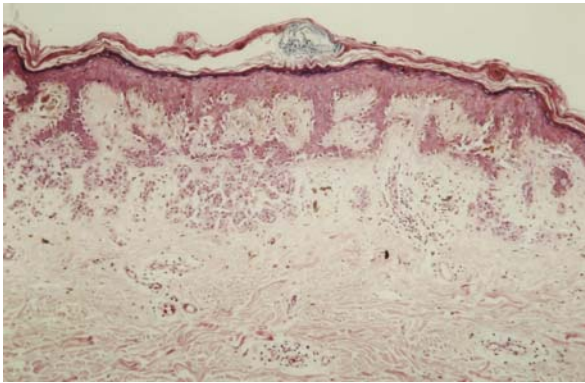


Figure 10 – Compound melanocytic nevi A. Histopathological section stained with HE showing the irradiated part of the melanocytic nevus with parakeratosis, hyperkeratosis, and fusion of rete ridges (original magnification X100) B. Same nevus with intense melanocytic hyperplasia, enlargement of nuclei and cytoplasm, cellular atypia, and fusion of rete ridges (original magnification X400).

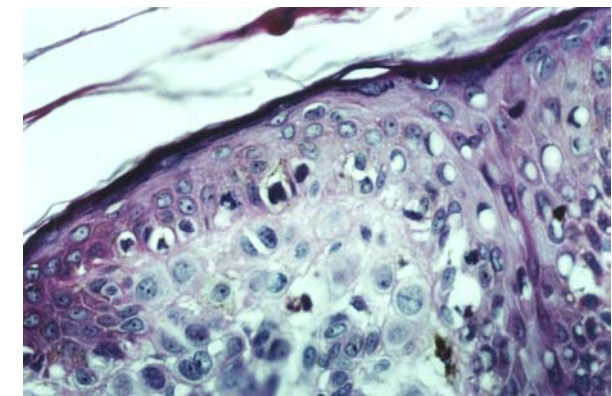
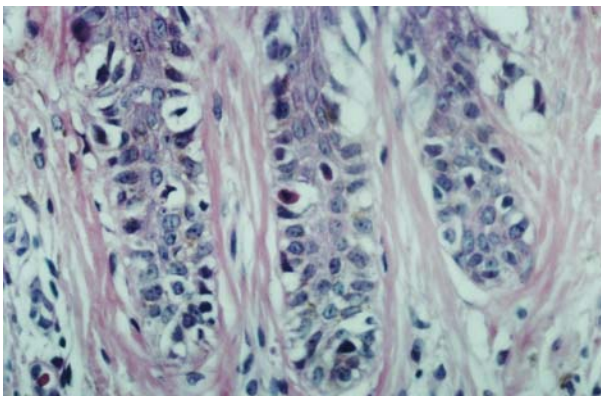


Figure 11 – Compound melanocytic nevi. Histopathological section of the irradiated part stained with HE, showing lamellar fibroplasia in dermal papillae surrounding the rete ridges, as well as hyperplasia of melanocytes and cellular atypia (original magnification X400)

Figure 12 – Compound melanocytic nevi. Histopathological section of the irradiated part stained with HE, showing cellular atypia and melanocytic hyperplasia (original magnification X400).

