

LÍLIAN KELLY FARIA LICARIÃO ROCHA

**Contribuição ao estudo do diagnóstico de tumores e tratamento de
áreas de cancerização nos pacientes com xeroderma pigmentoso**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Programa de Dermatologia

Orientador: Prof. Dr. Cyro Festa Neto

Versão Corrigida Conforme Resolução CoPGr6018/11

São Paulo

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Rocha, Lillian Kelly Faria Licarião
Contribuição ao estudo do diagnóstico de tumores e
tratamento de áreas de cancerização nos pacientes
com xeroderma pigmentoso / Lillian Kelly Faria
Licarião Rocha. -- São Paulo, 2021.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Dermatologia.
Orientador: Cyro Festa Neto.

Descritores: 1.Xeroderma pigmentoso
2.Dermatoscopia 3.Microscopia confocal 4.Neoplasias
cutâneas 5.Melanoma 6.Carcinoma de apêndice cutâneo
7.Imiquimode 8.Quimioterapia

USP/FM/DBD-255/21

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

À memória de minha mãe, **Anita Faria Silva**, e de seu exemplo de força e determinação.

Aos meus grandes amores, **Ana e Daniel**, que me ensinaram que a maternidade é muito mais aprender que ensinar.

Ao meu amor, parceiro e marido, **Bruno Licarião Rocha**, que me proporciona dias mais leves e me ajuda a ampliar meus limites.

Ao meu querido pai, **Lourenço Pereira da Silva**, que com muita luta e força nos permitiu voar.

À minha irmã, parceira, **Dayane Faria Silva**, que me inspira todos os dias a ser uma pessoa melhor.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A **Deus**, pelo privilégio de poder trabalhar com pacientes tão especiais e permitir abrir meus horizontes diariamente. Por ser meu descanso nos dias difíceis e alegria no meu viver diário.

Ao **Professor Dr. Cyro festa Neto**, pela oportunidade de poder aprender e trabalhar ao seu lado, por dividir seus conhecimentos e sabedoria. Um médico e professor ímpar, com uma leveza no viver, que nos ensina muita além da dermatologia no seu melhor nível, mas nos inspira para sermos mais humanos e conscientes. Agradeço imensamente o apoio, os ensinamentos e por me permitir imaginar e voar.

À **Professora Dra. Pascale Guitera**, minha grande tutora e professora, que me apresentou o mundo da microscopia e me ensinou a paixão pela ciência. Um exemplo de profissional, mãe e amiga que levo com carinho na minha jornada.

Aos queridos **pacientes do ambulatório do xeroderma pigmentoso e suas famílias**, pela confiança e por me ensinarem além da medicina.

AGRADECIMENTOS

Aos colegas **Dra. Paula Ferreira e Dr. João Avancini**, dermatologistas brilhantes e dedicados, que me proporcionaram muitos momentos de alegria e parceria desde a residência.

Ao **Dr. Marcelo Abrantes**, brilhante médico patologista, pelos valiosos ensinamentos e tempo dedicado neste trabalho.

Às **Profas. Dras. Zilda N. P. Oliveira, Maria Cecília Rivitti e Luciana Samorano** pelos aprendizados e pelo apoio ao estudo e aos pacientes com genodermatose.

Ao **Prof. Dr. Carlos Menck e Dra. Lígia Castro**, dedicados e brilhantes cientistas, pelo apoio na pesquisa desta doença tão intrigante.

Às colegas **Naiura Pereira, Flávia Maria Cristaldi, Maria Cristina Galhardo e Jacqueline Meneghin**, do laboratório de Histopatologia do HCFMUSP, pelo tempo e dedicação ao trabalho.

Aos colegas médicos, residentes e funcionários do **Complexo HC-FMUSP** que de alguma forma contribuem no cuidado dos pacientes com xeroderma pigmentoso.

NORMALIZAÇÃO

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado do *International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver)*.

Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Fredd, Maria F. Crestana, Marinalva de Sousa Araújo, Suely Campos Cardoso, Valeria Vilhena. 3a Ed. São Paulo. Divisão de Biblioteca e Documentação, 2011.

Abreviação dos títulos dos periódicos de acordo com o *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas.....	ix
Lista de Figuras	x
Lista de Tabelas.....	xi
1 PRELÚDIO	1
2 RESUMO	5
3 ABSTRACT	9
4 INTRODUÇÃO.....	13
4.1 O xeroderma pigmentoso.....	14
4.2 Aspectos históricos do xeroderma pigmentoso	15
4.3 Estudos moleculares no xeroderma pigmentoso.....	19
4.4 Alterações moleculares no xeroderma pigmentoso	22
4.5 Aspectos clínicos do xeroderma pigmentoso.....	24
5 PROPOSTAS DOS ESTUDOS	27
6 ASPECTOS ÉTICOS.....	26
7 POPULAÇÃO ESTUDADA	32
8 USO DA DERMATOSCOPIA DIGITAL NO DIAGNÓSTICO DOS TUMORES EM PACIENTES COM XERODERMA PIGMENTOSO	37
8.1 Introdução	39
8.2 Métodos	40
8.2.1 Dermatoscopia Digital	40
8.2.2 Seleção das lesões	41
8.2.3 Análise estatística.....	41
8.3 Resultados.....	42
8.4 Discussão	52
9 USO DA MICROSCOPIA CONFOCAL DE REFLECTÂNCIA NO DIAGNÓSTICO DOS TUMORES EM PACIENTES COM XERODERMA PIGMENTOSO.....	56
9.1 Introdução	58
9.2 Métodos	58
9.2.1 Microscopia confocal de refletância	58
9.2.2 Pacientes e lesões incluídas no estudo	61

9.2.3	Análise Estatística	62
9.3	Resultados	62
9.3.1	Análise Multivariada.....	70
9.4	Discussão	71
10	TRATAMENTO DE CAMPO DE CANCERIZAÇÃO COM IMIQUIMODE NOS PACIENTES COM XERODERMA PIGMENTOSO	74
10.1	Introdução	75
10.2	Métodos	77
10.2.1	Recrutamento	77
10.2.2	Pacientes.....	78
10.2.3	Intervenção.....	80
10.2.4	Análise do campo de cancerização	80
10.2.5	Análise dos dados.....	81
10.2.6	Metodologia estatística	82
10.3	Resultados	82
10.3.1	Análise pré-tratamento.....	84
10.3.2	Protocolo de quimioprofilaxia com imiquimode	93
10.3.3	Análise pós-tratamento	95
10.3.4	Incidência de tumores cutâneos no seguimento.....	102
10.4	Discussão	102
11	PERSPECTIVAS FUTURAS	107
12	DISCUSSÃO FINAL.....	110
	REFERÊNCIAS	112

LISTAS

ABREVIATURAS

CBC:	carcinoma basocelular
CEC:	carcinoma espinocelular
DD:	dermatoscopia digital
HMA:	hiperplasia melanocítica atípica
JDE:	junção dermo epidérmica
MCR:	microscopia confocal de reflectância
NER:	<i>nucleotide excision repair</i>
OR:	<i>odds ratio</i>
TLR7:	receptor Toll-like 7
UV:	ultravioleta
XP:	xeroderma pigmentoso

FIGURAS

Figura 1 -	Apresentação de diferentes fenótipos do xeroderma pigmentoso	18
Figura 2 -	Via de reparo por excisão de nucleotídeos	21
Figura 3 -	Aspecto clínico (A), dermatoscópico (B) e histológico (C) de lesão benigna excisada a pedido do paciente e teve o diagnóstico histológico de queratose seborreica	45
Figura 4 -	Exemplo de melanomas <i>in situ</i> (círculos azul e vermelho) em paciente com xeroderma pigmentoso. As lesões apresentam à dermatoscopia hiperpigmentação assimétrica (seta amarela), padrão anular-granular e glóbulos assimétricos (seta preta).....	47
Figura 5 -	Exemplo de um melanoma <i>in situ</i> (círculo branco) em paciente com xeroderma pigmentoso. A lesão sofreu alteração dermatoscópica no monitoramento em 6 meses. A lesão apresentou crescimento e surgimento de área com aspecto de regressão com pontos aczentados (seta amarela)	47
Figura 6 -	Exemplo de carcinoma basocelular que apresentou alteração dermatoscópica no intervalo de 9 meses.....	50
Figura 7 -	Exemplo de carcinoma espinocelular em paciente com xeroderma pigmentoso. A lesão apareceu como nova no seguimento do mapeamento fotográfico corporal, apresentando à dermatoscopia aspecto de rede atípica, glóbulos marrons e borrões excêntricos	51
Figura 8 -	Esquema ilustrativo dos princípios físicos da microscopia confocal de reflectância	59
Figura 9 -	Exemplo de lesões suspeitas durante seguimento de pacientes com xeroderma pigmentoso.....	69
Figura 10 -	Fluxograma do protocolo de tratamento com imiquimode como quimioprofilaxia em pacientes com xeroderma pigmentoso	79
Figura 11 -	Paciente com xeroderma pigmentoso, subtipo XP-V, tratada com creme de imiquimode na região malar direita	94
Figura 12 -	Paciente com xeroderma pigmentoso, subtipo XPC, tratada com creme de imiquimode na região malar direita	95
Figura 13 -	Imagens por microscopia confocal e pelos exames histológico e de imunoistoquímica de uma paciente com xeroderma pigmentoso de 10 anos tratada com creme de imiquimode na região malar esquerda que apresentou reação clínica moderada ao tratamento	97

TABELAS

Tabela 1 -	Os genes envolvidos no xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.....	23
Tabela 2 -	Características demográficas e clínicas dos pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo	36
Tabela 3 -	Características demográficas e lesões dos pacientes com xeroderma pigmentoso incluídos na avaliação por dermatoscopia digital e microscopia confocal de reflectância, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.....	43
Tabela 4 -	Características dermatoscópicas das lesões dos pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo	48
Tabela 5 -	Aspectos dermatoscópicos descritos para carcinomas basocelulares observados nas lesões benignas, em todas as lesões malignas e nos carcinomas basocelulares isoladamente em pacientes com xeroderma pigmentoso	50
Tabela 6 -	Critérios de microscopia confocal das lesões segundo presença de malignidade em pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo	63
Tabela 7 -	Critérios dermatoscópicos das lesões segundo presença de melanoma maligno em pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo	65
Tabela 8 -	Fatores associados com malignidade e melanoma maligno em pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo	70
Tabela 9 -	Características dos pacientes com xeroderma pigmentoso selecionados para o protocolo com imiquimode, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.....	83
Tabela 10 -	Avaliação da microscopia confocal antes e após tratamento em pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo	85
Tabela 11 -	Avaliação histológica antes e após tratamento com imiquimode em pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo	88

Tabela 12 -	Avaliação por imunistoquímica antes e após tratamento com imiquimode em pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo	90
Tabela 13 -	Presença de melanófagos e células de Langerhans (imunistoquímica para CD1A) antes e após tratamento em pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo	92
Tabela 14 -	Análise das características microscópicas e histológicas comparada por grupo conforme resposta clínica ao tratamento com imiquimode, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo	98

1 PRELÚDIO



1 PRELÚDIO

Ainda era uma aluna da faculdade quando pela primeira vez tive contato com um paciente com xeroderma pigmentoso. Lembro que fiquei realmente chocada ao saber que acompanharia a cirurgia de uma criança com câncer de pele. Já na residência, era a minha vez de operar uma paciente deste grupo. Maria estava acompanhada de seu irmão, Jorge, também vítima da doença e de sua mãe. Eram ainda adolescentes na época, com a timidez típica da idade, somado a óculos e chapéus grandes, mesmo em ambiente interno, tornando-os quase invisíveis. Sua mãe, sempre simpática e educada, fazia a parte da comunicação da família. Naquele momento eu não tinha a menor dimensão do impacto da doença no cotidiano daquelas crianças e de suas famílias.

Anos depois, já dermatologista e mãe, voltei de um ano de pesquisa na Austrália, cheia de sonhos e otimismo. Tive o privilégio de ter o apoio do Prof. Cyro para que esta energia fosse transformada em ação. Encontrei a Paula e o João, meus antigos parceiros de residência, também cheios de energia trabalhando com os pacientes com xeroderma pigmentoso do Hospital das Clínicas. Assim, ingressei no trabalho com estes pacientes, contribuindo nos campos de dermatoscopia e microscopia confocal.

Neste momento, o contato com os pacientes foi intenso e transformador. Não vi apenas pacientes. Consegui ver crianças e adolescentes que não se encaixavam no mundo. Vi mães fortes (e muito!) que já não sabiam mais o significado de sofrimento e que pareciam nadar sozinhas em um mar sem fim. Viver com uma doença

estigmatizante em um país com tanta desigualdade é um sofrer que te anestesia no mundo. Mas descobri, que cada gota de esperança valia muito. Assim, foi incrível presenciar o trabalho da Dra. Régia e de toda a organização Nossa Senhora Terezinha que apoia pacientes com genodermatoses. Aprendi a valorizar ainda mais o esforço de anos do trabalho da Dra. Zilda, da Dra. Maria Cecília e, mais recentemente, da Dra. Luciana que atuam no grupo da Pediatria do ambulatório da Dermatologia do HC, promovendo sempre um cuidado carinhoso com estes pacientes. Aprendi que existiam muitos pesquisadores fora do hospital trabalhando muito para entender essa doença tão intrigante.

Um dia com a Bianca, uma menina linda, também paciente com xeroderma pigmentoso que já perdeu a conta de quantos tumores cutâneos já teve, estava em mais uma biópsia de uma lesão suspeita em seu rosto, dando as mãos para sua mãe durante o procedimento. No momento mais dolorido, na aplicação da anestesia, vi o olhar distante daquela mãe acompanhando o sofrimento de sua menina. Como mãe, aquilo doeu muito em mim. Saí com a sensação de que deveríamos fazer algo a mais. E naquele dia de epifania, a idéia de criar um protocolo na tentativa de tratar estes pacientes veio de imediato. No ambulatório já utilizavam o imiquimode para tratar alguns tumores nestes pacientes com muito sucesso. E assim, com muito apoio de todos, iniciamos o tratamento nos pacientes. Foi desafiador para eles, mas viam esperança e cuidado mesmo com uma ferida no rosto que durou semanas. E por serem valentes sempre, este foi apenas mais um desafio em suas vidas. E com vitória! Todos apresentaram ótimos resultados, que agora trago nesta tese. Um trabalho de um grande grupo de pessoas que trouxe muito mais que resultados em números. Trouxe esperança! Após 2 anos do fim do nosso protocolo, encontro Jorge namorando e feliz

com seu trabalho. Vejo Maria não mais escondida atrás dos óculos e chapéu, feliz com o resultado cosmético no seu rosto. Encontro Bianca agora bailarina, recém ingressa em uma famosa escola de balé, exibindo para mim passos no corredor do hospital. É indescritível esta transformação, que foi muito maior em mim que na vida deles.

Os nomes dos pacientes são fictícios para preservação de suas identidades.



2 RESUMO

2 RESUMO

Rocha L. *Contribuição ao estudo do diagnóstico de tumores e tratamento de áreas de cancerização nos pacientes com xeroderma pigmentoso*. (tese). São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

O xeroderma pigmentoso é uma doença genética rara caracterizada pela extrema sensibilidade à radiação ultravioleta, que leva a um quadro clínico com múltiplas lesões cutâneas, incluindo múltiplos tumores com surgimento ainda na infância. Além do distúrbio cutâneo, é descrito que cerca de 20% a 30% dos pacientes apresentam alterações neurológicas degenerativas e neoplasias em outros órgãos. As manifestações oculares estão presentes em cerca de 90% dos pacientes com xeroderma pigmentoso e as primeiras descrições da doença por Kaposi no final do século 19 incluíam xerose e turvação da córnea.

Esta síndrome tem como base molecular mutações nas vias de reparo do DNA causado pelos raios ultravioleta. Seu estudo é muito importante, justificado pelo grande impacto que esta doença tem nos pacientes afetados, em sua maioria crianças, incluindo grande estigma, necessidade de múltiplos procedimentos cirúrgicos e mortalidade precoce. Além disso, o estudo dos mecanismos moleculares do xeroderma pigmentoso permite a compreensão do processo de envelhecimento cutâneo em geral e dos efeitos da radiação ultravioleta nos seres humanos.

Do ponto de vista clínico, estes pacientes são um grande desafio para o dermatologista. Há grande dificuldade na caracterização precoce das neoplasias

cutâneas, falta de protocolos estabelecidos de seguimento dos pacientes e de opções terapêuticas para uso profilático na formação dos tumores cutâneos.

Neste trabalho descrevo projetos científicos desenvolvidos no Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, realizados no período de 2015 a 2020, que tiveram o objetivo de auxiliar na detecção precoce dos tumores cutâneos utilizando técnicas não invasivas e de propor um protocolo de quimioprofilaxia em áreas características de campo de cancerização em pacientes com o diagnóstico de xeroderma pigmentoso.

Primeiramente, publicamos a maior casuística da literatura de características dermatoscópicas relacionadas à malignidade e ao melanoma em pacientes XP. A presença de hiperpigmentação perifolicular assimétrica foi um fator de risco para malignidade cutânea. Descrevemos também que o *score* para lentigo maligno foi útil na diferenciação de lesões benignas e malignas. Desta forma, sugerimos para o seguimento dos pacientes com xeroderma pigmentoso a associação do seguimento clínico ao uso do mapeamento fotográfico corporal e da dermatoscopia digital e, embora desafiador, os critérios dermatoscópicos previamente descritos para a população em geral podem ser úteis na diferenciação de lesões benignas e malignas em pacientes XP.

Em seguida, publicamos o primeiro relato do uso da técnica não invasiva de microscopia confocal de reflectância ao seguimento dos pacientes com xeroderma pigmentoso. Nesse estudo, a sensibilidade para o diagnóstico dos tumores cutâneos com o uso da microscopia confocal foi de 100% (todos os casos de malignidade foram diagnosticados corretamente), com um valor preditivo positivo de 82,5% (7 lesões que foram classificadas como malignas por MCR eram benignas por histologia). O número

de excisões foi reduzido em 35%. Notavelmente, os casos falso-positivos (lesões que foram classificadas como malignas pela microscopia confocal, mas não foram diagnosticadas como malignas pelo exame histológico) eram lesões com atipia citológica. Assim, recomendamos quando acessível a associação do uso da microscopia confocal de reflectância no seguimento dos pacientes com xeroderma pigmentoso.

Por fim, sugerimos neste trabalho um protocolo com o uso de Imiquimode 5% creme como profilaxia em áreas de cancerização nos pacientes com xeroderma pigmentoso. Descrevemos benefícios microscópicos e histológicos com esta estratégia, sem nenhum evento adverso grave. Recomendamos fortemente abordagens preventivas para pacientes com xeroderma pigmentoso para minimizar o número de excisões necessárias e diminuir a incidência de tumores cutâneos. Além disso, o tratamento de campos de cancerização pode ainda facilitar o reconhecimento precoce de tumores cutâneos na abordagem clínica desses pacientes.

3 ABSTRACT

3 ABSTRACT

Rocha L. *Contribution to the diagnosis of cutaneous tumours and to the treatment of field cancerization in Xeroderma Pigmentosum patients.* (thesis). São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

Xeroderma Pigmentosum is a rare genetic disease characterized by extreme sensitivity to ultraviolet radiation, which leads to multiple skin lesions, including multiple cutaneous tumours that appear in childhood. In addition to the skin disorder, approximately 20 to 30 percent of patients develop progressive neurologic disease and ocular manifestations are a major component of XP9 and early descriptions of the disease by Kaposi in the late 19th century included xerosis and clouding of the cornea.

This syndrome is based on molecular mutations in the DNA repair pathways caused by sun light. The present study is very important, justified by the great impact that this disease has on affected patients, mostly children, including great stigma, the need for multiple surgical procedures and early mortality. In addition, the study of the molecular mechanisms of Xeroderma Pigmentosum allows the understanding of the skin aging process in general and the effects of ultraviolet radiation on humans.

For clinicians, these patients are very challenging. There is great difficulty in the early characterization of cutaneous tumours, lack of established protocols for the Xeroderma Pigmentosum patient follow-up and therapeutic options for prophylactic use to treat sun exposed areas.

In this paper we describe studies developed at the Department of Dermatology, *Hospital das Clínicas of São Paulo University*, from 2015 to 2020, which aimed to

assist in the early detection of skin tumors using non-invasive techniques and to propose a protocol of chemoprophylaxis in areas reported as cancer field in patients with the diagnosis of Xeroderma Pigmentosum.

First, we published the largest series in the literature of dermoscopic features related to malignancy and melanoma in Xeroderma Pigmentosum patients. The presence of asymmetric perifollicular hyperpigmentation was a risk factor for cutaneous malignancy. We also described that the lentigo maligna score, previously described by Lallas et al., was useful in differentiating benign and malignant lesions in this population. Therefore, we suggest for the follow-up of Xeroderma Pigmentosum patients the association of clinical follow-up with the use of total body photography and digital dermoscopy and, although challenging, the dermoscopic criteria previously described for the general population can be useful in differentiating benign lesions and malignant in Xeroderma Pigmentosum patients.

We also published the first report on the use of the non-invasive technique of reflectance confocal microscopy in the follow-up of Xeroderma Pigmentosum patients. In this study, the sensitivity for the diagnosis of skin tumours using reflectance confocal microscopy was 100% (all cases of malignancy were correctly diagnosed by reflectance confocal microscopy), with a positive predictive value of 82.5% (7 lesions that were classified as malignant by reflectance confocal microscopy were benign by histology). The number of excisions was reduced by 35%. Notably, false-positive cases (lesions that were classified as malignant by reflectance confocal microscopy but were not diagnosed as malignant by histological examination) were lesions with cytological atypia. Thus, we recommend, when accessible, the use of

confocal reflectance microscopy in the follow-up of Xeroderma Pigmentosum patients.

Finally, we suggested a protocol with the use of Imiquimod 5% cream as prophylaxis in field of cancerization in Xeroderma Pigmentosum patients. We described microscopic and histological benefits of this strategy, without any serious adverse events. We strongly recommend preventive approaches for Xeroderma Pigmentosum patients to minimize the number of needed excisions and decrease the incidence of skin tumours. In addition, the treatment of field cancerization can also facilitate the early recognition of skin tumours during the follow up of Xeroderma Pigmentosum patients.

4 INTRODUÇÃO

4 INTRODUÇÃO

4.1 O Xeroderma Pigmentoso

O xeroderma pigmentoso (XP) é uma síndrome rara e hereditária, autossômica recessiva, com frequência estimada de 1:1 milhão na Europa e Estados Unidos ¹ e com incidências maiores descritas em algumas regiões como o Japão, onde a estimativa é de 1:100.000 habitantes ². Curiosamente, a maior incidência da doença descrita ocorre na cidade Recanto das Araras, pequeno município no interior de Goiás com população de cerca de 800 habitantes e uma incidência de XP estimada de 1:40 habitantes ³.