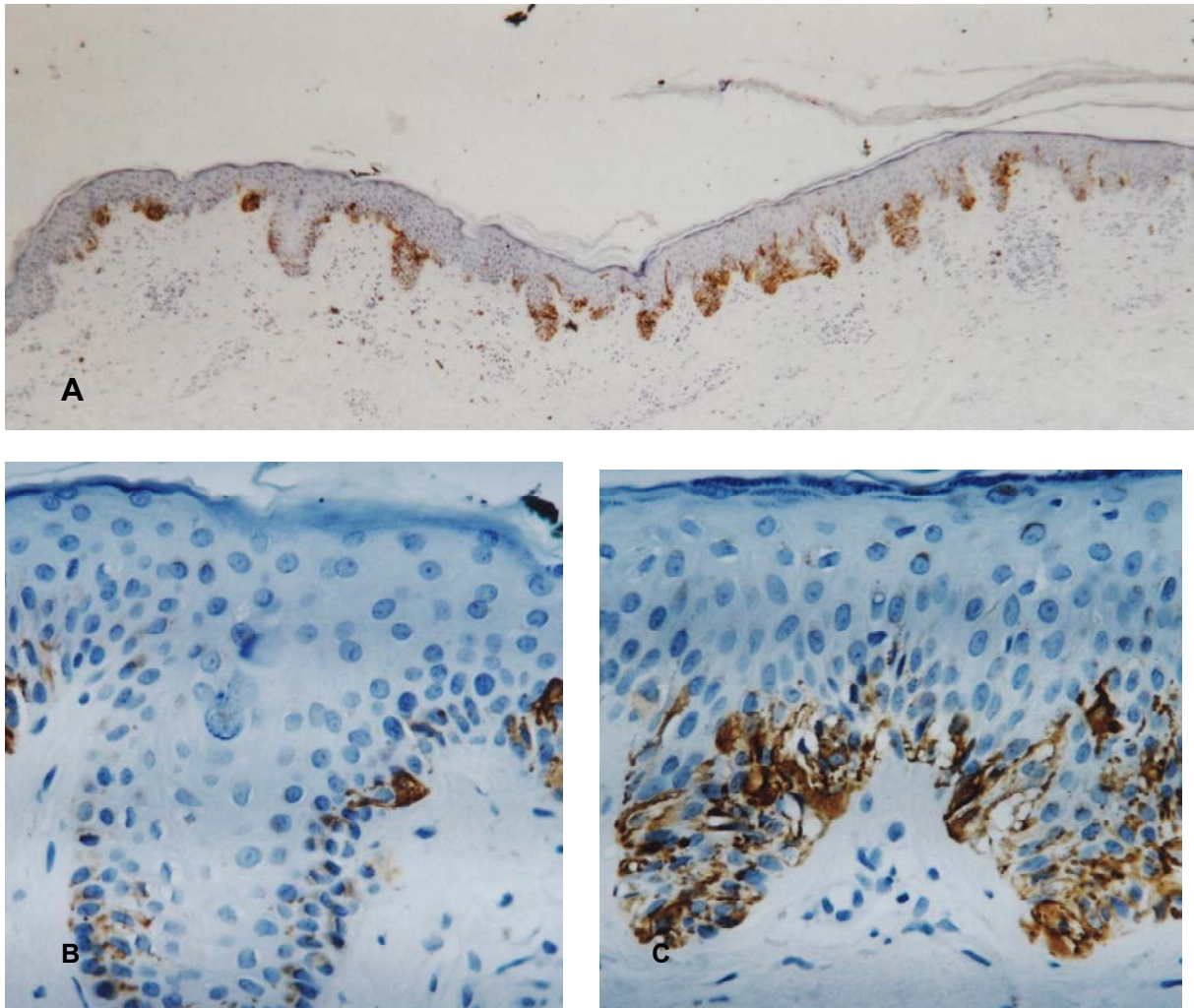


Figure 13 – Junctional melanocytic nevi. **A** - Histopathological section with incorporation of HMB-45 antigen, with a larger number of positive cells in dermal papillae on the right irradiated part, and hyperkeratosis and fusion of rete ridges in relation to the left nonirradiated part (original magnification X25). **B** – same nevus showing basal layer with reduced number of positive cells in relation to the rete ridges on the irradiated part (Figure C). **C** – Dermal papilla and rete ridges on the irradiated part, showing increased number of positive cells for HMB-45 and dendrites (original magnification X400 - figures B and C).