O distúrbio nesta doença está no reparo do DNA lesado por produtos principalmente decorrentes da exposição aos raios ultravioleta (UV). Os subtipos de XP, conhecidos como grupos de complementação, são descritos como XPA ao XPG, envolvidos no defeito da via de reparo do DNA por excisão de nucleotídeo (NER-*nucleotide excision repair*), e a forma variante (XP-V), cujo defeito está de na via conhecida como síntese de DNA translesional.

4.2 Aspectos Históricos do Xeroderma Pigmentoso

A primeira descrição do XP ocorre no final do século XIX em Viena, quando Kaposi ⁴ juntamente com seu sogro, Professor Ferdinand Hebra, descrevem em 1874 quatro pacientes com “pele em pergaminho” (*“parchment skin”*), relatando: *“em adição ao ressecamento parecido a pergaminho, magreza e enrugamento da pele, a pigmentação xadrez e os pequenos vasos dilatados, os sintomas mais notáveis foram a atrofia e, ao mesmo tempo, o afinamento do pele”*, o que podemos interpretar como a descrição da poiquilodermia cutânea encontrada nestes pacientes decorrente da exposição solar. Estes autores ainda descreveram a presença de lesões hiper e hipopigmentadas e que *“a condição da pele cessa com uma linha abrupta de demarcação”*, porém não postulam o motivo dos pacientes apresentarem lesões delimitadas a algumas regiões do corpo (áreas fotoexpostas). Neste artigo, claramente Kaposi fica intrigado com a doença, pois descreve *“Eu não tenho mais o que dizer a respeito desta doença peculiar”*.

Posteriormente, em 1883, o alemão Albert Neisser ⁵ relata irmãos gêmeos com quadro clínico cutâneo característico de XP que apresentaram quadro neurológico degenerativo progressivo que se iniciou a partir da segunda década de vida.

Em 1878, o médico R W Taylor relata os primeiros casos de XP dos Estados Unidos em um congresso da *“American Dermatological Association”*. Em seguida, em 1888, este mesmo médico publica uma revisão da literatura com relato de 40 casos no total ⁶.

Em 1926, Per⁷ descreve propriamente a doença e suas características clínicas.

Este autor descreveu:

O Xeroderma pigmentoso é devido a uma extrema sensibilização da pele aos raios ultravioletas do sol; esta doença congênita de falha no reparo aos danos actínicos parece estar ligada à consanguinidade dos pais. As hematóporfirinas não desempenham nenhum papel na patogênese desta doença; os raios solares produzem inquestionavelmente danos no curso da doença nos pacientes com xeroderma pigmentoso; as medidas preventivas têm um valor muito importante nesta doença.

Per⁷ descreve ainda que “*apesar do detalhamento clínico da doença, ninguém tem conseguido esclarecer a obscura patogênese do Xeroderma Pigmentoso*”.

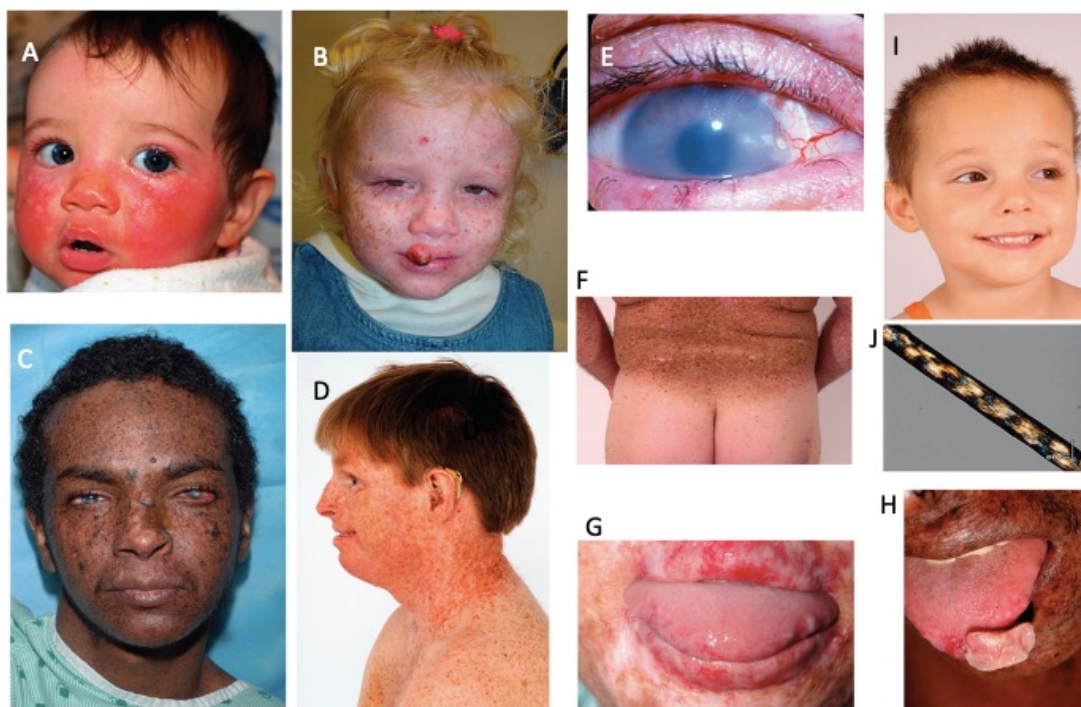
Em 1932, Sanctis e Cacchione⁸ descrevem um quadro clínico menos comum do XP, com o relato de 3 irmãos que apresentavam deficiência mental, surdez e hipoplasia gonadal com degeneração neurológica progressiva iniciada aos 2 anos de idade, dando início à observação da presença de diferentes fenótipos nesta mesma doença (**Figura 1**)⁹.

Em 1938 houve o primeiro relato de um paciente XP na África por Loewenthal et al.¹⁰, sendo a primeira descrição de um paciente com fototipo V acometido por esta doença.

Em 1964, Gartler¹¹ relata em um congresso em Nova Iorque sobre a hipersensibilidade aos raios solares presente nos pacientes XP. No entanto, somente quatro anos depois, em 1968, Cleaver et al.¹² publicaram sobre defeitos no reparo de excisão do DNA em cultura de fibroblastos, contribuindo grandemente para o início das pesquisas genéticas no XP. Nos dois anos seguintes, Setlow et al.¹³ e Cleaver et

al. ¹⁴ relatam que “fotoprodutos” (*ultraviolet-induced thymine dimers*), previamente descritos por Setlow ¹⁵, não eram eliminados por pacientes XP. Poucos meses depois surgem publicações sobre os defeitos de reparo de DNA presentes nas células XP *in vitro*, por Reed et al. ¹⁶, e *in vivo* por Epstein et al. ¹⁷ e Burk et al. ¹⁸. Curiosamente, em 1971, Cleaver et al. ¹⁹ publicam inicialmente a forma *variante* (“XP variant”), único subtipo de XP cujo defeito não está presente na via NER, via envolvida no reparo do DNA. Os demais subtipos de XP (XPA, XPB, XPC, XPD, XPE, XPF e XPG) foram descritos posteriormente ²⁰⁻²² em estudos que misturaram células de pacientes diferentes e observaram que diferentes núcleos celulares “supriam” elementos que faltavam em outros grupos celulares.

Com a caracterização dos subtipos do XP, iniciou-se duas décadas de estudos moleculares na doença, com a identificação dos genes envolvidos em cada subtipo ^{1, 2, 23-36}.



FONTE: Imagens de *JJ DiGiovanna and KH Kraemer* ⁶.

Figura 1 - Apresentação de diferentes fenótipos do Xeroderma Pigmentososo. **A.** Paciente XP-D com 9 meses de idade apresentando fotossensibilidade à mínima exposição solar. **B.** Paciente XP-C aos 2 anos de idade sem história de fotossensibilidade e apresentando múltiplas lesões cutâneas e tumoração no lábio superior correspondente a um carcinoma espinocelular tipo queratoacantoma. **C.** Paciente XP-C proveniente do norte da África com fototipo V e múltiplas lesões cutâneas. **D.** Paciente XP-A aos 35 anos com história de doença neurológica degenerativa associada a múltiplas lesões cutâneas. **E.** Exemplo de acometimento oftalmológico com presença de pterígeo, acometimento córneo e perda dos cílios. **F.** Imagem demonstrando área de acometimento bem demarcada, restringindo-se às áreas expostas ao sol. **G.** Acometimento labial devido ao dano solar, com perda do limite do vermelhão do lábio e áreas de atrofia. **H.** Carcinoma espinocelular localizado na porção anterior da língua em paciente XP proveniente da África. **I e J.** Aspectos clínicos, com acometimento das hastas capilares, em paciente com Tricotiodistrofia

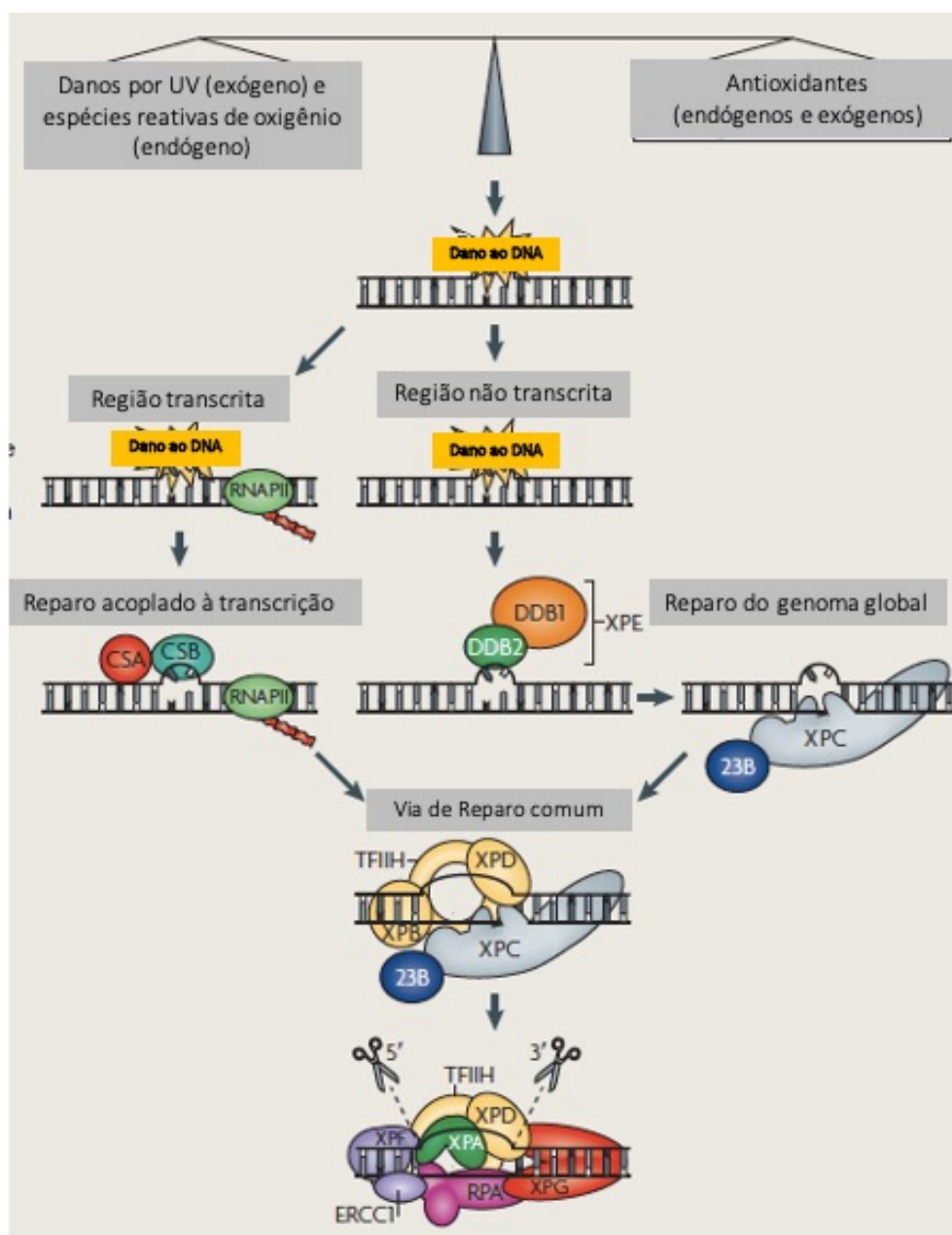
4.3 Estudos Moleculares no Xeroderma Pigmentoso

A via conhecida como NER corresponde à via de reparo por excisão de nucleotídeos e é uma via de reparo essencial. Atua em um vasto número de lesões estruturais de origem exógena que distorcem a dupla hélice do DNA e interferem no pareamento de bases nucleotídicas, impedindo a transcrição e a replicação. Como exemplos de danos reparados por esta via podemos citar a remoção de dímeros de pirimidina, fotoprodutos e vários outros, como benzo[a]pireno-guanina, formados na exposição à fumaça de cigarros.

Ao contrário do reparo por excisão de base, que faz a remoção apenas da base afetada, o reparo por excisão de nucleotídeos faz a remoção de toda uma sequência de DNA que contém a lesão, em torno de 24-32 nucleotídeos de extensão. Esta via é bastante conhecida por reparar danos causados pela radiação UV e envolve a ação coordenada de diversas enzimas que atuam em diferentes passos ao longo do processo. Na população geral em que não há mutação nesta via, inicialmente é realizado o reconhecimento da lesão e abertura da hélice de DNA, para que a região afetada possa ser removida por endonucleases. Após a remoção da sequência danificada, é feita a síntese de uma nova sequência com base na fita complementar. Existem dois caminhos para a ação da via de reparo por excisão de nucleotídeo: o reparo acoplado à transcrição e o reparo do genoma global (**Figura 2**). O primeiro é um processo que garante o rápido reconhecimento de lesões na fita codificadora de genes que estão ativamente transcritos e depende da parada da RNA polimerase II durante a transcrição, o que funciona como um reconhecimento do dano. Já o reparo do genoma global é capaz de reconhecer danos em qualquer região do genoma, independentemente da RNA

polimerase II. No reparo do genoma global os complexos proteicos XPC-HR23B e UV-DDB/XPE fazem o reconhecimento da lesão e o recrutamento das proteínas envolvidas no reparo. Estes dois caminhos são semelhantes e diferem apenas no passo inicial do reconhecimento do dano, que é um processo muito mais complexo no reparo do genoma global, envolvendo a ativação de diversas enzimas, enquanto para o reparo acoplado à transcrição ser iniciado é necessário apenas que a elongação da RNA polimerase II seja detida ao encontrar um sítio de dano.

Após o reconhecimento do dano, os dois caminhos ativam o mesmo processo de reparo, recrutando um complexo proteico de relaxamento do DNA ao redor da lesão, seguido pela excisão da região do DNA lesado por endonucleases específicas e síntese do novo fragmento pela DNA polimerase III, usando como molde a fita complementar intacta. Com o auxílio da DNA ligase I e II, a integridade do DNA é então restabelecida ³⁴.



FONTE: Imagem adaptada de Cleaver *et al.* ³⁴

Figura 2 - Via de reparo por excisão de nucleotídeos: Inicialmente há dano ao DNA por componentes exógenos (como os dímeros de pirimidina provenientes da radiação UV que impedem a transcrição e a replicação do DNA) e endógenos. Este dano é reconhecido levando à abertura da hélice e remoção da região afetada. O reconhecimento da região ocorre através de 2 vias: reparo acoplado à transcrição, que promove o reparo de forma rápida e é dependente da enzima RNA polimerase II; e a via de reparo do genoma global, via mais complexa e dependente de várias enzimas. O caminho entre as duas vias depende se o dano ocorrido está em um domínio inativo ou ativo por transcrição. Após o reconhecimento do dano, estas duas vias ativam o mesmo processo de reparo, recrutando um complexo proteico de relaxamento do DNA ao redor da lesão, seguido pela excisão do DNA lesado e síntese do novo fragmento de DNA.

4.4 Alterações moleculares no Xeroderma Pigmentoso

Como já citado anteriormente, diferentes mutações envolvidas no XP levarão a diferentes fenótipos da doença. Mutações nos genes XPC e XPE estão envolvidos no defeito da via de reparo do genoma global (**Figura 2**). A mutação no gene XPC resulta na redução da capacidade de reparo dos dímeros da pirimidina dentre outros produtos decorrentes do dano por radiação UV, causando desnaturação da região afetada do DNA. Porém, nos pacientes XPC ocorre reparo parcial do DNA pela via de reparo acoplado à transcrição e pela ativação do gene XPE na via de reparo do genoma global que ativa gene p53. Na mutação no gene XPE ocorre defeito na ligação aos fotoprodutos pela enzima DDB1 (*DNA damage-binding 1*). Seguindo o mesmo raciocínio, a mutação do gene XPE também é compensada parcialmente pelas demais vias de reparo. A apresentação clínica destes pacientes subtipos XPC e XPE não envolve acometimento neurológico tipicamente nem descrição de fotossensibilidade aguda, porém apresentam múltiplos tumores cutâneos, tipo melanoma e carcinomas.

Mutações no gene XPD são as mais complexas de todas as mutações nos genes envolvidos no XP. As mutações neste gene podem acarretar 3 diferentes doenças: xeroderma pigmentoso, síndrome de Cockayne e a tricotiodistrofia. Além disso, pacientes com mutações no gene XPD podem apresentar quadros clínicos combinados das 3 doenças.

Mutações nos genes XPA, XPB e XPG, além do gene XPD, estão ligados ao fenótipo que apresenta acometimento neurológico degenerativo. Normalmente não são afetados ao nascimento, com peso e estatura normais, porém com surgimento precoce

de alterações nos reflexos tendinosos, perda da audição e progressiva perda cognitiva. Estes pacientes apresentam alta mortalidade.

Pacientes com a mutação no gene XPF foram descritos principalmente no Japão e apresentam quadro clínico mais brando, com início mais tardio dos sintomas ³⁵. Mutações no gene XPF leva a alterações no complexo ERCC1, que tem a função de endonuclease durante o processo de reparo do DNA na via comum terminal da via NER.

A última forma de XP, que na verdade foi a primeira a ser descrita ¹⁹, é conhecida como forma *variante*, por não acometer a via NER. Nos pacientes XP-V, o defeito está na via conhecida como síntese de DNA translesional, em que na presença da mutação do DNA lesionado, este erro é continuamente replicado. Julie Di Lucca et al. ³⁶ identificaram maior risco envolvido na mutação XP-V para o risco de melanoma cutâneos. **Tabela 1**

Tabela 1 - Os genes envolvidos no xeroderma pigmentoso.

Gene	Cromossomo	Função da proteína codificada	Via de reparo afetada
XPA	9q22.33	Verificação de dano	NER
XPB/ERCC3	2q14.3	Quebra da hélice de DNA	NER
XPC	3p25.1	Reconhecimento de dano	NER
XPD/ERCC2	19q13.32	Quebra da hélice de DNA	NER
XPE/DDB2	11p11.2	Reconhecimento de dano	NER
XPF/ERCC4	16p13.12	Nuclease	NER
XPG/ERCC5	13q33.1	Nuclease	NER
XPV/POLH	6p21.1	Polimerase	Síntese translesional

Fonte: Adaptado de Lehmann et al ³⁷

4.5 Aspectos Clínicos do Xeroderma Pigmentoso

As características clínicas dos pacientes XP são decorrentes do dano solar desde a primeira infância. As manifestações cutâneas estão presentes principalmente nas regiões fotoexpostas. As principais manifestações cutâneas são lesões hipo e hiperpigmentadas, aumento das estruturas vasculares e atrofia cutânea. Constituem o que chamamos de poiquilodermia cutânea. Além disso, em geral os pacientes apresentam tumores cutâneos recorrentes desde a infância, sendo 8 anos a idade média de surgimento do primeiro tumor ³⁸.

É estimado, considerando-se a população abaixo de 20 anos de idade, que os pacientes XP apresentam 10.000 vezes mais risco de apresentarem um câncer cutâneo não melanoma e 2.000 vezes maior risco para o câncer tipo melanoma cutâneo se comparado com a população geral. Além disso, é descrito que pacientes XP apresentam também maior risco para neoplasia de órgãos internos, sendo estimado aumento de 50 vezes neste risco ³⁷.

Além das manifestações cutâneas, pacientes XP podem apresentar alterações oftalmológicas, descrita em cerca de 90% dos pacientes, também decorrentes dos danos solares na região das pálpebras, córnea e conjuntiva. O quadro clínico oftalmológico pode envolver pterígeo, xeroftalmia, fotofobia, alterações vasculares, lagofthalmia e ectrópio, além de neoplasias ³⁷.

É estimado que as alterações neurológicas, presentes principalmente nos grupos XPA, XPB, XPD e XPG, ocorra na frequência de 20% a 30% dos pacientes XP. Estas alterações são decorrentes de um processo degenerativo progressivo que

leva à ataxia, deficiência auditiva, alterações nos reflexos tendinosos, microcefalia, alterações visuais e deficiência intelectual ³⁷.

A presença das manifestações clínicas varia grandemente na população XP, sendo dependente principalmente do grupo de complementação XP e da exposição solar. A fotosensibilidade é descrita para algumas formas XP e, paradoxalmente, estes pacientes que sofrem com sensibilidade aguda ao sol acabam tendo maior proteção solar ao longo da vida e menor incidência de tumores cutâneos ³⁷. Para aqueles indivíduos de grupos de complementação que mantêm a proficiência da subvia de reparo acoplado à transcrição do NER (grupos XPC, XPE e XP-V), no geral, não se observa reação de queimadura solar exacerbada para o tipo de pele e não é observado comprometimento neurológico. Acredita-se que, por não apresentarem reação de queimadura solar exacerbada, estes pacientes são diagnosticados tardiamente e, portanto, passam por longo período sem evitar exposição solar, refletindo assim no perfil comumente observado de gravidade nas manifestações, com risco maior para desenvolver tumores cutâneos. Para o grupo XPC é observado frequência maior de casos com acometimento ocular grave, iniciado na infância como um dos sinais iniciais da síndrome, e podendo evoluir para diminuição da acuidade visual. Para pacientes do grupo XP-V, o acometimento ocular é mais brando e de início tardio ³⁷.

A caracterização dos aspectos moleculares germinativos e somáticos dos pacientes com xeroderma pigmentoso é de grande importância, tendo em vista que pode identificar variantes de suscetibilidade, variantes germinativas patogênicas previamente não relacionadas ao espectro da síndrome ou perfis somáticos tumorais

não descritos. Essas informações podem contribuir no entendimento da diversidade do fenótipo e podem levantar questões relevantes para o melhorar o manejo dos pacientes.

5 PROPOSTAS DOS ESTUDOS

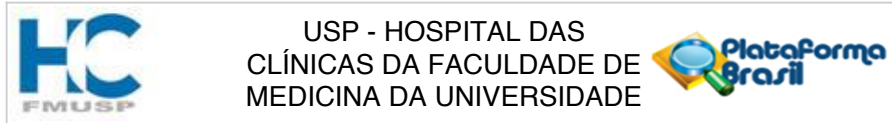
5 PROPOSTAS DOS ESTUDOS

Os estudos que serão descritos decorrem de um projeto do Ambulatório da Dermatologia do *Hospital das Clínicas de São Paulo* de 2015 a 2020. O seguimento dos pacientes teve como busca a melhora no atendimento ambulatorial, introduzindo técnicas de diagnóstico de lesões cutâneas já consagradas na população em geral³⁹⁻⁴¹, avaliação de registros realizados previamente de imagens clínicas, dermatoscópicas e de resultados de exames anatomopatológicos. Além disso, propomos um protocolo para a realização de quimioprofilaxia nestes pacientes, visando o tratamento de áreas consideradas pré-malignas (campos de cancerização) para a possível diminuição da ocorrência dos tumores cutâneos na nossa população de pacientes XP.

6 ASPECTOS ÉTICOS

6 ASPECTOS ÉTICOS

Para a realização das análises experimentais dos pacientes XP, obtivemos inicialmente aprovação pelo comitê de ética nacional (CEP – CAAE: 98968918.0.0000.0068, *parecer*: 3.163.255). Além disso, todos os pacientes foram informados previamente sobre as intervenções propostas e possíveis riscos envolvidos. Termo de consentimento assinado foi obtido para todos os pacientes.

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Uso de Imiquimode em pacientes portadores de Xeroderma Pigmentoso

Pesquisador: Cyro Festa Neto

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP);

Versão: 2

CAAE: 98968918.0.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.163.255

Apresentação do Projeto:

Avaliar efeito do imiquimod em campo cancerizável de pacientes com xeroderma pigmentoso

Objetivo da Pesquisa:

Comparar as alterações celulares e moleculares, pré e pós tratamento com imiquimod a 5% creme nas áreas do campo de cancerização em pacientes portadores de xeroderma pigmentoso, para avaliar se ocorrem mudanças neste campo e quantificar esta melhora, avaliando a diminuição, ou não, da ocorrência de tumores cutâneos na região, em seguimento que durará 2 anos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos envolvidos estão relacionados à realização de biópsias cutâneas, uma vez que a microscopia confocal não é processo invasivo e, o uso de imiquimod já é consenso no tratamento desta patologia.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

As exigências foram atendidas e a questão da biópsia ficou esclarecida.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O TCLE foi atualizado

Recomendações:

Não há

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

7 POPULAÇÃO ESTUDADA

7 POPULAÇÃO ESTUDADA

Até a data do fim da análise deste estudo (dezembro de 2020), 20 pacientes com o diagnóstico de XP faziam seguimentos regulares no Ambulatório da Dermatologia do *Hospital das Clínicas de São Paulo (HCFMUSP)*, com tempo médio de seguimento neste serviço de 14 anos e 3 meses (intervalo de 1 a 41 anos). Destes pacientes, 13 eram mulheres e a média de idade era de 32,45 anos (intervalo entre 9 e 69 anos). A média de idade entre os pacientes para o surgimento do primeiro tumor cutâneo, como referido ou registrado nos prontuários do HCFMUSP, foi de 24 anos e 9 meses (intervalo entre 2 e 50 anos). **Tabela 2**

Com relação à pesquisa molecular, 18 pacientes tiveram o diagnóstico do subtipo de XP, como apresentado na **Tabela 2**. Uma paciente teve o diagnóstico de XPA, 9 pacientes XPC, 1 paciente XPD e 7 pacientes XP-V.

Como esperado, os pacientes deste grupo apresentaram o diagnóstico de múltiplos tumores cutâneos, exceto por um paciente com diagnóstico de XP-V que nunca teve o diagnóstico de malignidade cutânea, apenas de uma lesão pré-maligna tipo queratose actínica. Esta paciente apresentou um quadro clínico diferente de seu irmão, com o mesmo diagnóstico molecular, que tem antecedente de 2 tumores tipo melanomas, 10 carcinomas basocelulares e 13 carcinomas espinocelulares, provavelmente por apresentarem exposições solares diferentes ou outros fatores desconhecidos. A média total de tumores (registrados nos prontuários do HCFMUSP até dezembro de 2020) desta população foi de cerca de 25 tumores por paciente

(intervalo: 0-127 tumores). Veja detalhes sobre a frequência de tumores nesta população na **Tabela 2**.

Tabela 2 - Características demográficas e clínicas dos pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

Pacientes	Mutação	Idade (anos)	Sexo	Idade do primeiro tumor cutâneo (anos)	Melanomas*	CBC**	CEC***	Alterações Oftalmológicas	Alterações Neurológicas	Fotossensibilidade
1	XPC	9	F	2	3	2	5	+	-	-
2	desconhecido	36	M	20	1	2	5	+	-	-
3	XPA	9	F	6	1	0	0	+	+	+
4	desconhecido	24	F	3	3	3	18	+	-	-
5	XP-V	79	F	50	1	1	2	+	-	-
6	XPC	18	M	7	0	8	8	+	-	-
7	XPD	47	M	18	1	3	2	+	-	+
8	XPC	11	F	5	1	39	4	-	-	-
9	XPC	10	F	6	2	14	1	-	-	-
10	XPC	20	F	10	3	5	0	+	-	-
11	XPC	13	M	4	0	0	4	+	-	-
12	XPC	40	M	11	4	0	1	-	-	+
13	XP-V	48	F	-	0	0	0	-	-	-
14	XP-V	50	F	13	4	0	0	+	-	+
15	XPC	23	F	8	0	50	1	+	-	+
16	XP-V	62	M	30	2	10	13	+	-	-
17	XP-V	43	M	11	1	26	2	+	-	-
18	XP-V	69	F	18	61	19	40	+	-	-
19	XP-V	30	F	30	0	5	5	+	-	-
20	XPC	10	F	4	1	19	3	-	-	-

*Número de melanomas registrados no sistema de prontuários do HCFMUSP até dezembro de 2020.

**Número de carcinomas basocelulares registrados no sistema de prontuários do HCFMUSP até dezembro de 2020.

***Número de carcinomas espinocelulares registrados no sistema de prontuários do HCFMUSP até dezembro de 2020.

8 ARTIGO PUBLICADO 1

8 ARTIGO PUBLICADO 1

> [J Am Acad Dermatol](#). 2021 May 26;S0190-9622(21)01008-2. doi: 10.1016/j.jaad.2021.05.022.
Online ahead of print.

Dermoscopic features of 61 skin lesions in xeroderma pigmentosum patients: A cross-sectional study

Lilian Kelly Faria Licarião Rocha ¹, Paula Ferreira ², João Avancini ², Ligia P Castro ³,
Zilda Najjar ², Maria C Rivitti-Machado ², Luciana Paula Samorano ², Caroline F Barbosa ²,
Caroline Colacique ², Cyro Festa-Neto ²

Affiliations + expand

PMID: 34048850 DOI: [10.1016/j.jaad.2021.05.022](#)

8.1 INTRODUÇÃO

A dermatoscopia digital (DD) é uma técnica amplamente utilizada na dermatologia que permite avaliar lesões cutâneas de forma não invasiva, com melhora da acurácia diagnóstica para o diagnóstico dos tumores cutâneos em comparação ao exame à olho nu. É descrito que o *odds ratio* (OR) para o diagnóstico do melanoma com o uso da dermatoscopia, comparado ao olho nú, é de 15,6 (IC 95%: 2,9-84)³⁹. Assim, fica indiscutível a necessidade do uso de ferramentas diagnósticas não invasivas no seguimento dos pacientes XP baseando-se em estudos na população geral^{39, 40, 41}.

Malvey et al.⁴² descreveram as características clínicas e dermatoscópicas de tumores cutâneos em 2 irmãos XP. Eles relataram padrões dermatoscópicos semelhantes comparado à população geral, considerando critérios pré-estabelecidos para o melanoma e os carcinomas cutâneos. No entanto, além do número restrito de pacientes, estes autores não abordaram os critérios com significância estatística relacionados ao diagnóstico do melanoma.

Este estudo teve por objetivo descrever as principais características dermatoscópicas de 61 lesões pigmentadas em 13 pacientes XP, relacionando os principais critérios dermatoscópicos que foram estatisticamente preditores de risco para malignidade e para o diagnóstico do melanoma.

8.2 MÉTODOS

Este foi um estudo longitudinal realizado no Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas de São Paulo de janeiro de 2015 a abril de 2019. O estudo teve aprovação pelo comitê de ética nacional (CEP - CAAE: 98968918.0.0000.0068, número: 3.163.255).

8.2.1 Dermatoscopia Digital

A análise por dermatoscopia consistiu no uso do equipamento bodystudio ATBM® (Fotofinder system, Germany). As imagens foram avaliadas por 3 dermatologistas com mais de 5 anos de experiência nesta tecnologia (LR, PF e JA). Foram descritos para cada lesão critérios dermatoscópicos previamente descritos para a população geral no diagnóstico dos tumores cutâneos tipo melanoma, carcinoma basocelular (CBC) e carcinoma espinocelular (CEC), segundo o *Consensus Net Meeting on Dermoscopy*⁴³.

A dermatoscopia digital destes pacientes estava associada ao exame de mapeamento fotográfico corporal. Todos os pacientes deste estudo realizam visitas a cada 3-6 meses para avaliação clínica e por mapeamento fotográfico corporal. Esta técnica consiste em fotografias de toda pele que são comparadas sequencialmente com o paciente em cada consulta clínica, associada a fotografias dermatoscópicas das principais lesões dos pacientes, permitindo o diagnóstico precoce de lesões malignas cutâneas³⁹.

8.2.2 Seleção das lesões

Neste estudo, relatamos características dermatoscópicas de lesões cutâneas suspeitas durante o seguimento clínico, dermatoscópico e por mapeamento fotográfico corporal. Os seguintes critérios foram considerados para caracterização das lesões como suspeitas: lesões que apresentavam qualquer característica dermatoscópica relacionada à malignidade, por critérios dermatoscópicos para lesões melanocíticas ou não melanocíticas na população geral^{39, 40, 44-46}; lesões com alteração significativa no monitoramento dermatoscópico digital; e novas lesões no mapeamento fotográfico corporal.

Todas as lesões foram avaliadas por microscopia confocal de refletância (MCR) pelo equipamento Vivascope 3000 (Calibre ID, Rochester, NY). As lesões com suspeita de malignidade pela MCR foram excisadas e analisadas pelo exame anatomopatológico. As lesões com características benignas à MCR tiveram seguimento clínico e dermatoscópico, compreendendo com avaliações trimestrais.

8.2.3 Análise estatística

Os dados foram analisados pelo programa SPSS (versão 25.0.0, Windows ©). O teste exato de Fisher e o teste do qui quadrado de Pearson foram usados para analisar a associação entre os fatores quantitativos. Estatísticas descritivas foram calculadas para características clínicas e dermatoscópicas.

Dois cenários foram considerados na análise estatística: 1. “lesões malignas”, que incluíram melanomas, CBC e CEC; 2. “lesões tipo melanoma”, incluindo apenas

lesões melanocíticas malignas à histologia. Modelos de regressão logística foram usados para testar a associação de características dermatoscópicas com malignidade e com o diagnóstico de melanoma. *Odds ratio* com $P < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

8.3 RESULTADOS

Foram incluídas nesta análise 61 lesões suspeitas de 13 pacientes XP; 69% (9/13) dos pacientes eram do sexo feminino, e a média de idade foi de 27,3 anos (variação: 9-69 anos), com metade dos pacientes com idade inferior a 20 anos.

Onze pacientes tiveram um diagnóstico molecular de XP, com os seguintes subtipos: 1 paciente era XPA, 6 eram XPC, 1 era XPD e 3 eram XP-V. O número médio de lesões por paciente foi 5 (variação: 1-11 lesões), e as principais áreas afetadas foram face e pescoço (54%), tronco (24%) e lábios e mucosa oral (13%). **Tabela 3.**

Tabela 3 - Características demográficas e lesões dos pacientes com xeroderma pigmentoso incluídos na avaliação por Dermatoscopia Digital e Microscopia Confocal de Reflectância, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

PACIENTES	MUTAÇÃO	SEXO	IDADE (anos)	LOCALIZAÇÃO DA LESÃO	DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO
1	XPC	F	10	Face	CBC
				Face	Melanoma
				Língua	HMA
				Face	CBC
				Face	_**
				Face	CBC
				Face	_**
				Face	CBC
2	XPC	F	24	Lábio inferior	_**
				Face	HMA
				Face	MM
				Orelha	HMA
				Face	Melanoma
				Face	Melanoma
				Tronco	_**
				Pescoço	_**
				Abdome	_**
		_**			
3	XPC	M	18	Língua	CEC
4	XP-V	F	50	Mão	_**
				Lábio	_**
5	XP-V	F	69	Face	_**
				Tronco	Melanoma
				Tronco	Melanoma
				Tronco	Melanoma
				Membro inferior	Melanoma
				Tronco	Melanoma
				Tronco	Melanoma
				Tronco	Melanoma
6	XPC	F	10	Face	CBC
				Face	CBC
				Face	CBC
				Face	CBC
7	Unknown	F	11	Face	_**
				Face	HMA
				Face	HMA
				Face	CBC
				Face	CBC

continua

Tabela 3 (conclusão) - Características demográficas e lesões dos pacientes com xeroderma pigmentoso incluídos na avaliação por Dermatoscopia Digital e Microscopia Confocal de Reflectância, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

PACIENTES	MUTAÇÃO	SEXO	IDADE (anos)	LOCALIZAÇÃO DA LESÃO	DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO
8	XPA	F	9	Lábio Face	Melanoma _**
9	Unknown	M	36	Face	CEC
10	XPC	F	23	Membro superior Lábio Face Face Face Orelha Face	_** CBC _** CBC CBC CBC CBC
11	XPD	M	47	Face Tronco Tronco Tronco Tronco Tronco Tronco Couro cabeludo	MM _** Queratose seborréica*** Queratose actínica associado a nevo juncional _** _** _** _**
12	XPC	F	9	Língua Face Face Couro cabeludo	CEC Melanoma Nevo displásico CEC
13	XP-V	M	43	Tronco	_**

*Abreviaturas: CBC: carcinoma basocelular; CEC: carcinoma espinocelular; HMA: hiperplasia melanocítica atípica.

** : Lesões classificadas como benignas pela microscopia confocal e não foram excisadas.

*** : Lesão excisada por solicitação do paciente.

32 lesões foram incluídas por apresentarem características dermatoscópicas suspeitas na primeira avaliação, 25 apresentavam alterações durante o monitoramento dermatoscópico e 4 lesões eram novas pelo mapeamento fotográfico corporal.

Todas as 61 lesões foram avaliadas por MCR. 21 lesões foram classificadas como benignas. 20 lesões não foram excisadas e, portanto, foram acompanhadas com exame clínico, dermatoscópico e por mapeamento fotográfico corporal a cada 3 meses (tempo médio de acompanhamento: 17 meses, variação de 5-324 meses) e não apresentaram nenhuma alteração significativa. Uma lesão benigna foi excisada, a pedido da paciente, com diagnóstico histopatológico de queratose seborreica. **Figura 3**

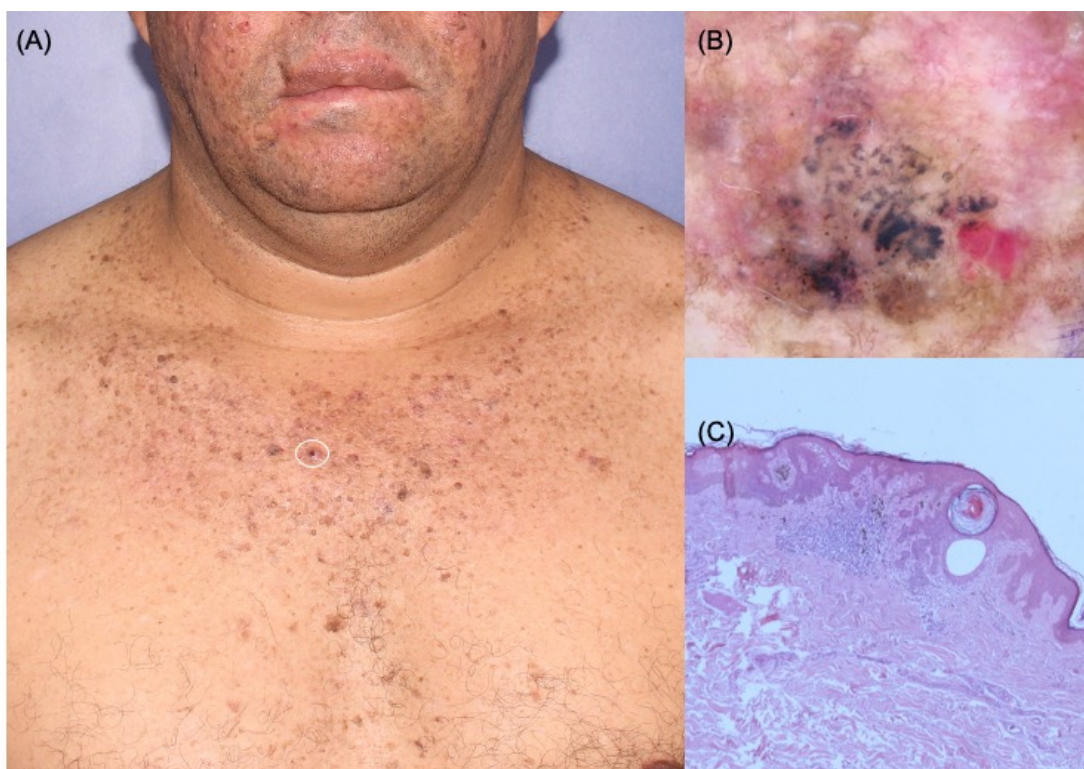


Figura 3 - Aspecto clínico (A), dermatoscópico (B) e histológico (C) de lesão benigna excisada a pedido do paciente e teve o diagnóstico histológico de queratose seborreica

Quarenta lesões foram classificadas como malignas pela MCR e foram excisadas. A avaliação anatomopatológica demonstrou que 33 lesões (54% do total) foram diagnosticadas como malignas (14 melanomas, 15 CBC e 4 CEC). Dos 14 melanomas, 13 lesões eram *in situ* (sendo 9 destes do subtipo lentigo maligno) e 1 melanoma tinha uma espessura de Breslow de 0,2 mm. As 7 lesões restantes que foram classificadas como malignas por MCR tiveram os seguintes diagnósticos histopatológicos: 5 lesões eram hiperplasias melanocíticas atípicas, 1 lesão era um nevo melanocítico juncional associado a queratose actínica e 1 lesão era um nevo juncional displásico com incontinência pigmentar. **Tabela 3**

A presença de hiperpigmentação perifolicular assimétrica foi a característica dermatoscópica mais comum nas lesões malignas (80% das 33 lesões malignas) e foi significativamente relacionada à malignidade (OR: 5,0 [IC 95%: 1,6-16,2], $p = 0,007$). Das lesões benignas, 12 lesões (44%) apresentavam hiperpigmentação perifolicular assimétrica. A presença de pontos e glóbulos irregulares foi associada a uma probabilidade 6,2 vezes maior de malignidade cutânea (OR: 6,2 [IC 95%: 1,2-32,7], $p = 0,031$). Os seguintes critérios para o melanoma ⁴³ também foram relacionados à malignidade cutânea: hiperpigmentação perifolicular assimétrica (OR: 3,2 [IC 95%: 1,1-9,6], $p = 0,037$) e obliteração folicular (OR: 4,1 [IC 95%: 1,3-12,6], $p = 0,015$). 80% (24/33) das lesões malignas tinham um *score* para lentigo maligno na dermatoscopia, previamente descrito por Lallas et al. ⁴⁶, ≥ 1 , que foi associado a uma probabilidade 4 vezes maior de malignidade cutânea (OR: 4,0 [IC 95%: 1,2-13,0], $p = 0,021$). 50% (13/28) das lesões benignas tinham um *score* para lentigo maligno ⁴⁶ < 1 ($p: 0,018$).

Hiperpigmentação perifolicular assimétrica (OR: 4,4 [IC 95%: 1,1-18,3], $p = 0,039$), padrão anular-granular (OR: 5,0 [IC 95%: 1,3-18,8], $p = 0,017$) e áreas romboidais pigmentadas (OR: 4,3 [IC 95%: 1,2-15,3], $p = 0,026$) à dermatoscopia foram relacionados ao diagnóstico de melanoma. **Tabela 4 e Figuras 4 e 5.**



Figura 4 - Exemplo de melanomas *in situ* (círculos pretos) em paciente com xeroderma pigmentoso. As lesões apresentam à dermatoscopia hiperpigmentação assimétrica (setas amarelas), padrão anular-granular e glóbulos assimétricos (setas azuis)

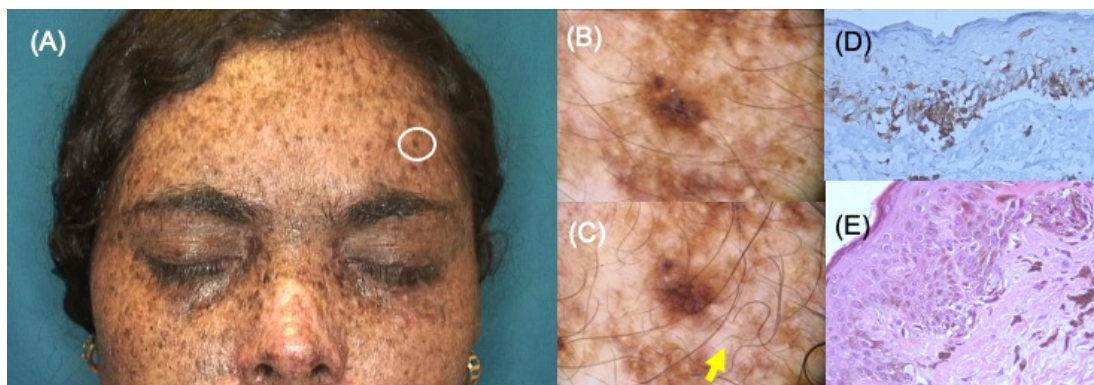


Figura 5 - Exemplo de um melanoma *in situ* (círculo branco) em paciente com xeroderma pigmentoso. A lesão sofreu alteração dermatoscópica no monitoramento em 6 meses. A lesão apresentou crescimento e surgimento de área com aspecto de regressão com pontos aczentados (seta amarela). **A.** Imagem clínica; **B.** Imagem dermatoscópica na visita inicial; **C.** Imagem dermatoscópica na segunda visita; **D.** Imagem de imunohistoquímica Melan-A evidenciando proliferação de melanócitos atípicos e pagetóides; **E.** Imagem histológica (Hematoxilina-eosina) compatível com o diagnóstico de melanoma *in situ*

Tabela 4 - Características dermatoscópicas das lesões dos pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

CARACTERÍSTICAS		ASPECTOS DERMATOSCÓPICOS RELACIONADOS À MALIGNIDADE		ASPECTOS DERMATOSCÓPICOS RELACIONADOS AO MELANOMA	
		Regressão logística univariada OR (CI 95%)	Valor de P	Regressão logística univariada OR (CI 95%)	Valor de P
Rede atípica	Presente	0,5 (0,2-1,4)	.160	2,3 (0,7-7,7)	.195
Borrão assimétrico	Presente	5,0(1,6-16,2)	.007	4,8 (0,9-23,8)	.058
Hiperpigmentação perifollicular assimétrica	Presente	3,2 (1,1-9,6)	.037	4,4 (1,1-18,3)	.039
Áreas romboidais	Presente	3,2(1,0-10,8)	.059	4,3 (1,2-15,3)	.026
Obliteração das aberturas foliculares	Presente	4,1(1,3-12,6)	.015		
Aberturas foliculares não evidentes	Presente	2,4 (0,8-7,0)	.111		
Cor cinza	Presente	2,4 (0,8-6,9)	.118	2,8 (0,7-10,2)	.130
Glóbulos e pontos irregulares	Presente	6,2 (1,2-32,7)	.031	3,1 (0,9-10,7)	.076
Score para lentigo maligno ⁴⁶	≥1	4,0 (1,2-13,0)	.021		
Múltiplas cores (5-6)				2,9 (0,7-11,1)	.130
Padrão anular-granular				5,0 (1,3-18,8)	.017
Padrão em alvo				5,5 (0,8-36,8)	.082

OR: *odds ratio*; CI95%: confidence interval 95%.