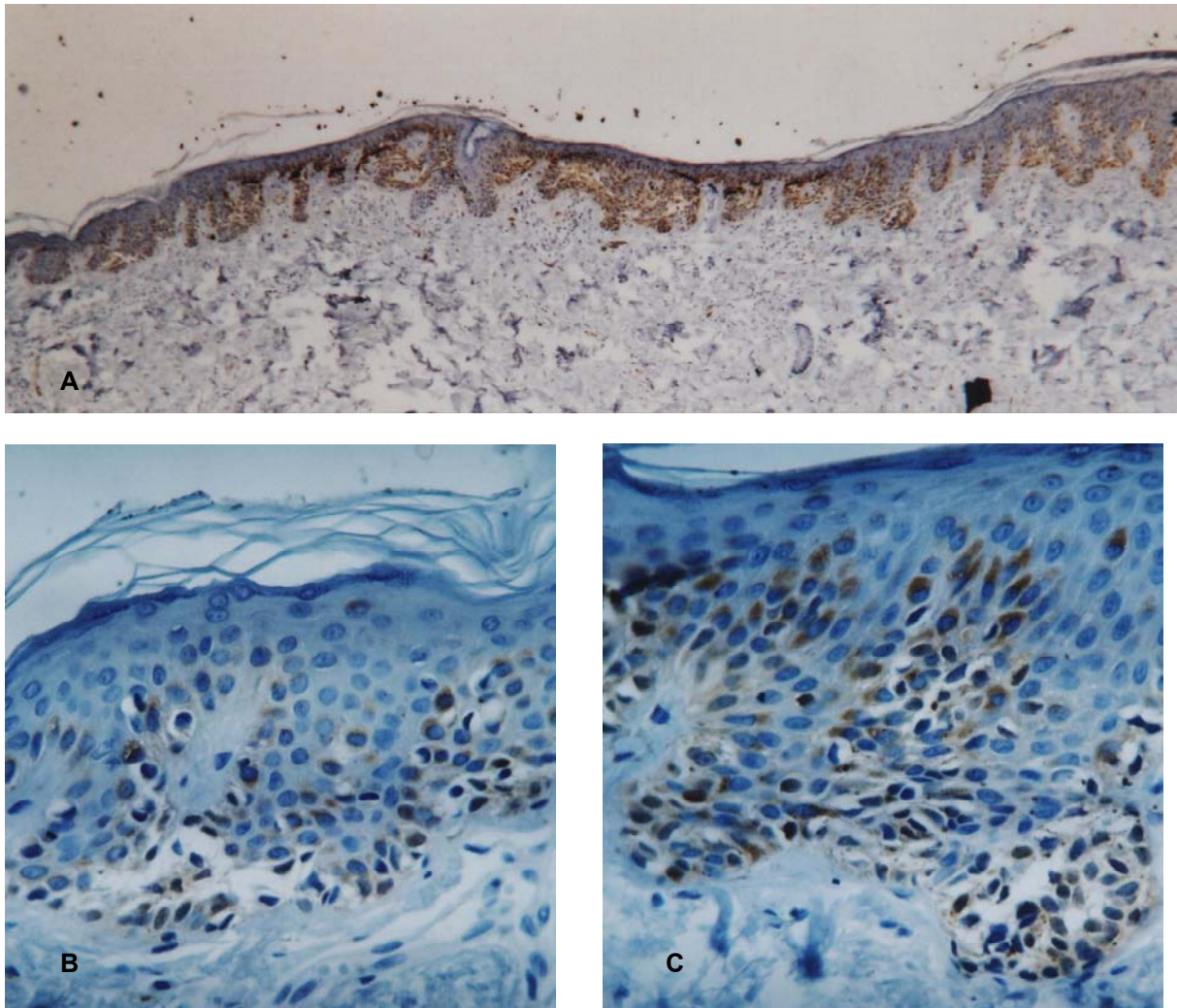


Figure 14 – Compound melanocytic nevi. **A** – Histopathological section with stained with protein S100, showing positive cells on the right irradiated part, and on the left nonirradiated part, in addition to fusion of rete ridges (original magnification X25). **B** – Left nonirradiated part of the same nevus showing a smaller number of positive cells for protein S100 in relation to the right irradiated part (Figure C). **C** – Special attention to the presence of positive cells for protein S100 in basal layer on the irradiated part (original magnification X400 – figures B and C).

TABLE 1 – CHARACTERISTICS OF THE NEVI AND OF THE STUDY POPULATION

	Histological types	COMPOUND (n=20)	JUNCTIONAL (n=6)	INTRADERMAL (n=12)	GENERAL (n=38)
Gender	Male	9	1	8	18
	Female	11	5	4	20
Mean age (years)		29	31.8	21.6	25.6
PHOTOTYPES	I	1	-	2	3
	II	7	-	5	12
	III	8	4	2	14
	IV	3	1	1	5
	V	-	1	1	2
	VI	1	-	1	2
MED	15.3 mJ/cm ²	7	-	-	7
	30.6 mJ/cm ²	1	-	6	7
	45.9 mJ/cm ²	10	6	5	21
	61.2 mJ/cm ²	2	-	1	3
Location	BACK	15	3	8	26
	THORAX	-	2	1	3
	ABDOMEN	2	1	2	5
	EXTREMITIES	3	-	1	4
Average size	Larger Axis (mm)	7.6	7.3	6.4	7.1
	Smaller Axis (mm)	5.3	6	5.5	5.6
Previous Changes (%)		35	33	75	47
CONGENITAL (%)		30	33	75	44
Personal History of Neoplasia		-	2	-	2
Family History of Neoplasia		3	1	3	7

TABLE 2 - FREQUENCY OF CLINICAL CHANGES OBSERVED ON UVB-NONIRRADIATED AND UVB-IRRADIATED PARTS

CHARACTERISTICS		HISTOLOGICAL TYPE	COMPOUND JUNCTIONAL COMP./JUNC. INTRADERMAL				GENERAL
			CHANGES	(n=19)	(n=6)	(n=25)	
Color	Melanin	Darker	6/6 (1.00)	2/3 (0.41)	8/9 (0.65)	1/6 (0.09)	12/10(0.80)
		Lighter	2/5 (0.31)	1/1 (1.00)	3/6 (0.37)	1/6(0.09)	4/12 (0.07)
New Color	Black	Darker	0/1 (0.31)	0/0 (1.00)	0/1(0.31)	0/0 (1.00)	0/1 (0.31)
		Lighter	0/1 (0.31)	0/0 (1.00)	0/1 (0.31)	0/1 (0.31)	0/1 (0.31)
	Brown	Darker	2/4 (0.46)	1/1 (0.65)	3/5 (0.32)	2/1 (0.59)	5/6 (0.59)
		Lighter	1/7 (0.06)	0/0 (1.00)	1/7 (0.06)	0/1 (0.31)	2/8 (0.07)
	Red	Darker	0/6 (0.02)	0/1 (0.31)	0/7 (0.01)	2/2 (0.58)	2/9 (0.02)
		Lighter	3/0 (0.10)	1/2 (0.78)	4/2 (0.34)	1/0 (0.31)	5/2 (0.20)
	Gray	Darker	1/1 (1.00)	0/2 (0.17)	1/3 (0.36)	0/0 (1.00)	1/3 (0.36)
		Lighter	1/4 (0.22)	0/1 (0.31)	1/5 (0.14)	1/1 (1.00)	2/6 (0.20)
	Yellow	Darker	3/6 (0.47)	1/2 (0.59)	4/8 (0.38)	1/2 (0.59)	5/10 (0.32)
		Lighter	0/3 (0.10)	0/0 (1.00)	0/3 (0.10)	4/0 (0.06)	4/3 (0.93)
Margins	Defined margin	More defined	2/3 (0.68)	0/2 (0.17)	2/5 (0.39)	2/2 (1.00)	4/7 (0.53)
		Less defined	1/7 (0.05)	2/1 (0.59)	3/8 (0.14)	1/4 (0.17)	4/12 (0.04)
	Faded margin	More faded	4/7 (0.39)	1/2 (0.59)	5/9 (0.33)	1/4 (0.17)	6/13 (0.13)
		Less faded	2/3 (0.68)	1/2 (0.42)	3/5 (0.40)	1/0 (0.31)	4/5 (0.59)
	Pigmentation	Darker	2/3 (0.89)	0/2 (0.17)	2/5 (0.31)	1/0 (0.31)	3/5 (0.52)
		Lighter	3/7 (0.15)	3/0 (0.10)	6/7 (0.50)	1/3 (0.46)	7/10 (0.42)
Perilesional Erythema			0/12 (0.002)	0/4 (0.06)	0/16 (0.0004)	1/8 (0.02)	1/24 (0.00)
Perilesional Pigm			2/4 (0.46)	0/3 (0.10)	2/8 (0.04)	0/2 (0.17)	2/10 (0.02)
Exfoliation			1/6 (0.06)	0/3 (0.10)	1/9 (0.02)	0/6 (0.04)	1/15 (0.016)

Each cell represents the number of changes on the nonirradiated and irradiated parts, respectively. The statistical significance according to Wilcoxon Test ($P < 0.05$) is shown in parentheses.