Todas as 15 lesões que tiveram o diagnóstico histológico de CBC eram pigmentadas nesta análise: 86,7% (13/15) apresentavam glóbulos e pontos irregulares, 73,3% (11/15) apresentavam hiperpigmentação perifolicular assimétrica e 60% (9/15) apresentavam a cor cinza. Uma lesão apresentou vasos arborizantes visíveis típicos de CBC à dermatoscopia, e 1 lesão apresentou ulceração. **Tabela 5 e Figura 6**

Tabela 5 - Aspectos dermatoscópicos descritos para carcinomas basocelulares observados nas lesões benignas, em todas as lesões malignas e nos carcinomas basocelulares isoladamente em pacientes com xeroderma pigmentoso

CARACTERÍSTICAS	Lesões Benignas N= 28(%)	Lesões malignas N= 33(%)	Carcinomas Basocelulares N= 15(%)	Total N=61 (%)
Vasos arboriformes/ telangectásicos	1 (3,7)	1 (3,3)	1 (6,7)	2 (3,5)
Estruturas concêntricas em folha	0	1 (3,3)	1 (6,7)	1 (1,8)
Ninhos ovóides	3 (11,1)	7 (21,2)	7 (46)	10 (16,4)
Múltiplos glóbulos azul-aczentados	7 (25,9)	10 (33,3)	10 (67)	17 (29,8)
Estruturas concêntricas em “roda de carroça”	0	1 (3,3)	1 (6,7)	1 (1,8)
Erosão	2 (7,4)	3 (10,0)	1 (6,7)	5 (8,8)



Figura 6 - Exemplo de carcinoma basocelular que apresentou alteração dermatoscópica no intervalo de 9 meses. A. Imagens clínica e dermatoscópica na visita inicial. B. Imagens clínica e dermatoscópica após 9 meses, mostrando novos glóbulos marrons e aczentados e vasos atípicos

Dos 4 casos diagnosticados como CEC, 2 lesões foram classificadas histopatologicamente como *in situ* e 2 eram superficialmente invasivos. Duas destas lesões eram localizadas na língua e apresentavam-se clinicamente como leucoqueratose com discreta pigmentação sem característica dermatoscópica específica. As outras 2 lesões desenvolveram-se na área retroauricular e na face. A lesão na área retroauricular mimetizou lesões melanocíticas atípicas pela dermatoscopia, mostrando uma imagem irregular pigmentada em forma de rede, manchas assimétricas e pontos irregularmente distribuídos (**Figura 7**). A lesão na face apresentava características dermatoscópicas clássicas de CEC³⁶: superfície escamosa, ulceração e vasos glomerulares.

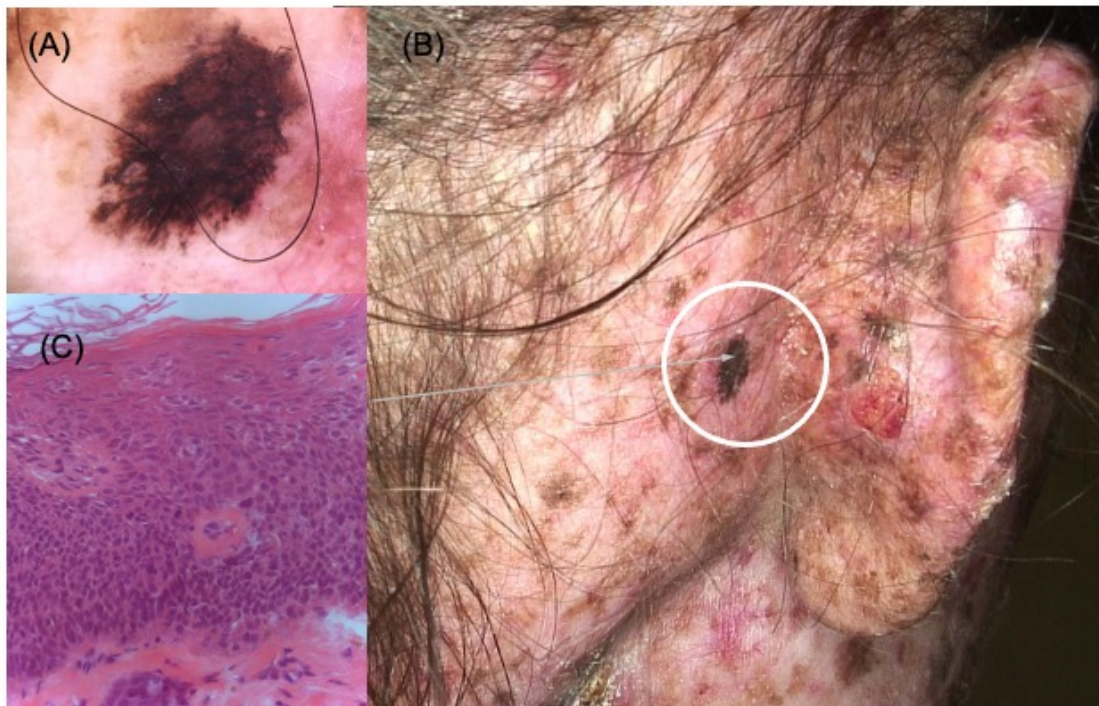


Figura 7 - Exemplo de carcinoma espinocelular em paciente com xeroderma pigmentoso. A lesão apareceu como nova no seguimento do mapeamento fotográfico corporal, apresentando à dermatoscopia aspecto de rede atípica, glóbulos marrons e borrões excêntricos. **A.** Imagem dermatoscópica da lesão; **B.** Imagem clínica; **C.** Imagem histológica (Hematoxilina-eosina) compatível com o diagnóstico de Doença de Bowen (carcinoma espinocelular *in situ*)

Dos pacientes com um subtipo XP conhecido (11/13) em nossa amostra, as lesões tipo CBC e CEC estavam presentes apenas em pacientes com XPC, e as lesões tipo melanoma cutâneo estavam presente em todos os subtipos (XPA, XPC, XPD e XP-V).

8.4 DISCUSSÃO

A presença de intenso dano actínico nos pacientes XP, com presença de múltiplas lesões pigmentadas, dificulta o diagnóstico clínico de tumores cutâneos, tornando-se de muito valor a introdução de técnicas não invasivas para o acompanhamento destes pacientes.

Nosso estudo demonstrou que a maioria das características dermatoscópicas sugestivas de malignidade relatadas na população em geral também estavam presentes em pacientes com XP, de acordo com o que Malvey et al. ⁴² descreveram anteriormente. Na nossa casuística, hiperpigmentação perifolicular assimétrica, padrão anular-granular e presença de áreas romboidais à dermatoscopia estavam estatisticamente associados ao melanoma nos pacientes XP. Estes padrões foram descritos previamente para a população geral como característica do melanoma tipo lentigo maligno, subtipo histológico predominante na nossa casuística.

A sensibilidade encontrada para o *score* para lentigo maligno ⁴⁶ em nossa série foi menor em comparação ao descrito por Lallas et al. ⁴⁶. (80% e 92,9%, respectivamente), mas as especificidades foram semelhantes (50% e 55,4%,

respectivamente). O *score* para lentigo maligno $^{46} \geq 1$ foi um preditor de malignidade cutânea em nosso estudo.

Green et al. ⁴⁷ relataram o uso da abordagem tripla durante o acompanhamento de um paciente com XP, compreendendo exame cutâneo de corpo inteiro, mapeamento fotográfico corporal e dermatoscopia digital. Concordamos que a melhor abordagem para o acompanhamento de pacientes com XP inclui todas estas análises não invasivas. Estes autores relataram que o melanoma mais espesso em sua série foi de índice de Breslow 1,07 mm e que a espessura média dos tumores tipo melanoma foi 0,18 mm. A maioria dos melanomas em nossa amostra era *in situ*, e apenas 1 melanoma tinha espessura de Breslow de 0,2 mm. Sugerimos que nossa abordagem de combinar o exame cutâneo de corpo inteiro, TBP e dermatoscopia a cada 3 meses, melhorará a detecção precoce de melanoma em pacientes com XP.

Em nossa série, a maioria das lesões de CBC apresentava glóbulos e pontos pigmentados (marrom, azulado e cinza); pigmentação em “borrão”, em nossa opinião, continuam sendo um desafio na diferenciação de CBC de melanoma pela dermatoscopia. As características típicas do CBC como vasos arboriformes e brilho perláceo foram difíceis de caracterização pela presença da poiquilodermia e, provavelmente também relacionadas à intensidade da pigmentação (pacientes com fototipo alto) e a questões técnicas (a análise retrospectiva não permite a visualização *in vivo* dos vasos).

Em nosso estudo, incluímos poucas lesões que se apresentavam como CEC. Provavelmente, a maioria das lesões de CEC iniciais foram tratadas sem incluí-las no mapeamento fotográfico corporal. Uma das lesões de nossa casuística assemelhava-se

ao melanoma dermatoscopicamente, apresentando uma imagem semelhante a uma rede pigmentada atípica, borões e glóbulos marrons. Esta lesão originou-se de um paciente XP com intenso dano actínico, e o diagnóstico histopatológico foi doença de Bowen pigmentada (CEC in situ) (**Figura 6**). Malvey et al.⁴² propuseram que em pacientes com XP, a presença generalizada de lentigo actínico deve ser considerada na diferenciação de tumores melanocíticos e não melanocíticos. Em nossa opinião, a dermatoscopia pode ajudar a distinguir neoplasias malignas de lesões pigmentadas por dano actínico, como lentigos solares e a poiquilodermia, mas, em certos casos, essa diferenciação é difícil; assim, a inclusão de outra técnica não invasiva, como a MCR, pode ser valiosa, como demonstraremos posteriormente.

Nosso estudo teve várias limitações. O número de lesões avaliadas foi limitado. A maioria das lesões benignas não teve avaliação histológica e foi acompanhada por técnicas não invasivas. Os casos foram avaliados retrospectivamente.

Descrevemos neste estudo as principais características dermatoscópicas relacionadas à malignidade e ao melanoma em pacientes XP. A presença de hiperpigmentação perifolicular assimétrica foi um fator de risco para malignidade (CBC, CEC e melanoma) e para o diagnóstico de melanoma. Descrevemos também que o *score* para lentigo maligno⁴⁶ foi útil na diferenciação de lesões benignas e malignas, considerando que a maioria das lesões em nossa série estavam localizadas na face e pescoço e os melanomas foram classificados em sua maioria pelo exame histológico como lentigo maligno.

Em pacientes XP, é difícil discriminar clinicamente lesões pigmentadas benignas de tumores cutâneos malignos. Técnicas não invasivas na análise de lesões

cutâneas podem reduzir o número de excisões desnecessárias e promover a detecção precoce dos tumores cutâneos, considerando ainda que a população XP é composta em sua maioria por crianças com múltiplas lesões suspeitas de malignidade. Recomendamos para o seguimento dos pacientes XP a associação do seguimento clínico ao uso do mapeamento fotográfico corporal e da dermatoscopia digital e, embora desafiador, os critérios dermatoscópicos previamente descritos para a população em geral podem ser úteis na diferenciação de lesões benignas e malignas em pacientes XP.

9 ARTIGO PUBLICADO 2

9 ARTIGO PUBLICADO 2

> [J Am Acad Dermatol](#). 2020 Dec;83(6):1668-1673. doi: 10.1016/j.jaad.2019.12.018.
Epub 2019 Dec 14.

In vivo confocal microscopy of dermoscopic suspicious lesions in patients with xeroderma pigmentosum: A cross-sectional study

Lilian Rocha ¹, Paula Silva Ferreira ², João Avancini ², Silvia Lourenço ²,
Caroline de Freitas Barbosa ², Caroline Colacique ², Cyro Festa-Neto ²

Affiliations + expand

PMID: 31846715 DOI: [10.1016/j.jaad.2019.12.018](#)

Abstract

Background: Xeroderma pigmentosum (XP) is a rare genetic disease characterized by extreme photosensitivity, resulting in a higher incidence of cutaneous tumors. Reflectance confocal microscopy (RCM) is a noninvasive imaging method for diagnosing cutaneous lesions.

Objective: To explore the application of RCM in the follow-up of patients with XP.

Methods: Patients with XP underwent RCM for suspicious lesions from January 2010 through April 2019. Lesions with malignant RCM features were excised, and the results were compared with their histopathologic features. Benign lesions on RCM were monitored every 3 months. We recorded the confocal features that were related to malignancy and specifically to melanoma.

Results: A total of 61 suspicious lesions from 13 patients with XP were included. Thirty-three lesions (54%) were malignant (14 melanomas, 15 basal cell carcinomas, and 4 squamous cell carcinomas). Nonvisible papillae (OR, 11.8; 95% CI, 2.6-53.1; P = .001) and atypical cells at the dermoepidermal junction (OR, 11.7; 95% CI, 2.7-50.3; P = .001) were independent predictors of malignancy.

Limitations: There were limited numbers of patients and lesions. Most cases were retrospectively included, and some did not have a histologic analysis.

Conclusions: RCM is a valuable tool in the follow-up of patients with XP, reducing the need for excisions by 35%.

9.1 INTRODUÇÃO

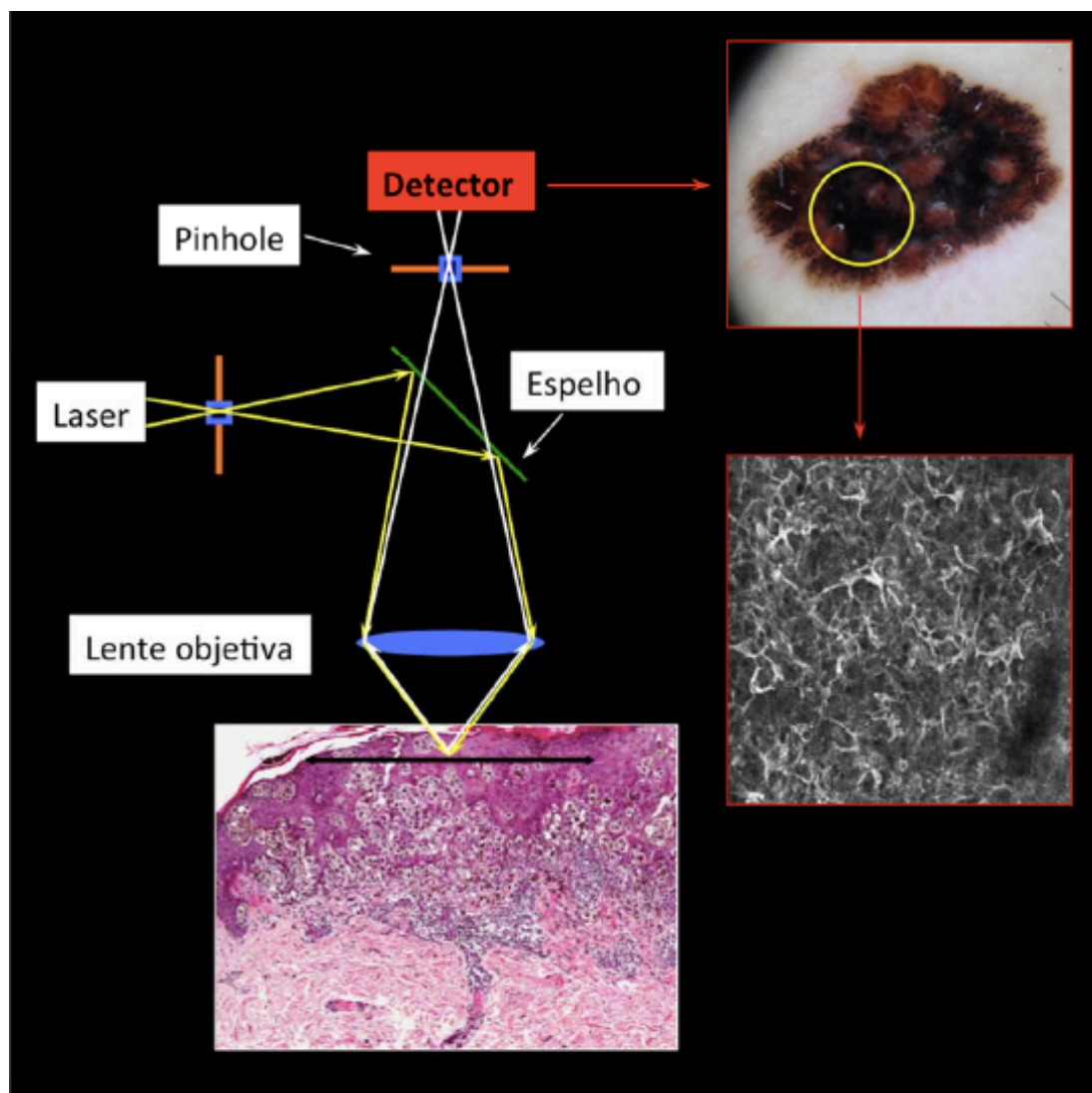
O diagnóstico precoce dos tumores de pele é de extrema importância para a população geral, mas principalmente para pacientes com múltiplos tumores e na faixa etária infantil, como ocorre no XP.

Nosso primeiro estudo permitiu aumentarmos a sensibilidade para o diagnóstico dos tumores cutâneos associando ao exame clínico o exame de dermatoscopia digital, mas ainda precisávamos elevar nossa acurácia no exame dermatológico para diminuirmos o número de lesões excisadas. Assim, introduzimos o uso do exame de microscopia confocal de reflectância para lesões suspeitas à dermatoscopia digital nesta população.

9.2 MÉTODOS

9.2.1 Microscopia confocal de reflectância

O princípio da microscopia confocal de reflectância de reflectância (MCR) envolve o uso de uma fonte pontual de luz que ilumina um pequeno pedaço de tecido. A luz refletida é então fotografada em um detector após passar através de um pequeno orifício (pinhole), que previne que a luz fora de foco atinja o detector. Isto significa que nesta técnica apenas a região que está em foco será fotografada, daí o termo confocal. **Figura 8**



FONTE: Ilustração de Munhoz T. 2019.

Figura 8 - Esquema ilustrativo dos princípios físicos da microscopia confocal de reflectância

Para criar uma imagem de todo o plano da amostra a ser estudada, a fonte de luz pontual é digitalizada, o que permite o seccionamento virtual de planos horizontais de tecido *in vivo*. A resolução da MCR depende do tamanho do orifício, da abertura numérica da lente objetiva e do comprimento de onda utilizado. Comprimentos de onda maiores penetram mais profundamente na pele, entretanto, apresentam menor resolução lateral. Comprimentos de onda próximos do infravermelho produzem um

forte retroespelhamento dos melanossomos, apesar da absorção de melanina, porque eles possuem um alto índice de refração relativo à epiderme adjacente e têm um tamanho semelhante ao do comprimento de onda. Isto significa que se a célula contém melanina, como os queratinócitos basais e os melanócitos, sua imagem é brilhante. Quanto mais escura for a pele ou se a lesão for pigmentada mais contraste será obtido.

A versão comercialmente disponível consiste em um microscópio confocal de comprimento de onda de 830 nm e lentes objetivas de 0,9 NA e aumento de 30x, que capta imagens a uma resolução lateral de 0,5 μm e resolução axial de 3 a 5 μm . Com este sistema, é possível captar imagens de pele normal a uma profundidade de 200 a 250 μm , com intervalos de 4 a 5 μm , o que é suficiente para gerar imagens da epiderme e de parte da derme, que incluem derme papilar e derme reticular superficial. Imagens de partes mais profundas da derme podem ser obtidas se utilizarmos uma energia maior do laser, entretanto, neste sistema, a energia é inferior à 30 mW e por isso não causa dano ocular e nem à pele.

Lentes de imersão em água são utilizadas já que o índice de refração da água é próximo do da epiderme e minimiza aberrações esféricas causadas pela passagem da luz através da interface água-tecido. É possível também fazer uso de géis a base de água como meio de imersão, já que eles podem reduzir irregularidades na refração, especialmente se o local examinado não for plano, já que o gel não escorre pela pele da mesma forma que a água. Um dispositivo de contato com a pele composto por um anel de metal que se acopla ao microscópio por magnetismo é utilizado para manter a água ou gel imóveis enquanto captam-se as imagens e assim reduzir possíveis artefatos.

Mudando as lentes objetivas no plano vertical à pele é possível capturar imagens em níveis horizontais, já que o foco muda progressivamente para as partes mais profundas do tecido. Pode-se então obter imagens horizontais e subsequentes da pele bem como gravar pequenos vídeos, nos quais é possível demonstrar eventos dinâmicos como o fluxo sanguíneo.

No momento existem quatro versões do aparelho de microscopia confocal in vivo: o Vivascope 1500, Vivascope 1500 multilaser, Vivascope 2500 e Vivascope 3000. Para este estudo, utilizamos os equipamentos Vivascope 1500 e Vivascope 3000 disponíveis no Departamento de Dermatologia do HCFMUSP.

A análise por MCR foi baseada em critérios microscópicos para melanoma descritos previamente por Pellacani et al. ⁴¹ e Guitera et al. ⁴⁸, e os *scores* descritos para melanoma ⁴¹ e para o lentigo maligno ⁴⁸ foram calculados para cada lesão. Critérios microscópicos para o carcinoma basocelular (CBC) por Guitera et al. ⁴⁹ e Longo et al. ⁵⁰ e para o carcinoma espinocelular (CEC) por Manfredini et al. ⁵¹ e Shahriari et al. ⁵² foram incluídos neste estudo.

9.2.2 Pacientes e lesões incluídas no estudo

Foram incluídas neste estudo 61 lesões suspeitas de malignidade pela dermatoscopia e pelo mapeamento fotográfico corporal de 13 pacientes XP, como descrito no estudo anterior. Este foi um estudo longitudinal realizado no Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas de São Paulo de janeiro de 2015 a abril de

2019. O estudo teve aprovação pelo comitê de ética nacional (CEP - CAAE: 98968918.0.0000.0068, número: 3.163.255).

9.2.3 Análise estatística

Para a análise estatística deste estudo foi utilizado o software estatístico SPSS v.25 for Windows ©). O teste qui-quadrado de Pearson e teste exato de Fisher foram calculados para testar associação entre variáveis qualitativas. O cálculo do OR e seu respectivo intervalo de confiança de 95% foi realizado pela regressão logística. A partir dos OR's univariados e considerando a frequência de casos nas variáveis que resultaram com $p < 0,05$ foram construídos os modelos de regressão logística múltipla. O nível de significância adotado foi de 5%.

9.3 RESULTADOS

Um total de 61 lesões suspeitas de 13 pacientes com XP foram incluídas neste estudo, como descrito anteriormente. **Tabela 3**

Como critérios por MCR que foram estatisticamente associados à malignidade cutânea tivemos: desarranjo epidérmico (OR: 10,0 [IC 95%: 2,0-50,6], p : 0,005), papilas não visualizadas (OR: 12,0 [IC 95%: 3,3-43,3], $p < 0,001$), células atípicas na junção dermoepidérmica (JDE) (OR: 11,8 [IC de 95%: 3,4-40,8], $p < 0,001$), distribuição de células brilhantes na JDE (OR: 5,0 [IC de 95%: 1,7-14,9], p : 0,004), presença de células atípicas nucleadas na derme superficial (OR: 25,4 [IC 95%: 3,1-209,5], p : 0,003), presença de células pleomórficas (OR: 9,4 [IC 95%: 2,9-30,2], p

<0,001), e vasos lineares horizontalizados na derme superficial (OR: 8,6 [IC 95%: 1,0-74,1], p = 0,049). A presença de melanófagos (OR: 0,2 [IC 95%: 0,1-0,6], p = 0,005) e a presença de "cordões celulares" - papilas policíclicas- (OR: 0,2 [IC 95%: 0,1- 0,8], p = 0,019) foram inversamente associados à malignidade cutânea. **Tabela 6**

Tabela 6 - Critérios de microscopia confocal das lesões segundo presença de malignidade em pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

Critério	Univariado OR (IC95%)	Valor de p
Rede pigmentar atípica		
Presente	0,5 (0,2-1,4)	0,160
Borrão assimétrico		
Presente	5,0 (1,6-16,2)	0,007
Hiperpigmentação perifolicular assimétrica		
Presente	3,2 (1,1-9,6)	0,037
Pigmentação romboidal		
Presente	3,2 (1,0-10,8)	0,059
Obliteração folicular		
Presente	4,1 (1,3-12,6)	0,015
Folículos evidentes		
Presente	2,4 (0,8-7,0)	0,111
Cor cinza		
Presente	2,4 (0,8-6,9)	0,118
Glóbulos, pontos e/ou estrias distribuídas assimetricamente		
Presente	6,2 (1,2-32,7)	0,031
Score para lentigo maligno		
≥1	4,0 (1,2-13,0)	0,021
Papilas não visualizadas		
Presente	12,0 (3,3-43,3)	<0,001
Atipia celular na JDE		
Presente	11,8 (3,4-40,8)	<0,001
Células pagetóides arredondadas		
Presente	6,0 (0,7-53,2)	0,108

continua

Tabela 6 (conclusão) - Critérios de microscopia confocal das lesões segundo presença de malignidade em pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

Critério	Univariado OR (IC95%)	Valor de p
Score por MCR para melanoma ≥2	11,8 (3,4-40,8)	<0,001
Pleomorfismo celular		
Moderado	2,8 (0,9-8,7)	0,078
Intenso	9,3 (0,9-96,0)	0,061
Tamanho dos melanócitos		
Tamanho dos queratinócitos	0,2 (0,1-0,99)	0,049
Maiores que os queratinócitos	1,3 (0,3-5,5)	0,676
Desarranjo epidérmico		
Presente	10,0 (2,0-50,6)	0,005
Melanófagos		
Presente	0,2 (0,1-0,6)	0,005
Papilas mal delimitadas		
Presente	2,6 (0,8-8,7)	0,114
Acometimento dérmico		
Presente	25,4 (3,1-209,5)	0,003
Distribuição dos melanócitos		
Presente	5,0 (1,7-14,9)	0,004
Distribuição do pigmento		
Presente	2,3 (0,8-6,6)	0,120
Cord-like		
Presente	0,2 (0,1-0,8)	0,019
Score por MCR para lentigo maligno ≥2	2,4 (0,8-7,5)	0,136
Pleomorfismo		
Presente	9,4 (2,9-30,2)	<0,001
Aumento dos vasos e horizontalização		
Presente	8,6 (1,0-74,1)	0,049

OR: *odds ratio*; IC95%: intervalo de confiança de 95%.

Os aspectos por MCR que foram estatisticamente associadas a um diagnóstico de melanoma foram: presença de células pagetóides (OR: 5,9 [IC 95%: 1,1-30,5], $p = 0,035$), acometimento anaxial (OR: 9,0 [IC 95%: 1,4-56,1], $p = 0,019$), presença de células atípicas na JDE (OR: 5,3 [IC 95%: 1,1-26,2], $p = 0,042$), presença de ninhos de melanócitos (OR: 18,4 [IC 95%: 1,9-182,7], $p = 0,013$), distribuição irregular da células brilhantes (OR: 9,7 [IC 95%: 1,9-48,3], $p = 0,006$) e distribuição irregular da pigmentação (OR: 5,3 [IC 95%: 1,1-26,2], $p = 0,042$). A sensibilidade e a especificidade para o diagnóstico do melanoma segundo o *score* na MCR para melanoma foram 85,7% e 46,8% e segundo o *score* na MCR para lentigo maligno⁴⁸ foram 57,1% e 76,6%, respectivamente. **Tabela 7**

Tabela 7 - Critérios dermatoscópicos das lesões segundo presença de melanoma maligno em pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

Critério	Univariado OR (IC95%)	Valor de p
Múltiplas cores		
Presente	2,9 (0,7-11,1)	0,130
Rede pigmentar atípica		
Presente	2,3 (0,7-7,7)	0,195
Múltiplos pontos marrons		
Presente	3,1 (0,9-10,7)	0,076
Borrão assimétrico		
Presente	4,8 (0,9-23,8)	0,058
Hiperpigmentação perifolicular assimétrica		
Presente	4,4 (1,1-18,3)	0,039
Annular-granular pattern		
Presente	5,0 (1,3-18,8)	0,017
Pigmentação romboidal		
Presente	4,3 (1,2-15,3)	0,026

continua

Tabela 7 (conclusão)- Critérios dermatoscópicos das lesões segundo presença de melanoma maligno em pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

Critério	Univariado OR (IC95%)	Valor de p
Padrão alvo		
Presente	5,5 (0,8-36,8)	0,082
Cor cinza		
Presente	2,8 (0,7-10,2)	0,130
Múltiplos glóbulos azul-acizentados		
Presente	0,13 (0,02-1,09)	0,060
Papilas mal delimitadas		
Presente	3,2 (0,9-11,4)	0,078
Atipia celular na JDE*		
Presente	5,3 (1,1-26,2)	0,042
Células pagetóides arredondadas		
Presente	5,9 (1,1-30,5)	0,035
Células nucleadas no interior da papila		
Presente	25,6 (2,7-245,6)	0,005
Score por MCR para melanoma		
≥ 2	5,3 (1,1-26,2)	0,042
Tamanho dos melanócitos		
Tamanho dos queratinócitos	0,9 (0,1-6,2)	0,915
Maiores que os queratinócitos	3,6 (0,7-19,9)	0,142
Ninhos celulares		
Presente	18,4 (1,9-182,7)	0,013
Acometimento anaxial		
Presente	9,0 (1,4-56,1)	0,019
Células pagetóides		
Presente e esparsas	6,6 (1,0-44,9)	0,054
Abundantes	4,4 (0,3-76,5)	0,309
Papilas mal delimitadas		
Presente	5,6 (1,6-20,3)	0,008
Distribuição dos melanócitos		
Presente	9,7 (1,9-48,3)	0,006
Distribuição do pigmento		
Presente	5,3 (1,1-26,2)	0,042
Score por MCR para lentigo maligno		
≥ 2	4,4 (1,2-15,3)	0,021

OR: *odds ratio*; IC95%: intervalo de confiança de 95%.

*JDE: junção dermoepidérmica

A análise das lesões de CBC mostrou que a maioria das características por MCR descritas anteriormente para a população geral^{49, 50} estavam presentes nessas lesões e foram estatisticamente associadas a um diagnóstico de CBC: células grandes e brilhantes (“*plump-bright cells*”) (OR: 60,5 [IC 95%: 9,8-373,9], $p < 0,001$), presença de sombreamento epidérmico (OR: 33,0 [IC 95%: 5,7-190,6], $p < 0,001$), silhueta escura e fissuras (OR: 44,0 [IC 95%: 7,4-260,3], $p < 0,001$), presença de vasos horizontalizados na derme superficial (OR: 19,3 [IC 95%: 3,4-110,0], $p = 0,001$) e paliçada periférica (polarização das células) (OR: 11,0 [IC 95%: 1,9-65,1], $p = 0,08$). Das 15 lesões de CBC incluídas, 40% (6/15) foram relatadas histologicamente como pigmentadas. À dermatoscopia, todas as lesões de CBC eram pigmentadas: 86,7% (13/15) apresentavam glóbulos e pontos irregulares, 73,3% (11/15) apresentavam mancha assimétrica e 60% (9/15) eram cinza.

Alguns casos de melanoma mostraram características por MCR que se assemelham a CBC: 2 casos (14,3%) apresentaram desarranjo epidérmico, células grandes e brilhantes (“*plump-bright cells*”), paliçada periférica, silhueta escura e fenda, e 1 caso (7%) mostrou vasos horizontalizados na derme superficial.

Entre os 4 casos de CEC, 2 lesões eram *in situ* e 2 eram superficialmente invasivas pela histologia. Todos os casos de CEC apresentaram desarranjo epidérmico e vasos glomerulares na derme superficial, 3 casos apresentaram inflamação e 2 casos erosão e células dendríticas intratumorais.

Todas as 61 lesões neste estudo eram lesões suspeitas inicialmente à dermatoscopia. Todas teriam sido removidas se não fossem avaliadas por MCR. Apenas as lesões suspeitas no exame de MCR (total de 40/61) foram excisadas e

submetidas ao exame histológico. Uma lesão benigna foi excisada a pedido do paciente e teve o diagnóstico histológico de queratose seborreica. As 20 lesões restantes não foram excisadas e foram monitoradas por dermatoscopia e MCR a cada 3-6 meses. Durante o acompanhamento, essas lesões não apresentaram alterações e foram classificadas como benignas com tempo de seguimento médio de 17 meses, (intervalo: 5-324 meses). Portanto, temos que a intervenção por MCR reduziu em 35% o número de lesões excisadas. Imagens ilustrativas dos casos avaliados na **Figura 9**.

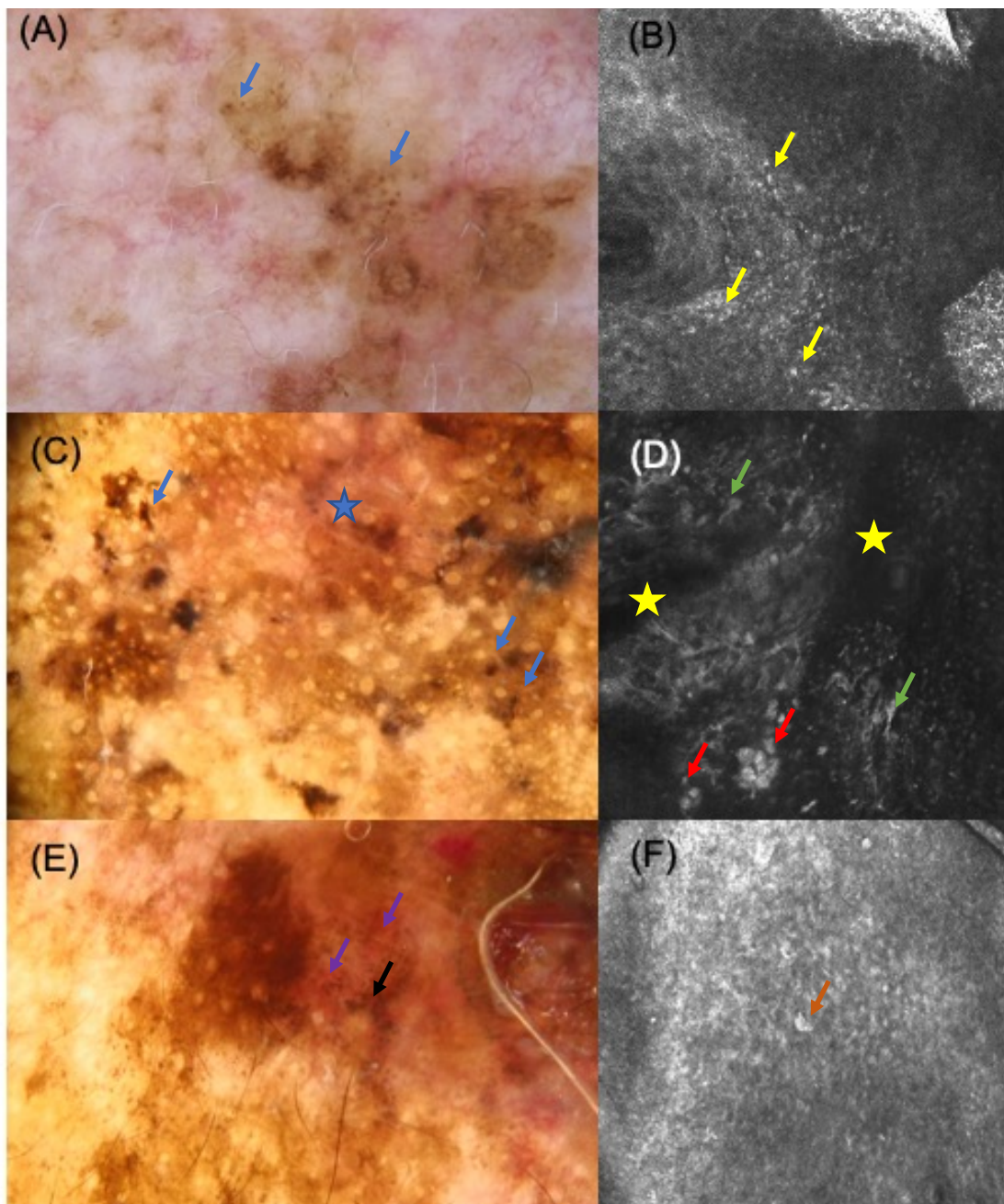


Figura 9 - Exemplo de lesões suspeitas durante seguimento de pacientes com xeroderma pigmentoso. **A.** Imagem dermatoscópica de lesão benigna apresentando pigmentação atípica com presença de glóbulos e pontos assimétricos (setas azuis). **B.** Imagem por microscopia confocal mostrando pequenas células brilhantes monomórficas (setas amarelas) sem células atípicas na junção dermo-epidérmica. **C.** Imagem dermatoscópica de um carcinoma basocelular mostrando pseudorede atípica, glóbulos e pontos assimétricos (setas azuis), cor azul-azimentada e área vermelho-leitosa (estrela azul). **D.** Imagem por microscopia confocal mostrando células acantolíticas grandes e brilhantes (setas vermelhas), além de células dendríticas (setas verdes), silhuetas escuras (estrelas amarelas), fissuras e ilha tumoral. **E.** Imagem dermatoscópica de um melanoma com hiperpigmentação perifolicular assimétrica, padrão anular-granular (seta preta), pontos finos acimentados e realce das estruturas vasculares (setas roxas). **F.** Imagem por microscopia confocal mostrando desarranjo

epidérmico (padrão em favor de mel atípico) e células grandes ($>20\mu$) irregulares na epiderme, que correspondem a células pagetóides (seta laranja).

9.3.1 Análise Multivariada

O modelo de regressão logística multivariada mostrou que à MCR, papilas não visíveis (OR: 11,8 [IC 95% 2,6-53,1], p: 0,001) e células atípicas na JDE (OR: 11,7 [IC 95% 2,7-50,3], p: 0,001) foram preditores independentes de malignidade. A presença de melanófagos foi um critério independente inversamente relacionado à malignidade (OR: 0,13 [IC 95% 0,02-0,79], p: 0,027). **Tabela 8**

Tabela 8 - Fatores associados com malignidade e melanoma maligno em pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

CRITÉRIO	MÚLTIPLO OR (IC95%)	VALOR DE p	HOSMER-LEMESHOW [§]	VALOR DE p
MALIGNIDADE				
<i>Modelo 1</i>			1,145	0,564
Papilas não visualizadas				
Presente	11,8 (2,6-53,1)	0,001		
Atipia celular na JDE*				
Presente	11,7 (2,7-50,3)	0,001		
<i>Modelo 2</i>			1,645	0,896
Papilas não visualizadas				
Presente	6,6 (1,3-34,7)	0,025		
Atipia celular na JDE*				
Presente	22,6 (3,8-134,1)	0,001		
Melanófagos				
Presente	0,13 (0,02-0,79)	0,027		
<i>Modelo 3</i>			0,276	0,871
Atipia celular na JDE*				
Presente	29,1 (5,2-162,3)	<0,001		
Melanófagos				
Presente	0,06 (0,01-0,36)	0,002		
MELANOMA MALIGNO				
Padrão Anular-granular				
Presente	5,0 (1,3-18,8)	0,017	NA	NA

NA: não avaliável; OR: *odds ratio*; IC95%: intervalo de confiança de 95%. § Teste de ajuste do modelo sob a hipótese nula que o modelo é bom.

*JDE: junção dermoepidérmica

9.4 DISCUSSÃO

Descrevemos neste estudo aspectos à microscopia confocal de reflectância (MCR) relacionadas a lesões suspeitas em pacientes com XP. Como esperado, nossa amostra de pacientes apresentava grave dano induzido pelo sol com múltiplas lesões hiperpigmentadas, hipopigmentadas e escamosas, dificultando o diagnóstico clínico de malignidade cutânea. Já discutimos anteriormente a importância de associarmos ao exame clínico técnicas não invasivas que auxiliam no diagnóstico precoce dos tumores cutâneos nesta população. No entanto, além de aumentar a sensibilidade para o diagnóstico dos tumores, este estudo avaliou o impacto na especificidade do diagnóstico dos tumores cutâneos associando a MCR na avaliação desta população.

Já é descrito que a dermatoscopia, o mapeamento fotográfico corporal e a MCR aumentam a acurácia do diagnóstico de tumores cutâneos, particularmente o melanoma³⁹⁻⁴¹. Sugerimos que a combinação dessas ferramentas não invasivas deve também ter impacto no seguimento dos pacientes XP.

O principal diagnóstico diferencial do melanoma no nosso estudo foi o CBC pigmentado. A maioria das lesões de CBC apresentavam à dermatoscopia glóbulos e pontos irregulares, imagens em borrões assimétricos e coloração cinza, dificultando a diferenciação clínica desses dois diagnósticos. A MCR foi uma ferramenta importante para diferenciar o melanoma do CBC pigmentado neste estudo. As características por MCR que foram descritas para CBC^{49,50} na população geral também foram observadas

na população XP. Além disso, pleomorfismos celular e vasos lineares horizontais foram preditores de malignidade, mas não de melanoma.

A sensibilidade para o diagnóstico de melanoma do *score* na MCR para melanoma ⁴¹ nesta série foi menor em comparação com o descrito por Pellacani et al. ⁴¹ (85,7% e 96,3%, respectivamente), assim como a especificidade (46,8% vs 52,1%). No entanto, Pellacani et al. ⁴¹ descreveram o *score* apenas para lesões melanocíticas na população em geral, contrastando com a inclusão neste estudo de lesões melanocíticas e não melanocíticas.

Neste estudo, a sensibilidade para o diagnóstico dos tumores cutâneos com o uso da MCR foi de 100% (todos os 33 casos de malignidade foram diagnosticados corretamente pela MCR), com um valor preditivo positivo de 82,5% (7 lesões que foram classificadas como malignas por MCR eram benignas por histologia). O número de excisões foi reduzido em 35%. Notavelmente, os casos falso-positivos (lesões que foram classificadas como malignas pela MCR, mas não foram diagnosticadas como malignas pelo exame histológico) eram lesões com atipia citológica.

Nosso estudo teve algumas limitações já listadas no estudo anterior. A amostra de pacientes com XP foi pequena e o número de lesões malignas também era limitado. A maioria das lesões benignas não passou por avaliação histológica e foi acompanhada por técnicas não invasivas. A maioria dos casos foi avaliada retrospectivamente.

Não há relato na literatura, pelo nosso conhecimento, do uso da MCR na tomada de decisão clínica para pacientes com XP. Demonstramos neste estudo que a MCR, em associação com o exame clínico, o mapeamento fotográfico corporal e a dermatoscopia, em pacientes XP melhora a acurácia do diagnóstico de malignidade,

levando a uma taxa mais baixa de excisões e possivelmente à detecção precoce dos tumores.

10 ARTIGO SUBMETIDO À PUBLICAÇÃO

10 ARTIGO SUBMETIDO À PUBLICAÇÃO

Título: *“Imiquimod chemoprophylaxis for field cancerization in xeroderma pigmentosum patients”*

Autores: Rocha L, Ferreira P, Gianotti MA, Avancini J, Menck C, Castro L, Najjar Z, Rivitti M., Samorano LP, Festa-Neto C.

Divisão de Dermatologia do Hospital das Clínicas HCFMUSP, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, BR.

10.1 INTRODUÇÃO

O xeroderma pigmentoso (XP) é um distúrbio raro de reparo de DNA caracterizado por câncer de pele induzido por radiação ultravioleta (UV) comumente em idades precoces⁵³. Este distúrbio genético leva à formação de áreas conhecidas como campos de cancerização nas regiões expostas ao sol com atipias celulares e arquiteturais que podem evoluir para tumores cutâneos⁵⁴. Clinicamente, esses pacientes apresentam sensibilidade à luz solar, sardas, lesões lentiginosas, elastose solar, pele seca, desde a infância⁵³.

Lambert et al.⁵⁵ propuseram um esquema de progressão para a doença XP. Inicialmente, os pacientes com XP apresentam reparo defeituoso induzido por UV. Então, alguns grupos de complementação XP como A, B, D, F e G, que apresentam um defeito no circuito de reparo de DNA acoplado à transcrição de nucleotídeo,

apresentam episódios de queimadura solar. Os pacientes no grupo de complementação remanescente com defeito na via secundária do NER, XPC e XPE, e o grupo de complementação XP "variante" (XP-V), associado a defeitos na síntese "translesional" do DNA defeituoso, não relatam queimaduras solares agudas, mesmo que ainda apresentem sensibilidade ao sol. No final, todos os grupos XP de complementação podem apresentar áreas de cancerização nas regiões expostas ao sol devido a mutações induzidas em queratinócitos e melanócitos da pele, levando a formação de tumores cutâneos e eventualmente tumores não cutâneos, doença metastática e morte em idade prematura.