TABLE 3 – FREQUENCY OF DERMATOSCOPIC CHANGES OBSERVED ON UVB-NONIRRADIATED AND UVB-IRRADIATED PARTS

STRUCTURE	HISTOLOGICAL TYPE CHANGES	COMPOUND (n=19)	JUNCTIONAL (n=6)	COMP./JUNC. (n=25)	INTRADERMAL (n=11)	GENERAL (n=36)
Pigment Network	Neoformation	2/1 (0.42)	0/2 (0.17)	2/3 (0.58)	0/1 (0.31)	2/4 (0.46)
	More defined	3/1 (0.27)	0/1 (0.31)	3/2 (0.78)	1/0 (0.31)	4/2 (0.60)
	Poorly defined	1/11 (0.12)	1/4 (0.34)	2/15 (0.008)	3/3 (0.75)	5/18 (0.02)
	More regular	2/2 (0.71)	0/0 (1.00)	2/2 (0.71)	1/0 (0.31)	3/2 (0.50)
	Less Regular	0/10 (0.005)	1/2 (0.42)	1/12 (0.005)	2/3 (0.50)	3/15 (0.006)
Globules	Neoformation	0/5 (0.04)	0/0 (1.00)	0/5 (0.04)	1/2 (1.00)	1/7 (0.12)
	Increase in size	1/6 (0.04)	0/0 (1.00)	1/6 (0.04)	1/1 (1.00)	2/7 (0.10)
Black Dots	Neoformation	1/3 (0.36)	1/0 (0.31)	2/3 (0.68)	0/1 (0.31)	2/4 (0.46)
	Increase in size	0/0 (1.00)	1/0 (0.31)	1/0 (0.31)	0/0 (1.00)	1/0 (0.31)
Pigmentation	More Prominent	2/9 (0.01)	4/2 (0.91)	6/11 (0.03)	1/6 (0.07)	7/17 (0.005)
	More Discreet	3/4 (0.73)	1/1 (1.00)	4/5 (0.76)	5/1 (0.14)	9/6 (0.49)
	More Regular	0/3 (0.10)	0/1 (0.31)	0/4 (0.06)	1/1 (1.00)	1/5 (0.11)
	More Irregular	2/4 (0.34)	1/1 (1.00)	3/5 (0.40)	0/1 (0.31)	3/6 (0.28)
Erythema		2/11 (0.03)	0/3 (0.10)	2/14 (0.01)	0/6 (0.02)	2/20 (0.0007)
Margins	More Abrupt	0/0 (1.00)	0/5 (0.04)	0/5 (0.04)	0/2 (0.17)	0/7 (0.01)
	Lighter	3/8 (0.18)	1/2 (0.59)	4/10 (0.15)	2/2 (1.00)	6/12 (0.21)
Vessels		2/4 (0.20)	1/3 (0.27)	3/7 (0.09)	1/3 (0.34)	4/10 (0.04)
Hypopigmented areas		4/4 (1.00)	1/1 (1.00)	5/5 (1.00)	2/2 (1.00)	7/7 (1.00)
	Larger	2/3 (0.68)	0/1 (0.31)	2/4 (0.46)	3/1 (0.14)	5/5 (0.64)
	New	0/2 (0.17)	1/0 (0.31)	1/2 (0.59)	2/1 (0.14)	3/3 (0.75)
	More regular shape	1/0 (0.31)	0/0 (1.00)	1/0 (0.31)	0/1 (0.31)	1/1 (1.00)
	More irregular shape	2/7 (0.13)	1/2 (0.59)	3/9 (0.12)	2/3 (0.61)	5/12 (0.13)

Each cell represents the number of changes on the nonirradiated and irradiated parts, respectively. The statistical significance according to Wilcoxon Test ($P < 0.05$) is shown in parentheses.