Sabe-se que a proteção solar é a principal estratégia de intervenção para pacientes XP, mas muitas vezes insuficiente. Poucos estudos relataram profilaxia com tratamentos em áreas de cancerização para pacientes XP^{55, 56}. Lemberg et al.⁵⁵ apresentaram uma revisão da literatura para as várias modalidades possíveis de quimioprofilaxia em pacientes XP, incluindo imiquimode e terapia fotodinâmica, e relatam 5 casos de pacientes tratados com 5-fluoruracila tópico com boa tolerância e sem ocorrência de tumores locais durante o seguimento de 5 anos nestes pacientes.

Imiquimode é um modificador da resposta imune utilizado para o tratamento de queratose actínica, carcinoma basocelular superficial, verrugas genitais externas e perianais. Ele induz uma série de citocinas pró-inflamatórias na pele, incluindo interferon-alfa (IFN α) e fator de necrose tumoral (TNF), que podem potencializar a resposta imune. Tem sido amplamente utilizado como profilaxia em áreas de cancerização em pacientes da população geral⁵⁷. Para pacientes com XP, o tratamento tópico com imiquimode é limitado a poucos relatos de caso, principalmente relatando

tratamento para carcinomas basocelulares (CBC) ⁵⁸⁻⁶³, com resultados bem-sucedidos e não relataram eventos adversos importantes, mesmo com o uso em crianças. Latour et al. ⁵⁶ relataram 2 casos de pacientes XP tratados com imiquimode tópico, como quimioprofilaxia em campo de cancerização, sem ocorrência de tumor cutâneo na área tratada por 5 anos de acompanhamento. Essa foi uma publicação limitada a 2 relatos de casos, sem análise microscópica das áreas tratadas.

Propomos neste estudo uma análise prospectiva do uso do tratamento com imiquimode tópico como quimioprofilaxia em campos de cancerização em pacientes XP, incluindo análise por dermatoscopia digital (DD), microscopia confocal de refletância (MCR) e anatomopatológica para entender o potencial desta estratégia para minimizar a ocorrência de tumores cutâneos em pacientes XP e relatar eventuais eventos adversos.

10.2 MÉTODOS

10.2.1 Recrutamento

Foram convidados a participar deste estudo 21 pacientes com o diagnóstico clínico de XP com acompanhamento regular no Serviço de Dermatologia do Hospital das Clínicas de São Paulo, centro de referência no Brasil. O estudo foi aprovado pelos comitês de ética nacional e local (CEP - CAAE: 98968918.0.0000.0068, parecer: 3.163.255) e o consentimento informado e assinado foi obtido de todos os pacientes. O estudo foi realizado de julho de 2018 a dezembro de 2020.

10.2.2 Pacientes

Dos 21 pacientes convidados para participar do estudo, 15 foram incluídos nesta série. Quatro pacientes com doença metastática e grandes tumores cutâneos em tratamento foram excluídos. Outros 2 pacientes inicialmente aceitaram se inscrever no estudo, porém desistiram antes de iniciar o tratamento. **Figura 10**

Todos os pacientes inscritos apresentavam clinicamente múltiplas lesões cutâneas desde a infância, incluindo efélides, lentigos solares, queratoses actínicas, poiquilodermia e história de múltiplos tumores cutâneos. A maioria dos pacientes recebeu um diagnóstico molecular, que incluiu os grupos de complementação XPA, XPC, XPD e a forma variante XP-V.

Esses pacientes são acompanhados regularmente em nosso departamento com acompanhamento de 3 a 6 meses com DD, mapeamento fotográfico corporal e MCR, conforme relatado anteriormente ^{64, 65}.

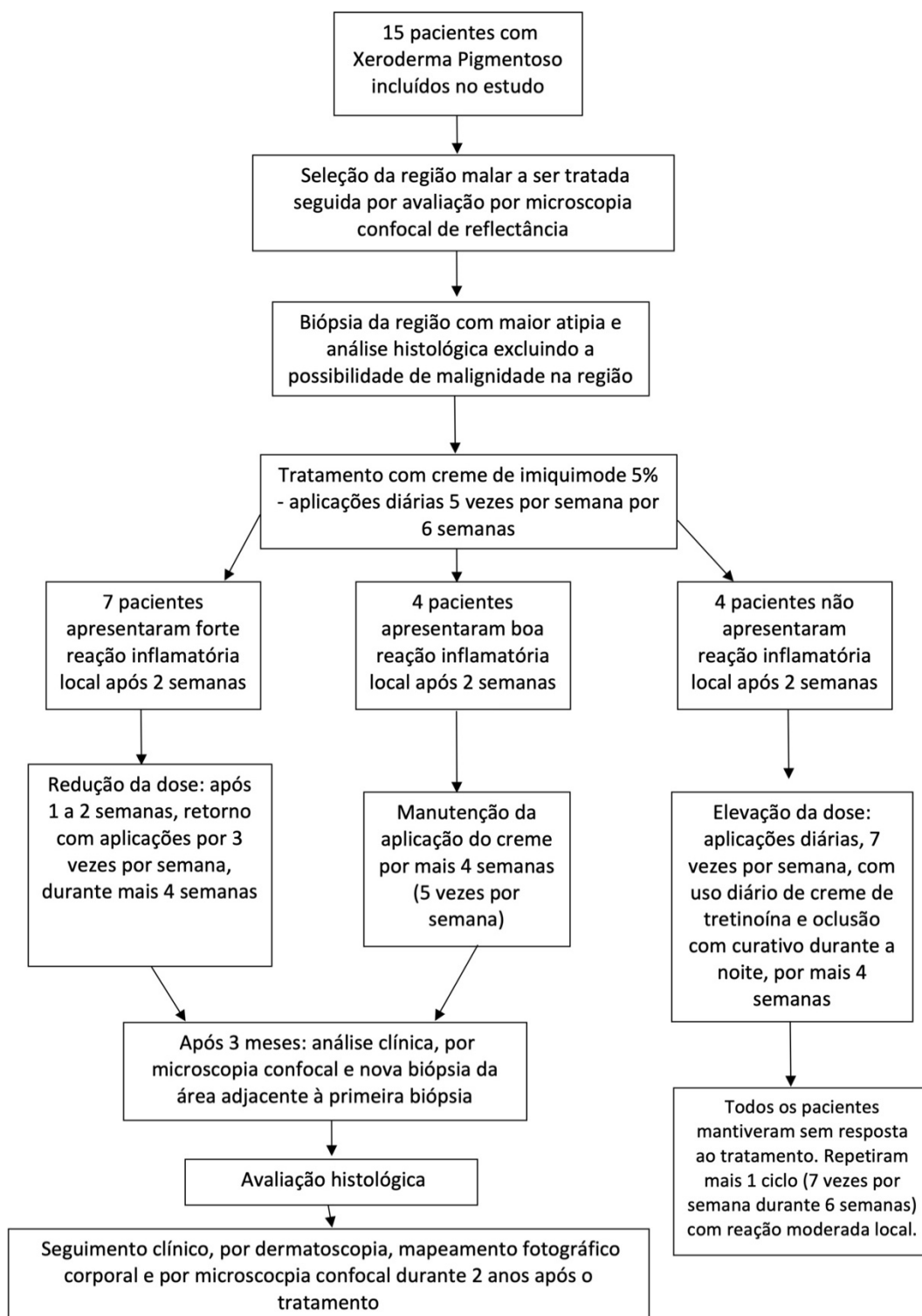


Figura 10 - Fluxograma do protocolo de tratamento com imiquimode como quimioprevenção em pacientes com xeroderma pigmentoso

10.2.3 Intervenção

A proposta deste estudo é tratar campos de cancerização em pacientes XP com creme de imiquimode 5%. O tratamento consistiu na aplicação do tópico na área selecionada uma vez ao dia, respeitando o limite de 100 cm², cinco vezes por semana, durante 6 semanas inicialmente. O protocolo permitia a redução da dose se houvesse dor (reduzindo a dose para três vezes por semana) ou um aumento da dose para aumentar a reação inflamatória após duas semanas no caso de pouca resposta inflamatória (aplicando creme de imiquimode sete vezes por semana sob um curativo noturno e adição de creme de retinol pela manhã, passo a passo e se necessário). O protocolo permitiu novo ciclo de tratamento para pacientes sem resposta após o aumento da dose. **Figura 9**

10.2.4 Análise do campo de cancerização

A área selecionada para a intervenção foi a região malar, por corresponder a uma área exposta ao sol, que frequentemente apresenta múltiplos tumores cutâneos nos pacientes XP e de fácil acesso ao paciente para aplicação do tópico. Análises por DD e MCR foram realizadas previamente para melhor caracterização do local selecionado e para excluir a presença de tumores na área a ser tratada. Uma biópsia por punch 3.0 mm foi realizada no local com características mais atípicas à MCR. A análise histológica foi realizada no material da biópsia, incluindo análise de imunistoquímica (receptor de Toll-7, CD1A, Melan-A, HMB-45 e Ki67), para excluir a ocorrência de tumor e para comparação com o material de biópsia a ser obtido no pós-tratamento.

A análise pós-tratamento incluiu DD, MCR e biópsia por punch 3 mm na área ao redor da área previamente biopsiada, após 3 meses da data de término do tratamento. Análises histológicas e imunoistoquímicas também foram realizadas para a biópsia pós-tratamento e foram comparadas com a primeira análise.

10.2.5 Análise dos dados

As características por DD e MCR foram analisadas por 3 investigadores independentes (J.A., L.R. e P.F.) com mais de 5 anos de experiência nestas técnicas. Dez critérios por MCR foram incluídos com base em critérios previamente estabelecidos na literatura ^{48, 66, 67}: desarranjo epidérmico; grau de proliferação lentiginosa; pleomorfismo celular; tamanho dos melanócitos; presença de ninhos de melanócitos; presença de melanócitos perianexial; presença de células pagetóides; presença de atrofia epidérmica; presença de incontinência pigmentar (melanófagos); e presença de células dendríticas.

As lâminas histológicas foram analisadas “cegamente” por 2 investigadores independentes (L.R. e M.G.) e as características relatadas foram posteriormente comparadas para cada paciente. Onze aspectos histológicas foram incluídos na coloração com hematoxilina-eosina: grau de proliferação lentiginosa; pleomorfismo de melanócitos; presença de ninhos de melanócitos; presença de propagação anexial; presença de células pagetóides; presença de atrofia epidérmica; grau de atipia de queratinócitos; número de melanófagos por campo de 0,5x0,5 mm; presença de células inflamatórias; presença de elastose; e presença de fibroplasia de colágeno. Para a

análise imunistoquímica foram incluídos as imunomarcações para Melan-A, HMB-45, Ki67, CD1A e para o receptor Toll-like 7 (TLR7).

10.2.6 Metodologia estatística

As características dos participantes do estudo foram apresentadas de acordo com o tipo de variável, para as variáveis qualitativas foram calculadas as frequências absolutas e porcentagens. Para as variáveis quantitativas, os valores de média, mediana, desvio padrão, percentil 25 e 75 foram calculados.

Associação entre os grupos dependentes (antes e depois do tratamento) foram avaliadas segundo o teste de McNemar. Para as comparações entre variáveis quantitativas antes e após o tratamento (comparações dependentes) foi utilizado o teste de Wilcoxon. Para avaliar associação entre variáveis qualitativas independentes foi utilizado o teste exato de Fisher.

O nível de significância adotado foi de 5% para todos os testes de hipóteses.

As análises foram realizadas no software SPSS for Windows v.25.

10.3 RESULTADOS

Foram incluídos neste estudo 15 pacientes, 11 do sexo feminino e 4 do sexo masculino com o diagnóstico de XP. A faixa etária variou entre 8 e 79 anos (idade média, 17,5 anos), com metade dos pacientes com menos de 20 anos. A amostra de

pacientes foi composta pelos seguintes grupos de complementação: 1 XP-A, 4 XP-C, 1 XP-D e 8 pacientes com a forma variante (XP-V) (dados não publicados). Um paciente não pôde ter o diagnóstico molecular. Todos os pacientes tinham história de pelo menos 1 tumor cutâneo ou lesão pré-maligna. **Tabela 9**

Tabela 9 - Características dos pacientes com xeroderma pigmentoso selecionados para o protocolo com imiquimode, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

Variável	n = 15		n (%)
Mutação	Desconhecida		1 (6,7)
	XPA		1 (6,7)
	XPC		4 (26,7)
	XPD		1 (6,7)
	XPV		8 (53,3)
Idade ao diagnóstico do primeiro tumor cutâneo (anos)	Média (DP)	17,5 (14,9)	
	Mediana (P ₂₅ - P ₇₅)	11 (6-30)	
Nº de dias de tratamento	Média (DP)	37,9 (18,1)	
	Mediana (P ₂₅ - P ₇₅)	30 (30-36)	
Grau de inflamação	Nada		4 (26,7)
	Moderada		4 (26,7)
	Forte		7 (46,7)
Fotossensibilidade	Ausente		13 (86,7)
	Presente		2 (13,3)
Nº de melanomas (antecedente)	Média (DP)	5,5 (16,3)	
	Mediana (P ₂₅ - P ₇₅)	1 (0-2)	
Nº de carcinomas basocelulares (antecedente)	Média (DP)	15,1 (17,1)	
	Mediana (P ₂₅ - P ₇₅)	10 (1-20)	
Nº de carcinomas espinocelulares (antecedente)	Média (DP)	6,4 (11,8)	
	Mediana (P ₂₅ - P ₇₅)	2 (0-8)	
Alterações oftalmológicas	Ausente		5 (33,3)
	Presente		10 (66,7)
Sintomas neurológicos	Ausente		14 (93,3)
	Presente		1 (6,7)

10.3.1 Análise Pré-tratamento

Na análise de MCR pré-tratamento, todos os pacientes apresentavam desarranjo epidérmico e a maioria dos pacientes apresentava proliferação lentiginosa quase confluyente (60%) e presença de células dendríticas (87%). A atipia celular na junção dermoepidérmica (JDE) foi leve em 40% dos pacientes e 93% apresentaram algum grau de atipia celular. Doze pacientes (80%) apresentaram melanófagos na análise de MCR pré-tratamento. **Tabela 10**

Tabela 10 - Avaliação da microscopia confocal antes e após tratamento em pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

Variável		Pós tratamento** N=15 (%)***			Valor de p ¹
		Ausente N=0	Precoce N=14	Confluente N=1	
GRAU DE PROLIFERAÇÃO LENTIGINOSA					
	Pré tratamento* N=15				
Ausente	N= 1	0	1 (100)	0	NA
Precoce	N= 5	0	5 (100)	0	
Confluente	N= 9	0	8 (89)	1 (11)	
GRAU DE ATIPIA CELULAR		Ausente N=1	Leve N=12	Moderado N=2	
	Pré tratamento* N=15				
Ausente	N=1	0	1 (100)	0	.350
Leve	N=8	0	6 (75)	2 (25)	
Moderado	N=6	1 (17)	5 (83)	0	
CÉLULAS INFLAMATÓRIAS (pequenos pontos brilhantes)		Ausente N=5	Presente N=10		
	Pré tratamento* N=15				
Ausente	N=10	5 (50)	5 (50)		.063
Presente	N=5	0	5 (100)		

continua

Tabela 10 (conclusão) - Avaliação da microscopia confocal antes e após tratamento em pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

Variável		Pós tratamento** N=15 (%)***		
ACOMETIMENTO ANEXIAL		Ausente N=13	Presente N=2	
	Pré tratamento* N=15			
Ausente	N=8	6 (75)	2 (25)	.180
Presente	N=7	7 (100)	0	
ATROFIA EPIDÉRMICA		Ausente N=11	Presente N=4	
	Pré tratamento* N=15			
Ausente	N=13	10 (77)	3 (23)	.625
Presente	N=2	1 (50)	1 (50)	
PRESENÇA DE MELANÓFAGOS NA DERME SUPERFICIAL		Ausente N=1	Presente N=14	
	Pré tratamento* N=15			
Ausente	N=3	0	3 (100)	
Presente	N=12	1 (8)	11 (91)	.625
PRESENÇA DE CÉLULAS DENDRÍTICAS		Ausente N=7	Poucas N=7	Abundante N=1
	Pré tratamento* N=15			
Ausente	N=2	2 (100)	0	0
Poucas	N=12	4 (33)	7 (58)	1 (8)
Abundantes	N=1	1 (100)	0	0

NA: não avaliável. ¹ Teste de McNemar.

Histologicamente, 8 pacientes (53%) apresentavam proliferação lentiginosa contínua (ou quase contínua), confirmada por imunistoquímica (coloração de Melan-A e HMB-45) e 8 pacientes (53%) apresentavam melanócitos atípicos na JDE (**Tabelas 11, 12**). A média do número de melanófagos por campo de 0,5x0,5mm foi de 14,6, e atipia dos queratinócitos e inflamação foram visualizados em 13 pacientes (93%). A análise de imunistoquímica CD1A mostrou uma média de células de Langerhans por campo de 0,5x0,5mm de 9,9 células (intervalo: 4-17 células) (**Tabela 13**). Seis pacientes (40%) apresentaram imunistoquímica Ki67 positiva na camada mediana da epiderme. A imunistoquímica para TLR7 foi positiva em 4 pacientes (27%). **Tabela 12**

Tabela 11 - Avaliação histológica antes e após tratamento com imiquimode em pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

Variável		Pós tratamento ** N=15 (%) ***				Valor de p ¹
GRAU DE PROLIFERAÇÃO LENTIGINOSA	Pré tratamento* N=15	Ausente N=7	Discreta e não confluyente N=7	Quase confluyente N=0	Confluyente N=1	
Ausente	N=2	2 (100)	0	0	0	
Discreta e não confluyente	N=5	3 (60)	2 (40)	0	0	
Quase confluyente	N=7	2 (29)	4 (57)	0	1 (14)	NA
Confluyente	N=1	0	1 (100)	0	0	
GRAU DE ATIPIA DOS MELANÓCITOS	Pré tratamento* N=15	Ausente N= 12	Baixo N=2	Alto N=1		
Ausente	N=7	7 (100)	0	0		
Baixo	N=8	5 (62)	2 (25)	1 (12)		NA
Alto	N=0	0	0	0		
ACOMETIMENTO ANEXIAL		Ausente N=14	Presente N=1			
	Pré tratamento* N=15					
Ausente	N=12	12 (100)	0			
Presente	N=3	2 (67)	1 (33)			.500

continua

Tabela 11 (conclusão) - Avaliação histológica antes e após tratamento com imiquimode em pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

Variável		Pós tratamento ** N=15 (%)***		
		Ausente N=9	JDE**** N=5	Terço médio da epiderme N=1
PERDA DA POLARIDADE CELULAR				
	Pré tratamento* N=15			
Ausente	N=2	0	2 (100)	0
JDE****	N=9	6 (60)	3 (30)	1 (10)
Terço médio da epiderme	N=3	3 (100)	0	0
				.112
GRAU DE ATPIA DOS QUERATINÓCITOS		Ausente N=4	Baixo N=11	Alto N=0
	Pré tratamento* N=15			
Ausente	N=1	0	1 (100)	0
Baixo	N=13	3 (23)	10 (77)	0
Alto	N=1	1 (100)	0	0
				NA
INFILTRADO INFLAMATÓRIO		Ausente N=0	Presente N=15	
	Pré tratamento* N=15			
Ausente	N=1	0	1 (100)	
Presente	N=14	0	14 (100)	NA

NA: não avaliável. 1 Teste de McNemar.

*Análise Pré tratamento: representada pelas linhas;

** Análise Pós tratamento: representada pelas colunas;

*** Porcentagem de pacientes que mudaram de classificação no pós tratamento, comparado com a análise pré tratamento;

****JDE: Junção Dermoepidérmica

Tabela 12 - Avaliação por imunohistoquímica antes e após tratamento com imiquimode em pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

Variável	Pós tratamento					Valor de p ¹
	Pré tratamento	Ausente	Discreta não confluyente	Quase confluyente	Confluyente	
<i>Mel-A proliferação lentiginosa</i>	Ausente	0	2 (100)	0	0	NA
	Discreta não confluyente	3 (75,0)	1 (25,0)	0	0	
	Quase confluyente	2 (33,0)	3 (50,0)	1 (16,7)	0	
	Confluyente	0	3 (100)	0	0	
<i>Mel-A ninhos de melanócitos</i>		Ausente	Moderada			NA
	Ausente	14 (100)	0			
	Moderada	1 (100)	0			
<i>Mel-A acometimento anexial</i>		Ausente	Presente			0,999
	Ausente	12 (92,3)	1 (7,7)			
	Presente	1 (50,0)	1 (50,0)			
<i>HMB-45 proliferação lentiginosa</i>		Ausente	Discreta não confluyente	Quase confluyente	Confluyente	NA
	Ausente	1 (25,0)	3 (75,0)	0	0	
	Discreta não confluyente	2 (50,0)	2 (50,0)	0	0	
	Quase confluyente	1 (16,7)	4 (66,7)	1 (16,7)	0	
	Confluyente	0	1 (100)	0	0	

continua

Tabela 12 (conclusão) - Avaliação por imunistoquímica antes e após tratamento com imiquimode em pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

Variável	Pós tratamento					Valor de p ¹	
<i>HMB-45 ninhos de melanócitos</i>	Ausente					NA	
	Ausente	15 (100)					
<i>HMB-45 acometimento anexial</i>	Ausente	Ausente	Presente			0,999	
	Ausente	14 (100)	0				
	Presente	0	1 (100)				
<i>HMB-45 células pagetoides</i>	Ausente					NA	
	Ausente	15 (100)					
<i>Ki-67</i>		Basal	Terço médio			0,999	
	Basal	8 (88,9)	1 (11,1)				
	Terço médio	5 (83,3)	1 (16,7)				
<i>Toll-like R7</i>		Ausente	1+	2++	3+++	4++++	NA
	Ausente	8 (72,7)	2 (18,2)	0	0	1 (9,1)	
	1+	1 (50,0)	0	0	1 (50,0)	0	
	2++	0	0	0	0	0	
	3+++	2 (100)	0	0	0	0	
	4++++	0	0	0	0	0	

Tabela 13 - Presença de melanóforos e células de Langerhans (imunoistoquímica para CD1A) antes e após tratamento em pacientes com xeroderma pigmentoso, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

Variável	Pré-tratamento	Pós-tratamento	Valor de p ¹
<i>Presença de melanóforos na derme superficial por campo de grande aumento*</i>			0,329
Média (DP)	14,6 (13,3)	11,9 (10,1)	
Mediana (P ₂₅ - P ₇₅)	11 (5-19)	7 (5-17)	
<i>CD1A – Número de células de Langerhans por campo de grande aumento*</i>			0,017
Média (DP)	9,9 (3,5)	14,1 (4,1)	
Mediana (P ₂₅ - P ₇₅)	10 (8-12)	15 (11-17)	

DP: desvio padrão; P₂₅: percentil 25; P₇₅: percentil 75. ¹ Teste de Wilcoxon.

*Campo de maior aumento: 5x5 mm

10.3.2 Protocolo de quimioprofilaxia com Imiquimode

Os pacientes seguiram o protocolo de tratamento aplicando inicialmente o creme de imiquimode 5%, 5 vezes por semana (**Figura 10**). Após 2 semanas de tratamento, 7 pacientes apresentaram reação excessiva ao tratamento com ulceração, edema periorbital e dor local (**Figura 11**). Eles não relataram sintomas sistêmicos ou eventos adversos graves. A dose foi reduzida e todos os 7 pacientes puderam terminar o protocolo com inflamação local, mas sem dor ou outros sintomas. Quatro pacientes apresentaram boa reação com inflamação local e nenhuma dor ou evento adverso adicional no fim da segunda semana e mantiveram as aplicações diárias, 5 vezes por semana, no total de 6 semanas. Os últimos quatro pacientes não apresentaram reação após 2 semanas do protocolo padrão e mesmo com o aumento da dose, experimentaram inflamação local muito leve. Eles repetiram o tratamento por mais 6-7 semanas com inflamação leve durante o segundo ciclo. Em nossa amostra, o grau de inflamação não foi relacionado ao subtipo XP ou à idade do paciente. O tempo médio de tratamento foi de 37,9 dias (variação: 30-72 dias).



Figura 11 - Paciente com xeroderma pigmentoso, subtipo XP-V, tratada com creme de imiquimode na região malar direita. **A.** Paciente antes do tratamento com a área delimitada a ser tratada; **B.** Paciente com forte reação ao tratamento após 2 semanas. **C.** Após 3 meses a paciente apresentou pele mais homogênea, com menos lesões na região limitada à área tratada. **D.** Após 2 anos de seguimento a paciente não apresentou nenhuma lesão pré-maligna ou maligna na área tratada e manteve discreta hipopigmentação

Três pacientes apresentaram hipopigmentação vitiligóide na área tratada ao fim do tratamento, revertida parcialmente após 2 anos de seguimento. Todos esses pacientes apresentaram reação exagerada ao tratamento. Um dos pacientes, subtipo XPC (XPC: c.2251-1G> C (het) / c.G1969T (het)) que apresenta diagnóstico de vitiligo desde a infância não apresentou boa reação ao creme de imiquimode e não teve hipopigmentação na área tratada. Sua irmã, com a mesma mutação XP, que não tem diagnóstico de vitiligo, apresentou como seqüela a hipopigmentação vitiligóide na área tratada. **Figura 12**



Figura 12 - Paciente com xeroderma pigmentoso, subtipo XPC, tratada com creme de imiquimode na região malar direita. **A.** Avaliação pré-tratamento; **B.** Após 3 meses do fim do tratamento com forte reação ao imiquimode a paciente apresentou hipopigmentação vitiligóide limitada à área tratada **C.** Após 2 anos de seguimento a paciente não apresentou nenhuma lesão pré-maligna ou maligna na área tratada e clinicamente apresentou repigmentação da região malar direita

10.3.3 Análise Pós-Tratamento

A análise por MCR da área tratada mostrou redução do desarranjo epidérmico (40% apresentaram esta característica após o tratamento), da proliferação lentiginosa (89% dos pacientes que apresentaram proliferação confluenta pré-tratamento apresentaram proliferação não confluenta após tratamento) e da atipia celular (todos os pacientes com atipia celular moderada pré-tratamento apresentaram atipia leve ou nenhuma atipia após o tratamento). Células dendríticas foram visualizadas em 8 pacientes (53%) após o tratamento, redução de 33% em comparação com a análise microscópica pré-tratamento. **Tabela 10**

A análise histológica da área biopsiada após o tratamento mostrou que 10 pacientes (67%) apresentaram redução da proliferação lentiginosa e 62% dos pacientes com atipia de melanócitos pré-tratamento não apresentaram atipia celular após o tratamento. Todos os pacientes apresentavam inflamação ao fim do tratamento,

principalmente na região perivascular (**Tabela 11**), e a média do número de melanófagos por campo de 0,5x0,5mm foi de 11,9 (variação: 1-33 melanófagos). A mediana das células de Langerhans visualizadas na coloração imunoistoquímica de CD1A em 0,5x0,5 mm foi de 14,1 células (intervalo: 8-21 células), estatisticamente maior em comparação com a média do pré-tratamento (p: 0,017). (**Tabela 13 e Figura 13**). Dois pacientes (13%) apresentaram imunoistoquímica para Ki67 positiva no terço médio da epiderme e 83% dos pacientes com imunoistoquímica Ki67 positiva no terço médio da epiderme pré-tratamento apresentaram resultado negativo após o tratamento. A imunoistoquímica para TLR7 foi positiva em 4 pacientes (27%), e um desses pacientes apresentou imunoistoquímica para TLR7 positiva antes do tratamento.

Tabela 12

Em relação aos aspectos histológicos após o tratamento em pacientes com reação boa ou exagerada ao tratamento (11/15 pacientes), 2 pacientes (18%) apresentavam melanócitos atípicos na JDE e 9 pacientes (82%) apresentavam queratinócitos atípicos. A reação de imunoistoquímica para Ki67 foi positiva no terço médio da epiderme em 1 paciente (9%). Dos 11 pacientes que apresentaram reação clínica ao creme, 4 pacientes (37%) tiveram análise imunoistoquímica negativa para coloração de TLR7, antes e após o tratamento, e 4 pacientes (37%) aumentaram a expressão de TLR7 após o tratamento. **Tabela 14**

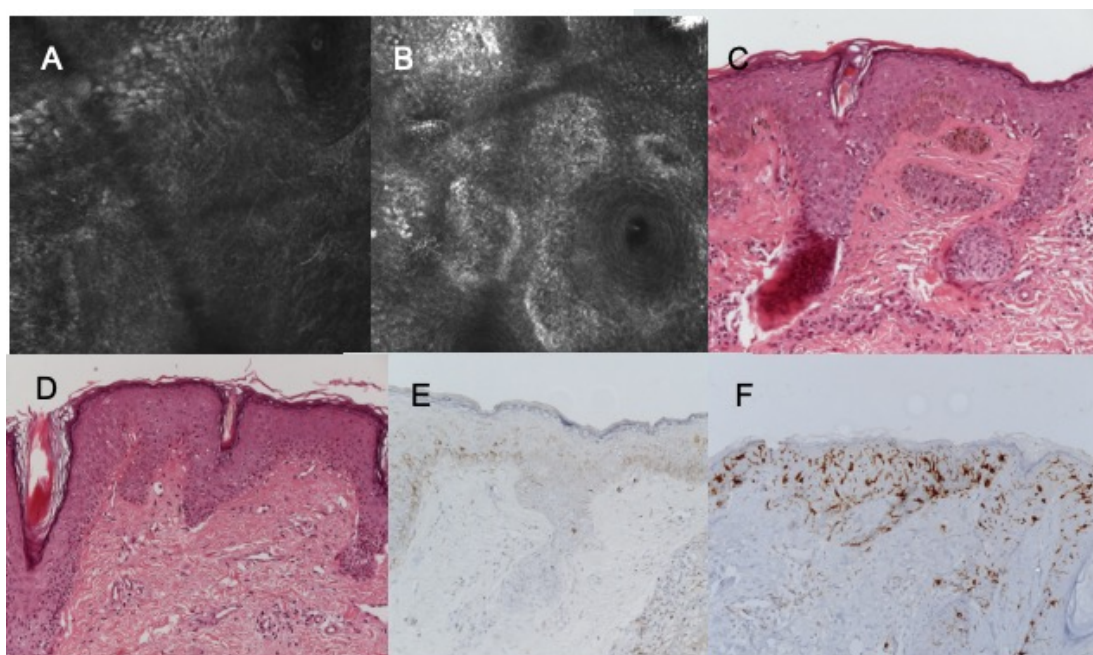


Figura 13 - Imagens por microscopia confocal e pelos exames histológico e de imunoistoquímica de uma paciente com xeroderma pigmentosum de 10 anos tratada com creme de imiquimod na região malar esquerda que apresentou reação clínica moderada ao tratamento. **A.** Imagem microscópica da análise pré-tratamento mostrando desarranjo arquitetural, células atípicas e dendríticas na região dermo-epidérmica. **B.** Imagem microscópica na avaliação 3 meses após o fim do tratamento mostrando papilas bem delimitadas, pequenos pontos brilhantes (células inflamatórias) e poucas células dendríticas. **C.** Imagem histológica pela coloração de hematoxilina-eosina (200x) da amostra pré-tratamento mostrando proliferação lentiginosa de melanócitos na junção epidérmica dérmica e atipia de queratinócitos. **D.** Imagem histológica, pela coloração de hematoxilina-eosina (200x) da amostra após o tratamento mostrando inflamação, menor atipia dos queratinócitos e sem proliferação lentiginosa e menos atipia celular. **E.** Imagem de imunoistoquímica CD1A com poucas células de Langerhans no pré-tratamento. **F.** Imagem de imunoistoquímica CD1A após o tratamento mostrando maior número de células de Langerhans

Tabela 14 - Análise das características microscópicas e histológicas comparada por grupo conforme resposta clínica ao tratamento com imiquimode, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

Característica	Categoria	Pré-tratamento				Pós-tratamento			
		Respondedor*		Não respondedor**		Respondedor*		Não respondedor**	
		n	%	n	%	n	%	n	%
CONFOCAL MICROSCOPIC FEATURES									
Grau de proliferação lentiginosa	Ausente	1	9.1%	0					
	Precoce	4	36.4%	1	25.0%	11	100.0%	3	75.0%
	Quase confluyente	6	54.5%	3	75.0%	0		1	25.0%
Grau de atipia celular na JDE	Ausente	1	9.1%	0		1	9.1%	0	
	Leve	5	45.5%	3	75.0%	9	81.8%	3	75.0%
	Moderada	5	45.5%	1	25.0%	1	9.1%	1	25.0%
Presença de células inflamatórias	Ausente	8	72.7%	2	50.0%	3	27.3%	2	50.0%
	Presente	3	27.3%	2	50.0%	8	72.7%	2	50.0%
Ninhos de melanócitos	Ausente	11	100.0%	4	100.0%	11	100.0%	4	100.0%
Acometimento perianexial	Ausente	6	54.5%	2	50.0%	10	90.9%	3	75.0%
	Presente	5	45.5%	2	50.0%	1	9.1%	1	25.0%
Células pagetóides	Ausente	10	90.9%	3	75.0%	10	90.9%	4	100.0%
	Presente	1	9.1%	1	25.0%	1	9.1%	0	
Atrofia epidérmica	Ausente	9	81.8%	4	100.0%	8	72.7%	3	75.0%
	Presente	2	18.2%	0		3	27.3%	1	25.0%
Incontinência pigmentar (melanófagos)	Ausente	2	18.2%	1	25.0%	1	9.1%	0	
	Presente	9	81.8%	3	75.0%	10	90.9%	4	100.0%
Células Dendríticas na JDE	Ausente	0		2	50.0%	5	45.5%	2	50.0%
	Esparsas	10	90.9%	2	50.0%	5	45.5%	2	50.0%
	Tocando uma outra	1	9.1%	0		1	9.1%	0	

continua

Tabela 14 (continuação) - Análise das características microscópicas e histológicas comparada por grupo conforme resposta clínica ao tratamento com imiquimode, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

Característica	Categoria	Pré-tratamento				Pós-tratamento			
		Respondedor*		Não respondedor**		Respondedor*		Não respondedor**	
		n	%	n	%	n	%	n	%
HISTOLOGICAL FEATURES									
Fibroplasia do colágeno	Ausente	6	54.5%	4	100.0%	2	18.2%	3	75.0%
	Presente	5	45.5%	0		9	81.8%	1	25.0%
Retificação da epiderme	Ausente	5	45.5%	4	100.0%	4	36.4%	3	75.0%
	Presente	6	54.5%	0		7	63.6%	1	25.0%
Elastose	Ausente	8	72.7%	3	75.0%	7	63.6%	2	50.0%
	Presente	3	27.3%	1	25.0%	4	36.4%	2	50.0%
Grau de proliferação lentiginosa	Ausente	2	18.2%	0		6	54.5%	1	25.0%
	Proliferação não contínua	4	36.4%	1	25.0%	5	45.5%	2	50.0%
	Quase confluyente	4	36.4%	3	75.0%				
	Confluyente	1	9.1%	0		0		1	25.0%
Grau de atipia celular melanócitos na JDE	Ausente	6	54.5%	1	25.0%	9	81.8%	3	75.0%
	Baixo	5	45.5%	3	75.0%	1	9.1%	1	25.0%
	Alto					1	9.1%	0	
Ninhos de melanócitos	Ausente	9	81.8%	4	100.0%	11	100.0%	3	75.0%
	Focal	2	18.2%	0		0		1	25.0%
Proliferação melanócitos anexial	Ausente	8	72.7%	4	100.0%	10	90.9%	4	100.0%
	Presente	3	27.3%	0		1	9.1%	0	
Células pagetoides	Ausente	11	100.0%	4	100.0%	11	100.0%	4	100.0%
Perda de polaridade dos queratinócitos	Ausente	2	18.2%	0		6	54.5%	3	75.0%
	Camada basal	8	72.7%	2	50.0%	4	36.4%	1	25.0%
	2/3 da epiderme	1	9.1%	2	50.0%	1	9.1%	0	

continua

Tabela 14 (continuação) - Análise das características microscópicas e histológicas comparada por grupo conforme resposta clínica ao tratamento com imiquimode, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

Característica	Categoria	Pré-tratamento				Pós-tratamento			
		Respondedor*		Não respondedor**		Respondedor*		Não respondedor**	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Grau de atipia dos queratinócitos	Ausente	1	9.1%	0		2	18.2%	2	50.0%
	Baixo	10	90.9%	3	75.0%	9	81.8%	2	50.0%
	Alto	0		1	25.0%				
Infiltrado Inflamatório	Ausente	0		1	25.0%				
	Presente	11	100.0%	3	75.0%	11	100.0%	4	100.0%
Intensidade da inflamação	Ausente	0		1	25.0%				
	Leve	6	54.5%	3	75.0%	6	54.5%	4	100.0%
	Moderada	4	36.4%	0		3	27.3%	0	
	Intensa	1	9.1%	0		2	18.2%	0	
Inflamação perivascular	Ausente	1	9.1%	1	25.0%	2	18.2%	0	
	Presente	10	90.9%	3	75.0%	9	81.8%	4	100.0%
Inflamação intersticial	Ausente	11	100.0%	3	75.0%	10	90.9%	4	100.0%
	Presente	0		1	25.0%	1	9.1%	0	
Inflamação em faixa	Ausente	9	81.8%	4	100.0%	9	81.8%	4	100.0%
	Presente	2	18.2%	0		2	18.2%	0	
Inflamação perianexial	Ausente	7	63.6%	3	75.0%	7	63.6%	4	100.0%
	Presente	4	36.4%	1	25.0%	4	36.4%	0	
Porcentagem plasmócitos	Ausente	5	45.5%	4	100.0%	4	36.4%	2	50.0%
	1-10%	6	54.5%	0		5	45.5%	2	50.0%
	10-20%					1	9.1%	0	
	30-40%					1	9.1%	0	
Porcentagem eosinófilos	Ausente	8	72.7%	4	100.0%	10	90.9%	4	100.0%
	1-10%	3	27.3%	0		1	9.1%	0	
Porcentagem neutrófilos	Ausente	10	90.9%	4	100.0%	11	100.0%	4	100.0%
	1-10%	1	9.1%	0					

continua

Tabela 14 (conclusão) - Análise das características microscópicas e histológicas comparada por grupo conforme resposta clínica ao tratamento com imiquimode, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

Característica	Categoria	Pré-tratamento				Pós-tratamento			
		Respondedor*		Não respondedor**		Respondedor*		Não respondedor**	
		n	%	n	%	n	%	n	%
IMMUNOHISTOCHEMISTRY FEATURES									
Mel-A: Proliferação lentiginosa	Ausente	2	18.2%	0		4	36.4%	1	25.0%
	Discreta não confluyente	2	18.2%	2	50.0%	6	54.5%	3	75.0%
	Quase confluyente	5	45.5%	1	25.0%	1	9.1%	0	
	Confluyente	2	18.2%	1	25.0%				
Mel-A: Ninhos de melanócitos	Ausente	10	90.9%	4	100.0%	11	100.0%	4	100.0%
	Moderada	1	9.1%	0					
Mel-A: acometimento anexial	Ausente	9	81.8%	4	100.0%	9	81.8%	4	100.0%
	Presente	2	18.2%	0		2	18.2%	0	
Mel-A: Células pagetoides	Ausente	11	100.0%	4	100.0%	11	100.0%	4	100.0%
HMB-45: Proliferação lentiginosa	Ausente	3	27.3%	1	25.0%	4	36.4%	0	
	Discreta	3	27.3%	1	25.0%	6	54.5%	4	100.0%
	Quase confluyente	4	36.4%	2	50.0%	1	9.1%	0	
	Confluyente	1	9.1%	0					
HMB-45: Ninhos de melanócitos	Ausente	11	100.0%	4	100.0%	11	100.0%	4	100.0%
HMB-45: Acometimento anexial	Ausente	10	90.9%	4	100.0%	10	90.9%	4	100.0%
	Presente	1	9.1%	0		1	9.1%	0	
HMB-45: Células pagetoides	Ausente	11	100.0%	4	100.0%	11	100.0%	4	100.0%
Ki-67	Basal	8	72.7%	1	25.0%	10	90.9%	3	75.0%
	Terço médio	3	27.3%	3	75.0%	1	9.1%	1	25.0%
Toll-like R 7	Ausente	7	63.6%	4	100.0%	7	63.6%	4	100.0%
	1+	2	18.2%	0		2	18.2%	0	
	3+++	2	18.2%	0		1	9.1%	0	
	4++++					1	9.1%	0	

*: Pacientes que apresentaram boa ou forte resposta clínica (inflamação local) na segunda semana do início do tratamento com imiquimode

** : Pacientes que não apresentaram resposta clínica (inflamação local) na segunda semana do início do tratamento com imiquimode

10.3.4 Incidência de tumores cutâneos no seguimento

Após 2 anos de seguimento, nenhum paciente apresentou lesão pré-maligna ou maligna na área tratada. A incidência média de lesões malignas ou pré-malignas localizadas fora da área tratada foi de cerca de 2 lesões por paciente (variação de 0 a 10 lesões) durante os 2 anos de seguimento.

10.4 DISCUSSÃO

O xeroderma pigmentosum (XP) é um grupo de doenças genéticas que apresentam defeito no reparo ou na síntese por traslesão do DNA danificado pelos raios UV, levando a formação de áreas características de campo de cancerização nestas regiões expostas ao sol e resultando em múltiplos cânceres de pele em idade precoce.

As vantagens e desvantagens do imiquimode tópico como um agente em potencial para o uso na quimioprofilaxia de pacientes XP já foram discutidas anteriormente^{53, 55, 56}. É indiscutível os benefícios do uso de imiquimode tópico como tratamento para campos de cancerização na população em geral^{54, 57}. No entanto, esta abordagem em pacientes com XP tem sido limitada a poucos relatos de casos^{55, 59-63}. Latour et al.⁵⁶ relataram o uso de imiquimode creme como quimioprofilaxia em 2 pacientes XPC e estes não apresentaram tumor cutâneo na área tratada após 5 anos de seguimento. Esses autores não relataram análises microscópicas ou histológica para esta abordagem.

Nosso estudo teve como objetivo propor um protocolo para tratamento de campos de cancerização em pacientes com XP, comparando características

microscópicas e histológicas pré e pós-tratamento, possíveis eventos adversos e incidência de tumores cutâneos durante 2 anos de seguimento.

A maioria de nossos pacientes apresentou inflamação após 2 semanas de tratamento. Quase metade (7/15) do total de pacientes experimentou reação exagerada que foi controlada após a redução da dose estabelecida no protocolo. Inicialmente propusemos aplicações do creme de imiquimode 5 vezes por semana. Sugerimos iniciar esta abordagem aplicando 3 vezes por semana e, se necessário, aumentar gradualmente a dose.

Como esperado, comparando as características microscópicas e histológicas pré e pós-tratamento observamos a redução do desarranjo epidérmico, da proliferação lentiginosa e da atipia celular na JDE no pós-tratamento. Os pacientes que apresentaram características mais atípicas à MCR e na avaliação histológica pré-tratamento foram os pacientes que apresentaram as alterações mais relevantes após o tratamento. Essa observação já era esperada considerando que o imiquimode depende da presença de atipia celular para potencializar o sistema imunológico na região tratada⁵⁷.

Na análise por MCR, o número de células dendríticas foi maior antes do tratamento e a mediana das células de Langerhans visualizadas na imunoistoquímica para CD1A em 0,5x0,5 mm foi maior após o tratamento. É descrito que a diferenciação de melanócitos e de células de Langerhans como células dendríticas na MCR é um desafio⁶⁸. Provavelmente, o número de células dendríticas na MCR antes do tratamento em nossos pacientes foi maior devido à presença de melanócitos atípicos que foram reduzidos após o tratamento. Recentemente, foi demonstrado que o efeito

do imiquimode também é mediado pelo recrutamento e ativação da pele das células dendríticas plasmocitóides, que são um subconjunto único de células dendríticas conhecidas por serem a principal fonte de interferons produzidos localmente ⁵⁷. O imiquimode se liga ao TLR7 nessas células dendríticas que se tornam ativadas. Foi possível no nosso estudo confirmar essa ativação na imunoistoquímica para CD1A, mas não na imunoistoquímica para TLR7.

Curiosamente observamos na avaliação histológica que a maioria dos pacientes apresentava inflamação, elevado número de células de Langerhan e de melanófagos no pré-tratamento. Podemos sugerir que alguns pacientes XP apresentam uma inflamação basal, provavelmente decorrente das alterações típicas de áreas de campo de cancerização. Alguns estudos prévios ^{69, 70} discutem a possível presença de alterações imunológicas em pacientes XP, com possível presença de imunossupressão, sendo um fator que contribui para o surgimento de tumores. Mais estudos são necessários para elucidar alterações imunológicas em pacientes XP e a possível influência do imiquimode a longo prazo em áreas de cancerização.

Fishelevich et al. ⁷¹ estudaram os efeitos do imiquimode tópico em células derivadas de medula óssea de camundongos com deficiência de MyD88, que foram considerados mais suscetíveis à radiação UV, e linfoblastos de pacientes XPA e controles. Eles demonstraram que o imiquimode tem efeitos diretos em células apresentadoras de antígenos, como células de Langerhans, e na expressão do gene XPA (e possivelmente também em outros genes de reparo de DNA), bem como na localização nuclear da proteína XPA, sugerindo que a sinalização induzida via TLR7 por imiquimode aumenta o reparo nos danos do DNA induzidos por UV. Mais estudos

são necessários para elucidar os possíveis efeitos do imiquimode tópico sobre os genes envolvidos no reparo do dano ao DNA induzido por UV. Além disso, é preciso avaliar se o imiquimode é a melhor droga para ser usada como quimioprofilaxia em pacientes XP e quais seriam os benefícios moleculares desta terapia.