TABLE 4 – FREQUENCY OF HISTOPATHOLOGICAL CHANGES AFTER UVB IRRADIATION

HISTOLOGICAL TYPE CHANGES	COMPOUND (n=20)	JUNCTIONAL (n=6)	COMP./JUNC. (n=26)	INTRADERMAL (n=12)	GENERAL (n=38)
Melanocytic Hyperplasia	85	100	88	91.6	89.5
Enlarged Nucleus	70	66	69	83.3	73.7
Enlarged Cytoplasm	60	83	65	83.3	71.1
Basilar Hyperpigmentation	20	0	27	16.6	23.7
Epidermal Atrophy	0	16	3.8	8.3	5.3
Hyperplasia of Keratinocytes	90	100	92	66.6	84.2
Parakeratosis	95	83	92	83.3	89.5
Cellular Atypia	50	33	46.1	16.6	36.8
Inflammatory Infiltrate	60	66	92.3	50	57.9
Fusion of Rete Ridges	60	66	92.3	75	65.8
Lamellar Fibroplasia	50	50	50	50	50

Each cell presents the percentage values in relation to the total number of nevi in each histological type and the sum of all pigmented lesions.

TABLE 5 – FREQUENCY OF PATIENTS AND MOST COMMON HISTOLOGICAL CHANGES AFTER UVB IRRADIATION

Number of changes	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
Compound	2(2)	3(3)	5(3)	2	1(1)	1	3(1)	1	2	
Junctional		1(1)	2	1(1)		1		1		
Intradermal		2(1)	2	3(1)	2		2			1
Total	2(2)	6(5)	9(3)	6(2)	3(1)	2	5(1)	2	2	1

Each cell represents the number of pigmented lesions with the number of histological changes after UVB irradiation in each row.

The number of pigmented lesions with cellular atypia is shown in parentheses.

TABLE 6 – IMMUNOREACTIVITY WITH HMB-45 AND S-100 OF MELANOCYTIC NEVI AFTER 7 DAYS OF EXPOSURE TO UVB RADIATION (2 MED) ON IRRADIATED AND NONIRRADIATED PARTS.

HISTOLOGICAL TYPE	MEDIAN VALUES (n=38)				
	COMPOUND	JUNCTIONAL	COMP./JUNC.	INTRADERMAL	GENERAL
HMB-45 IRRADIATED PART	++++	++++	++++	+++	++++
HMB-45 NONIRRADIATED PART	+	++	+	+	+
S-100 IRRADIATED PART	++++	++++	++++	++++	++++
S-100 NONIRRADIATED PART	+++	+++	+++	+++	+++

The crosses represent: 0, negative or less than 0.5% of positive cells; 1+, from 0.5 to 5% of positive cells; 2+, from 5 to 10% of positive cells; 3+, from 10 to 50% of positive cells; 4+, more than 50% of positive cells.

ANEXO 2**TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO**

HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE**SERVIÇO DE DERMATOLOGIA****TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO****I**

Este documento visa informar o paciente a respeito do projeto de pesquisa intitulado: “Alterações clínicas, dermatoscópicas, histopatológicas e Imuno-histoquímica de nevos melanocíticos com raios ultravioleta B”, expondo suas principais características.

Após as explicações verbais que se seguem, caso o paciente manifeste interesse em integrar o estudo, deverá assinar o seu consentimento.

Identificações:

Pesquisadores Responsáveis: Dr. José Carlos Santos Mariante e Dr. Lucio Bakos.

Local: Serviço de Dermatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Características Principais:

Esta pesquisa busca detectar as alterações causadas pela radiação ultravioleta, iguais as presentes com a exposição ao sol, em sinais de pele já presentes ao nascimento ou adquiridos durante a vida. Estudos recentes realizados na Alemanha e Austrália tem buscado esta relação, detectando estas alterações através de exames especiais laboratoriais ou não (patologia, imunopatologia, dermatoscopia, microscopia digital e eletrônica). Todos estes estudos mostraram alterações reversíveis, ou seja, que desapareceram depois de algum tempo. No Brasil ainda não foi realizado trabalho similar, especialmente se considerarmos a população do nosso Estado, composta em sua maioria de descendentes de italianos e alemães, em que a frequência destes sinais é muito grande.

Para viabilizar este estudo, vamos contar com aqueles pacientes que realizarão a retirada de sinais em nosso Centro Cirúrgico Ambulatorial provenientes do Serviço de Dermatologia ou de outros Serviços do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e que queiram participar do estudo. Aquele paciente que concordar, uma semana antes da lesão ser removida, através de um equipamento especial (PSORACOMB DERMALIGHT 80), semelhante a uma lâmpada, vai expor o seu sinal a duas doses eritematosas mínimas, ou seja, na dose suficiente para causar uma leve vermelhidão local. Também serão realizadas dermatoscopia e dermafoto digital no mesmo local, que são métodos utilizados para se visualizar os sinais de pele com maior detalhe e, portanto, sem nenhum risco para o paciente. Os sinais de pele serão retirados da forma convencional com os riscos inerentes ao procedimento cirúrgico. O sinal que foi removido será avaliado por um patologista após ser processado pelos métodos de coloração convencionais chamados de hematoxilina e eosina e imuno-histoquímica a fim de estudar as alterações ocorridas nas células após a exposição ao ultravioleta B.

O paciente integrante do estudo:

Todo o paciente integrante do estudo deverá realizar exposição da lesão a ser retirada, à luz ultravioleta emitida pelo aparelho PSORACOMB DERMALIGHT 80, equivalente a duas doses eritematosas mínimas, a ser realizada uma semana antes do procedimento cirúrgico. Também serão realizadas dermatoscopia e dermafoto digital das lesões. Após a retirada da lesão, esta será submetida à avaliação convencional de patologia com patologia e imuno-histoquímica com HMB-45 e S-100.

Informações Adicionais:

-O paciente poderá desistir de participar do estudo a qualquer momento sem prejuízo no seu atendimento.

-As informações obtidas no estudo são confidenciais para preservar a identidade dos pacientes.

-Não haverá qualquer gasto financeiro para os pacientes integrantes do estudo.

-A Instituição Hospital de Clínicas de Porto Alegre se responsabilizará pela assistência médica ao paciente que sofrer algum dano comprovadamente relacionado à pesquisa.

-Os pesquisadores ficam a disposição para eventuais esclarecimentos sobre qualquer aspecto da pesquisa.

Pesquisador Responsável

Orientador

CONSENTIMENTO: Eu, -----, estou ciente dos termos deste documento e consinto em participar da pesquisa em questão.

Assinatura do paciente

Quando o paciente for menor de 18 anos:

Nome do responsável: -----

Assinatura do responsável: -----

Porto Alegre, de de .

ANEXO 3**QUESTIONÁRIO E PROTOCOLO DE INVESTIGAÇÃO**

**HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA MÉDICA
SERVIÇO DE DERMATOLOGIA DO HCPA**

**ALTERAÇÕES CLÍNICAS, DERMATOSCÓPICAS, HISTOPATOLÓGICAS E IMUNO-
HISTOQUÍMICA COM HMB-45 E S-100 DE NEVOS MELANOCÍTICOS, APÓS SETE DIAS DE
EXPOSIÇÃO COM RAIOS ULTRAVIOLETA B**

- Número do Caso:
- Número do Prontuário:
- Data:
- Nome:
- Sexo:
- Data de Nascimento:
- Idade:
- Local de Nascimento:
- Procedência:
- Endereço:
- Profissão:
- Ascendência:
(lembrar ascendência italiana, alemã, portuguesa, indígena, espanhola, polonesa, africana e outras)
- História pessoal de neoplasia de pele: (sim ou não). Tipo:
- História familiar de neoplasia de pele: (sim ou não). Tipo:
- Fototipo:
 - 1- Sempre queima, nunca bronzeia
 - 2- Sempre queima, bronzeia pouco
 - 3- Queima facilmente, com bronzeado gradual de pouca intensidade
 - 4- Queima pouco e fica bem bronzeado
 - 5- Queima raramente, bronzeia abundantemente (mulato)
 - 6- Nunca queima, bronzeia abundantemente (preto)
- Notou alterações prévias na lesão selecionada? (sim ou não)
- Tipo de alteração:
 - 1 – Crescimento
 - 2 – Sangramento
 - 3 – Coceira