Como um evento adverso observado, relatamos que 3 pacientes apresentaram hipopigmentação vitiligóide após o tratamento com imiquimode, também relatado previamente por Latour et al. ⁵⁶, e não foi relacionado ao grupo de complementação em nosso estudo. Um de nossos pacientes, que apresentava diagnóstico prévio de vitiligo, não apresentou reação ao creme e não apresentou hipopigmentação vitiligóide na área tratada. Sua irmã apresentou resposta diferente ao protocolo com forte reação ao creme e hipopigmentação vitiligóide na área tratada, embora não tivesse história de lesões de vitiligo previamente. Mais estudos são necessários para elucidar o mecanismo responsável pela hipopigmentação semelhante ao vitiligo observada em alguns pacientes, comparando com o mecanismo autoimune do vitiligo clássico.

Este estudo teve algumas limitações. A coorte era heterogênea em relação ao grupo de complementação e, apesar do aconselhamento de proteção solar restrita para todos os pacientes, esta variável não foi mensurada no estudo. A análise por MCR e histológica foram realizadas em um curto espaço de tempo (3 meses) após o término do tratamento. É descrito ⁵⁷ que os efeitos do imiquimode podem acontecer por meses após o tratamento e 3 meses pode ser um curto período de tempo para evidenciar os resultados completos do tratamento descrito.

Propusemos neste estudo um protocolo de quimioprofilaxia com imiquimode tópico para pacientes XP em áreas de cancerização. Descrevemos benefícios

microscópicos e histológicos com esta estratégia, sem nenhum evento adverso grave. Recomendamos fortemente abordagens preventivas para pacientes XP para minimizar o número de excisões necessárias e diminuir a incidência de tumores cutâneos. Além disso, o tratamento de campos de cancerização pode ainda facilitar o reconhecimento precoce de tumores cutâneos na abordagem clínica dos pacientes XP.

11 PERSPECTIVAS FUTURAS

11 PERSPECTIVAS FUTURAS

O estudo clínico, microscópico e molecular do XP vai muito além do entendimento desta doença tão peculiar. Ao abrirmos caminho para o entendimento dos processos envolvidos na patogênese desta doença, estamos também estudando os mecanismos e efeitos da radiação UV nas células cutâneas, identificando processos de dano e reparo do DNA, alterações imunológicas locais e influência deste processo em outros órgãos e em outras doenças, como por exemplo a Síndrome de Cockayne e a Tricotiodistrofia.

Os estudos moleculares relacionados ao XP tiveram início há cerca de meia década e há ainda temos muitas perguntas. Por que apenas alguns subtipos XP apresentam neoplasias não cutâneas e alterações neurológicas? Por que pacientes XP com doença metastática apresentam muito pouca resposta aos quimioterápicos clássicos, comparado com a população em geral? O perfil mutacional dos tumores cutâneos nos pacientes XP são diferentes dos tumores da população geral? A quimioproliferação com imiquimode promove alteração molecular no DNA das células em pacientes XP? São algumas das muitas perguntas a serem respondidas futuramente.

Incluo ainda a importância do entendimento do envelhecimento cutâneo também relacionado ao processo de dano celular pelos efeitos UV, processo que pode estar relacionado ao modelo de progressão desta doença.

Portanto, apesar de ser uma doença extremamente rara, sua importância vai além dos pacientes afetados, o que já justificaria (e muito) o estudo pelo impacto tão

grande na vida destes pacientes, em sua maioria crianças. Compreender os processos envolvidos no XP abre caminhos para entendermos o impacto da radiação UV e do processo de envelhecimento cutâneo na população em geral.

12 DISCUSSÃO FINAL

12 DISCUSSÃO FINAL

O uso de técnicas não invasivas, como a dermatoscopia digital e a microscopia confocal de reflectância, no seguimento dos pacientes com o diagnóstico de XP mostrou-se de grande importância, como demonstrado neste projeto, pela possibilidade de maior sensibilidade e especificidade no diagnóstico dos tumores malignos cutâneos, o que conseqüentemente leva ao menor número de excisões necessárias nesta população, em sua maioria na faixa etária pediátrica.

Foi ainda proposto neste projeto um protocolo de quimioprofilaxia com imiquimode 5% tópico nos pacientes XP, que na nossa amostra mostrou-se uma opção segura e eficaz, uma vez que não foram reportados efeitos adversos maiores ou incidência de tumores malignos na região tratada durante o seguimento de 2 anos. Propusemos ainda que a quimioprofilaxia em pacientes XP, além da possibilidade de reduzir a ocorrência de tumores malignos cutâneos, proporciona uma área cutânea mais homogênea, o que pode facilitar o reconhecimento precoce de lesões pré-malignas ou malignas na região tratada.

Portanto, propomos uma nova proposta de seguimento de pacientes XP, com consultas frequentes (entre 3 a 6 meses) utilizando a dermatoscopia digital e a microscopia confocal como ferramentas adjuntas ao exame clínico, associado ao tratamento seriado (isto é, realizado em pequenas áreas sequencialmente) de quimioprofilaxia em áreas de campo de cancerização.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- 1 Moriwake SI, Kramer KH. Xeroderma pigmentosum—bridging a gap between clinic and laboratory. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2001;17(2):47-54.
- 2 Takebe H, Nishigori C, Satoh Y. Genetics and skin cancer of xeroderma pigmentosum in Japan. *Jpn J Cancer Res*. 1987;78(11):1135-43.
- 3 Chaibub SCW. Alta incidência de Xeroderma Pigmentosum em comunidade no interior de Goiás. *Surg Cosmet Dermatol*. 2011;3(1):81-3.
- 4 Hebra F, Kaposi M. On diseases of the skin including exanthemata, volume III. *New Sydenham Soc*. 1874;61:252-8.
- 5 Neisser A. Ueber das ‘Xeroderma pigmentosum’ (Kaposi): Lioderma essentialis cum melanosis et telangiectasia. *Vierteljahrschr Dermatol Syphil*. 1883; 47-62.
- 6 Taylor RW. Xeroderma pigmentosum and its relationship to malignant new growths of the skin. *Med Rec*. 1888;33:261-9.
- 7 Per M. Xeroderma pigmentosum (Kaposi): report of a case, with special reference to clinical features and pathogenesis. *Br J Dermatol*. 1926;38(6):241-52.
- 8 de Sanctis C, Cacchione A. L’idiozia xerodermica. *Riv Sper Freniatr*. 1932;56:269-92.
- 9 DiGiovanna JJ, Kraemer KH. Shining a light on xeroderma pigmentosus. *J Invest Dermatol*. 2012;132(3 Pt 2):785-96.

-
- 10 Loewenthal LJA, Trowell HC. Xeroderma pigmentosum in African Negroes. *Br J Dermatol.* 1938;50(2):66-71. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2133.1938.tb10474.x>
- 11 Gartler SM. Inborn errors of metabolism at the cell culture level. *International Medical Congress: New York, NY, 1964.*
- 12 Cleaver JE. Defective repair replication of DNA in xeroderma pigmentosum. *Nature.* 1968;218(5142):652-6.
- 13 Setlow RB, Regan JD, German J, Carrier WL. Evidence that xeroderma pigmentosum cells do not perform the first step in the repair of ultraviolet damage to their DNA. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1969;64(3):1035-41.
- 14 Cleaver JE, Trosko JE. Absence of excision of ultraviolet-induced cyclobutane dimers in xeroderma pigmentosum. *Photochem Photobiol.* 1970;11(6):547-50.
- 15 Setlow RB, Setlow JK. Evidence that ultraviolet-induced thymine dimers in DNA cause biological damage. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1962;48(7):1250-7.
- 16 Reed WB, Landing B, Sugarman G, Cleaver JE, Melnyk J. Xeroderma pigmentosum. Clinical and laboratory investigation of its basic defect. *JAMA.* 1969;207(11):2073-9.
- 17 Epstein JH, Fukuyama K, Reed WB, Epstein WL. Defect in DNA synthesis in skin of patients with xeroderma pigmentosum demonstrated in vivo. *Science.* 1970;168(3938):1477-8.
- 18 Burk PG, Lutzner MA, Clarke DD, Robbins JH. Ultraviolet-stimulated thymidine incorporation in xeroderma pigmentosum lymphocytes. *J Lab Clin Med.* 1971;77(5):759-67.

- 19 Cleaver JE. Xeroderma pigmentosum: variants with normal DNA repair and normal sensitivity to ultraviolet light. *J Invest Dermatol.* 1972;58(3):124-8.
- 20 Kraemer KH, Coon HG, Petinga RA, Barrett SF, Rahe AE, Robbins JH. Genetic heterogeneity in xeroderma pigmentosum: complementation groups and their relationship to DNA repair rates. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1975a;72(1):59-63.
- 21 Arase S, Kozuka T, Tanaka K, Ikenaga M, Takebe H. A sixth complementation group in xeroderma pigmentosum. *Mutat Res.* 1979;59(1):143-6.
- 22 Keijzer W, Jaspers NG, Abrahams PJ, Taylor AM, Arlett CF, Zelle B, Takebe H, Kinmont PD, Bootsma D. A seventh complementation group in excision-deficient xeroderma pigmentosum. *Mutat Res.* 1979;62(1):183-90.
- 23 Tanaka K, Miura N, Satokata I, Miyamoto I, Yoshida MC, Satoh Y, Kondo S, Yasui A, Okayama H, Okada Y. Analysis of a human DNA excision repair gene involved in group A xeroderma pigmentosum and containing a zinc-finger domain. *Nature.* 1990;348(6296):73-6.
- 24 Weeda G, van Ham RC, Masurel R, Westerveld A, Odijk H, de Wit J, Bootsma D, van der Eb AJ, Hoeijmakers JH. Molecular cloning and biological characterization of the human excision repair gene ERCC-3. *Mol Cell Biol.* 1990a;10(6):2570-81.
- 25 Weeda G, van Ham RC, Vermeulen W, Bootsma D, van der Eb AJ, Hoeijmakers JH. A presumed DNA helicase encoded by ERCC-3 is involved in the human repair disorders xeroderma pigmentosum and Cockayne's syndrome. *Cell.* 1990b;62(4):777-91.
- 26 Legerski R, Peterson C. Expression cloning of a human DNA repair gene involved in xeroderma pigmentosum group C. *Nature.* 1992;360(6404):610.

- 27 Flejter WL, McDaniel LD, Askari M, Frieberg EC, Schultz RA. Characterization of a complex chromosomal rearrangement maps the locus for in vitro complementation of xeroderma pigmentosum group D to human chromosome band 19q13. *Genes Chromosomes Cancer*. 1992a;5(4):335-42
- 28 Flejter WL, McDaniel LD, Johns D, Friedberg EC, Schultz RA. Correction of xeroderma pigmentosum complementation group D mutant cell phenotypes by chromosome and gene transfer: involvement of the human ERCC2 DNA repair gene. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992b;89(1):261-5.
- 29 Dualan R, Brody T, Keeney S, Nichols AF, Admon A, Linn S. Chromosomal localization and cDNA cloning of the genes (DDB1 and DDB2) for the p127 and p48 subunits of a human damage- specific DNA binding protein. *Genomics*. 1995;29(1):62-9.
- 30 Sijbers AM, De Laat WL, Ariza RR, Biggerstaff M, Wei YF, Moggs JG, Carter KC, Shell BK, Evans E, de Jong MC, Rademakers S, de Rooij J, Jaspers NG, Hoeijmakers JH, Wood RD. Xeroderma pigmentosum group F caused by a defect in a structure- specific DNA repair endonuclease. *Cell*. 1996;86(5):811-22.
- 31 Mudgett JS, MacInnes MA. Isolation of the functional human excision repair gene ERCC5 by intercosmid recombination. *Genomics*. 1990;8(4):623-33.
- 32 Johnson RE, Kondratick CM, Prakash S, Prakash L. hRAD30 mutations in the variant form of xeroderma pigmentosum. *Science*. 1999;285(5425):263-5.
- 33 Masutani C, Kusumoto R, Yamada A, Dohmae N, Yokoi M, Yuasa M, Araki M, Iwai S, Takio K, Hanaoka F. The XPV (xeroderma pigmentosum variant) gene encodes human DNA polymerase eta. *Nature*. 1999;399(6737):700-4.
- 34 Cleaver JE, Lam ET, Revet I. Disorder of nucleotide excision repair: the genetic and molecular basis of heterogeneity. *Nat Rev Genet*. 2009;10(11):756-68.

- 35 Matsumura Y, Nishigori C, Yagi T, Imamura S, Takebe H. Characterization of molecular defects in xeroderma pigmentosum group F in relation to its clinically mild symptoms. *Hum Mol Genet.* 1998;7(6):969-74.
- 36 Di Lucca J, Guedj M, Lacapère JJ, Fagnoli MC, Bourillon A, Dieudé P, Dupin N, Wolkenstein P, Aegerter P, Saiag P, Descamps V, Lebbe C, Basset-Seguín N, Peris K, Grandchamp B, Soufir N. Variants of the xeroderma pigmentosum variant gene (POLH) are associated with melanoma risk. *Eur J Cancer.* 2009;4(18):3228-36.
- 37 Lehmann A R, McGibbon D, Stefanini M. Xeroderma Pigmentosum. *Orphanet J Rare Dis.* 2001;6:70.
- 38 Menck CF, Munford V. DNA repair diseases: What do they tell us about cancer and aging? *Genet Mol Biol.* 2014;37(1 Suppl):220-33.
- 39 Vestergaard ME, Macaskill P, Holt PE, Menzies SW. Dermoscopy compared with naked eye examination for the diagnosis of primary melanoma: a meta-analysis of studies performed in a clinical setting. *Br J Dermatol.* 2008;159(3):669-76.
- 40 Salerni G, Carrera C, Lovatto L, Puig-Butille JA, Badenas C, Plana E, Puig S, Malvehy J. Benefits of total body photography and digital dermatoscopy (“two-step method of digital follow-up”) in the early diagnosis of melanoma in patients at high risk for melanoma. *J Am Acad Dermatol.* 2012;67(1):e17-27.
- 41 Pellacani G, Guitera P, Longo C, Avramidis M, Seidenari S, Menzies S. The Impact of In vivo reflectance confocal microscopy for the diagnostic accuracy of melanoma and equivocal melanocytic lesions. *J Invest Dermatol.* 2007;127(12):2759-65.
- 42 Malvehy J, Puig S, Martí-Laborda RM. Dermoscopy of skin lesions in two patients with xeroderma pigmentosum. *Br J Dermatol.* 2005;152(2):271-8.

- 43 Kittler H, Marghoob AA, Argenziano G, Carrera C, Curiel-Lewandrowski C, Hofmann-Wellenhof R, Malvehy J, Menzies S, Puig S, Rabinovitz H, Stolz W, Saida T, Soyer HP, Siegel E, Stoecker WV, Scope A, Tanaka M, Thomas L, Tschandl P, Zalaudek I, Halpern A. Standardization of terminology in dermoscopy/dermatoscopy: Results of the third consensus conference of the International Society of Dermoscopy. *J Am Acad Dermatol.* 2016;74(6):1093-106.
- 44 Menzies SW, Westerhoff K, Rabinovitz H, Kopf AW, McCarthy WH, Katz B. Surface microscopy of pigmented basal cell carcinoma. *Arch Dermatol.* 2000;136(8):1012-6.
- 45 Zalaudek I, Giacomel J, Schmid K, Bondino S, Rosendahl C, Cavicchini S, Tournalaki A, Gasparini S, Bourne P, Keir J, Kittler H, Eibenschutz L, Catricalà C, Argenziano G. Dermatoscopy of facial actinic keratosis, intraepidermal carcinoma, and invasive squamous cell carcinoma: A progression model. *J Am Acad Dermatol.* 2012;66(4):589-97.
- 46 Lallas A, Tschandl P, Kyrgidis A, Stolz W, Rabinovitz H, Cameron A, Gourhant JY, Giacomel J, Kittler H, Muir J, Argenziano G, Hofmann-Wellenhof R, Zalaudek I. Dermoscopic clues to differentiate facial lentigo maligna from pigmented actinic keratosis. *Br J Dermatol.* 2016;174(5):1079-85.
- 47 Green W, Wang S, Coggnetta Jr. AB. Total-body cutaneous examination, total-body photography, and dermoscopy in the care of a patient with xeroderma pigmentosum and multiple melanomas. *Arch Dermatol.* 2009;145(8):910-5.
- 48 Guitera P, Pellacani G, Crotty KA, Scolyer RA, Li LX, Bassoli S, Vinceti M, Rabinovitz H, Longo C, Menzies SW. The impact of in vivo reflectance confocal microscopy on the diagnostic accuracy of lentigo maligna and equivocal pigmented and nonpigmented macules of the face. *J Invest Dermatol.* 2010;130(8):2080-91.

- 49 Guitera P, Menzies S, Longo C, Cesinaro AM, Scolyer RA, Pellacani G. In vivo confocal microscopy for diagnosis of melanoma and basal cell carcinoma using a two-step method: analysis of 710 consecutive clinically equivocal cases. *J Invest Dermatol.* 2012;132(10):2386-94.
- 50 Longo C, Lallas A, Kyrgidis A, Rabinovitz H, Moscarella E, Ciardo S, Zalaudek I, Oliviero M, Losi A, Gonzalez S, Guitera P, Piana S, Argenziano G, Pellacani G. Classifying distinct basal cell carcinoma subtype by means of dermoscopy and reflectance confocal microscopy. *J Am Acad Dermatol.* 2014;71(4):716-24.e1.
- 51 Manfredini M, Longo C, Ferrari B, Piana S, Benati E, Casari A, Pellacani G, Moscarella E. Dermoscopic and reflectance confocal microscopy features of cutaneous squamous cell carcinoma. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2017;31(11):1828-33.
- 52 Shahriari N, Grant-Kels JM, Rabinovitz HS, Oliviero M, Scope A. Reflectance confocal microscopy criteria of pigmented squamous cell carcinoma in situ. *Am J Dermatopathol.* 2018;40(3):173-9.
- 53 DiGiovanna JJ., Kraemer KH. Shining a light on Xeroderma Pigmentosum. *J Invest Dermatol.* 2012;132(3 Pt 2):785-96.
- 54 Torezan LAR, Festa-Neto C. Cutaneous field cancerization: clinical, histopathological and therapeutic aspects. *An Bras Dermatol.* 2013;88(5):775-86.
- 55 Lambert WC, Lambert MW. Development of effective skin cancer treatment and prevention in xeroderma pigmentosum. *Photochem Photobiol.* 2015; 91(2):475-83.
- 56 Latour I, Hernández-Martín A, Ged C, Knöpfel N, Taïeb A, Torrelo A. Reversed actinic damage in two children with xeroderma pigmentosum treated with topical imiquimod. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2018;32(7):e282-e284.

- 57 Hanna E, Abadi R, Abbas O. Imiquimod in dermatology: an overview. *Int J Dermatol*. 2016;55(8):831-44.
- 58 Roseeuw D. The treatment of basal skin carcinomas in two sisters with xeroderma pigmentosum. *Clin Exp Dermatol*. 2003;28(Suppl. 1):30-2.
- 59 Weisberg NK, Varghese M. Therapeutic response of a brother and sister with xeroderma pigmentosum to imiquimod 5% cream. *Dermatol Surg*. 2002;28(6):518-23.
- 60 Nagore E, Sevilla A, Sanmartin O, Botella-Estrada R, Requena C, Serra-Guillen C, Sanchez-Pedreño P, Guillen C. Excellent response of basal cell carcinomas and pigmentary changes in xeroderma pigmentosum to imiquimod 5% cream. *Br J Dermatol*. 2003;149(4):858-61.
- 61 Malhotra AK, Gupta S, Khaitan BK, Verma KK. Multiple basal cell carcinomas in xeroderma pigmentosum treated with imiquimod 5% cream. *Pediatr Dermatol*. 2008;25(4):488-91.
- 62 Yang JQ, Chen XY, Engle MY, Wang JY. Multiple facial basal cell carcinomas in xeroderma pigmentosum treated with topical imiquimod 5% cream. *Dermatol Ther*. 2015;28(4) 243-7.
- 63 Giannotti B, Vanzi L, Difonzo EM, Pimpinelli N. The treatment of basal cell carcinomas in a patient with xeroderma pigmentosum with a combination of imiquimod 5% cream and oral acitretin. *Clin Exp Dermatol*. 2003;28(Suppl. 1): 33-5.
- 64 Faria Licarião Rocha LK, Ferreira P, Avancini J, Castro LP, Najjar Z, Rivitti-Machado MC, Samorano LP, Barbosa CF, Colacique C, Festa-Neto C. Dermoscopic features of 61 skin lesions in xeroderma pigmentosum patients: A cross-sectional study. *J Am Acad Dermatol*. 2021;S0190-9622(21)01008-2.

- 65 Rocha L, Ferreira PS, Avancini J, Lourenço S, de Freitas Barbosa C, Colacique C, Festa-Neto C. In vivo confocal microscopy of dermoscopic suspicious lesions in Xeroderma Pigmentosum patients - a cross-sectional study. *J Am Acad Dermatol.* 2019;83(6):1668-73.
- 66 Rocha LKFL, Vilain RE, Scolyer RA, Lo SN, Drummond M, Star P, Fogarty GB, Hong AM, Guitera P. Confocal microscopy, dermoscopy and histopathology features of atypical intraepidermal melanocytic proliferations associated with evolution to melanoma in situ. *Int J Dermatol.* 2021 Aug 5. doi: 10.1111/ijd.15815.
- 67 Powell AM, Robson AM, Russell-Jones R, Barlow RJ. Imiquimod and lentigo maligna: a search for prognostic features in a clinicopathological study with long-term follow-up. *Br J Dermatol* 2009;160(5):994-8.
- 68 Hashemi P, Pulitzer M P, Scope A, Kovalyshyn I, Halpern AC, Marghoob AA. Langerhans cells and melanocytes share similar morphologic features under in vivo reflectance confocal microscopy: A challenge for melanoma diagnosis. *J Am Acad Dermatol.* 2012;66(3):452-62.
- 69 Wysenbeek AJ, Weiss H, Duczyminer-Kahana M, Grunwald MH, Pick AI. Immunologic alterations in xeroderma pigmentosum patients. *Cancer.* 1986;58(2):219-21.
- 70 Klein E, Holtermann O, Milgrom H, Case RW, Klein D, Rosner D, Djerassi I. Immunotherapy for accessible tumors utilizing delayed hypersensitivity reactions and separated components of the immune system. *Med Clin North Am.* 1976;60(3):389-418.
- 71 Fischelevich R, Zhao Y, Tuchinda P, Liu H, Nakazono A, Tammaro A, Meng TC, Lee J, Gaspari AA. Imiquimod-induced TLR7 signaling enhances repair of DNA damage induced by ultraviolet light in bone marrow-derived cells. *J Immunol.* 2011;187(4):1664-73.