ANEXO 4 – INSTRUMENTOS PARA COLETA DE DADOS

AVALIAÇÃO CLÍNICA - CASO							
CARACTERÍSTICAS		ALTERAÇÕES					
			0	1	2	3	* OBSERVAÇÕES
Cor	melanina						
		mais clara					
		mais escura					
Cor nova							
Cor nova	preto	mais escuro					
		mais claro					
	marrom	mais escuro					
		mais claro					
	vermelho	mais escuro					
		mais claro					
	cinza	mais escuro					
		mais claro					
	amarelo	mais escuro					
		mais claro					
Bordas	borda nítida	mais nítida					
		menos nítida					
	borda esmaecida	mais esmaecida					
		menos esmaecida					
	Pigmentação	mais escura					
		mais clara					
Eritema Peri-lesional							
Pigmentação Peri-lesional							
Escamação							
Outras							

AVALIAÇÃO DA DERMATOSCOPIA - CASO						
ESTRUTURAS	ALTERAÇÕES					
		0	1	2	3 *	OBSERVAÇÕES
Rede Pigmentar						
	neoformação					
	mais nítida					
	menos nítida					
	mais regular					
	menos regular					
Glóbulos						
	neoformação					
	aumento de tamanho					
Pontos pretos						
	neoformação					
	aumento de tamanho					
Pigmentação						
	mais proeminente					
	mais discreta					
	mais regular					
	mais irregular					
Eritema						
Bordas	mais abrupta					
	mais clara					
Vasos						
Áreas Hipopigmentadas						
	maior					
	novas					
	forma mais regular					
	forma mais irregular					
Outras						

AVALIAÇÃO DA PATOLOGIA - CASO			
CARACTERÍSTICAS			
	Lado Irrad.	Observações	
Hiperplasia Melanocítica			
Atipia Celular			
Aumento do Núcleo dos Melanócitos			
Aumento do Citoplasma dos Melanócitos			
Aumento de Dendritos dos Melanócitos			
Atrofia epidérmica			
Hiperkeratose - Parakeratose			
Hiperplasia de Queratinócitos			
Hiperpigmentação Basilar			
Fusão de Cones			
Fibroplasia lamelar concêntrica			
Infiltrado Inflamatório Crônico			
Outras			

AVALIAÇÃO DA IMUNOHISTOQUÍMICA - CASO						
ANTICORPO	ALTERAÇÕES					OBSERVAÇÕES
		AUSENTE	#	##	###	
HMB 45 - LADO A						
HMB 45 - LADO B						
S-100 - LADO A						
S-100 - LADO B						

SUGESTÕES PARA PESQUISAS FUTURAS

A seguir, constam sugestões de futuras avaliações possíveis de serem realizadas com os temas propostos nesta pesquisa:

- alterações clínicas, dermatoscópicas, histopatológicas e Imuno-histoquímica de nevos melanocíticos com raios ultravioleta A. Uma seqüência necessária desta pesquisa, importante para confrontar com os dados observados neste trabalho;
- alterações clínicas, dermatoscópicas, histopatológicas e Imuno-histoquímica de nevos melanocíticos com raios ultravioleta B após 24 horas de exposição. Para comparação com os dados disponíveis na literatura mundial e desta pesquisa;
- características dermatoscópicas mais comuns de nevos melanocíticos em regiões palmo-plantares após exposição radiação ultravioleta B;
- alterações de nevos melanocíticos em mulheres durante o período gestacional e pós-gestacional. Talvez por origem hormonal, ocorrem alterações fenotípicas em nevos melanocíticos. Seria importante tentar detectar as alterações mais comuns tanto na clínica quanto na dermatoscopia;
- alterações genotípicas em nevos melanocíticos após exposição ultravioleta B. Seria interessante verificar até que ponto a radiação ultravioleta pode afetar diferentes tipos de nevos em nível cromossômico;
- alterações de nevos melanocíticos, detectáveis por diferentes métodos, após outras formas de provocação. Efeitos em nevos melanocíticos com outras formas de agressão, como atrito, uso de irritantes, exposição ao frio, etc.

