

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DE MELANÓCITOS: A INFLUÊNCIA
DA EXPOSIÇÃO SOLAR**

DANIELA MAYUMI TAKANO

RECIFE

2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DE MELANÓCITOS: A INFLUÊNCIA
DA EXPOSIÇÃO SOLAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Mestre em Patologia.

Orientadora: Profa. Dra. Maria do Carmo Abreu e Lima

RECIFE

2009

Takano, Daniela Mayumi

Análise histológica de melanócitos: a influência da exposição / Daniela Mayumi Takano. – Recife : O Autor, 2009.

90 folhas : il., fig., tab., gráf.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Patologia, 2009.

Inclui bibliografia, anexos e apêndices.

1. Melanócitos - Morfologia. I. Título.

616.5-001.15	CDU (2.ed.)	UFPE
616.5	CDD (22.ed.)	CCS2009-122

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

R E I T O R

Prof. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE- REITOR

Prof. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

D I R E T O R DO CENTRO DE CIÊNCIA DA SAÚDE

Prof. José Thadeu Pinheiro

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA

Prof. Adriana Maria da Silva Telles

COORDENADOR DO MESTRADO EM PATOLOGIA

Prof. Nicodemos Teles de Pontes Filho

VICE-COORDENADOR DO MESTRADO EM PATOLOGIA

Prof. Hilton Justino da Silva

R E C I F E

2009

■



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Patologia

Av. Prof. Moraes Rego s/n - Cidade Universitária - CEP: 50670-901 - Recife - PE
Prédio da Pós-graduação do Centro de Ciências da Saúde (CCS) - térreo
Fone/Fax: (81) 2126.8529
<http://www.pgmap@ufpe.br> <http://www.pospat.ufpe.br>



AUTORA: **DANIELA MAYUMI TAKANO**

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: **PATOLOGIA GERAL.**

NOME DA DISSERTAÇÃO: **"ANÁLISE MORFOLÓGICA DE MELANÓCITOS - A INFLUÊNCIA DA EXPOSIÇÃO SOLAR".**

ORIENTADORA: **PROFA. DRA. MARIA DO CARMO CARVALHO DE ABREU E LIMA.**

DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM PATOLOGIA.

DATA: 11 DE AGOSTO DE 2009.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. ROBERTO JOSÉ VIEIRA DE MELLO

Prof. HILTON JUSTINO DA SILVA

Prof.^a ANA PAULA VERAS SOBRAL

À minha mãe.

AGRADECIMENTOS

Agradeço àqueles que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento desta dissertação com apoio, incentivo e inspiração. Em especial para Adriano Marcusso de Vasconcellos, Eunice de Vasconcelos Ribeiro, Josemir Belo, Hilton Justino da Silva, Maria do Carmo Abreu e Lima, Telma Campello, Luciana Gurgel e Paula Abreu e Lima.

RESUMO

Introdução: Acredita-se que a exposição solar possa alterar o número, a distribuição e morfologia dos melanócitos na pele humana, muitas vezes dificultando a interpretação correta de biópsias de pele, principalmente no que se refere ao diagnóstico de lesões melanocíticas iniciais e avaliação precisa de margens de ressecção. **Objetivo:** O objetivo deste trabalho foi avaliar a densidade, distribuição e morfologia dos melanócitos da pele humana em área exposta e não exposta ao sol. **Metodologia:** Realizada a análise histológica de 60 fragmentos de biópsias de pele obtidas do antebraço (área fotoexposta) e da região glútea (área duplamente coberta) de cadáveres do Serviço de Verificação de Óbitos de Recife/Pernambuco. Os cálculos estatísticos foram realizados no software SPSS for Windows versão 12.0 - *Statistical Package for the Social Science*. **Resultados:** Observou-se um número bastante variável de melanócitos nos fragmentos de pele, com uma maior concentração destas células na região do antebraço (área de maior fotoexposição) ($p < 0,001$). Notou-se também uma distribuição irregular dos melanócitos ao longo da camada basal da epiderme, por vezes com células dispostas lado a lado. Esta confluência foi identificada com maior frequência nas amostras de maior celularidade e na área fotoexposta ($p = 0,035$), não se observando mais do que 4 melanócitos distribuídos de forma contínua. A atipia citológica foi encontrada em 40% das amostras de pele da área fotoexposta, estando ausente na área fotoprottegida. Não se observou a formação de ninhos e tampouco disseminação pagetóide. **Conclusão:** Existe grande variabilidade da densidade e distribuição dos melanócitos na pele humana. A presença de atipia citológica e confluência celular não devem ser usados como critérios isolados para a definição de uma lesão neoplásica.

Palavras-chave: Melanócitos. Densidade. Morfologia.

ABSTRACT

Introduction: It is believed that sun exposure can change the number, distribution and morphology of melanocytes in human skin, often challenging the correct interpretation of skin biopsies, especially in the determination of initial intraepithelial melanocytic lesions and the assessment of resection margins. **Objective:** Our objective was to evaluate the density, distribution and morphology of melanocytes in sun-exposed skin. **Methodology:** 60 skin biopsy specimens obtained from the forearm (sun-exposed skin) and the buttock (covered skin) from cadavers of the Serviço de Verificação de Óbitos - Recife / Pernambuco were submitted to histological analysis. Statistical calculations were performed in SPSS for Windows version 12.0 - Statistical Package for Social Science. **Results:** There was great variability in melanocyte density in the samples from the forearm and buttock regions, with a higher concentration of these cells in the sun-exposed areas ($p < 0,001$). There was also an irregular distribution of melanocytes along the epidermal basal layer, with occasional cells being arranged side by side. This confluence was identified more frequently in specimens with greater cellularity and in sun-exposed areas ($p = 0,035$), and did not exceed more than 4 adjacent melanocytes. Cytological atypia was found in 40% of the samples from sun-exposed skin, and was absent in the covered areas. Nesting of melanocytes and pagetoid spread were not seen. **Conclusion:** There is great variability in the density and distribution of melanocytes in human skin. The presence of cytological atypia and cell confluence should not be used alone as criteria for the definition of a neoplastic lesion.

Keywords: Melanocytes. Density. Morphology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

MÉTODOS

FIGURA 1 - Método de obtenção de amostras de pele através de biópsia realizada por <i>punch</i> .	31
---	----

ARTIGO ORIGINAL

FIGURA 1 – Distribuição de melanócitos ao longo da camada basal em área de baixa concentração celular.	53
FIGURA 2 – Distribuição de melanócitos ao longo da camada basal em área de alta concentração celular.	53
FIGURA 3 – Irregularidade na distribuição dos melanócitos ao longo da camada basal.	54
FIGURA 4 – Área de confluência de melanócitos.	54
FIGURA 5 – Área de confluência de melanócitos.	55
FIGURA 6 – Área de confluência de melanócitos.	55
FIGURA 7 – Alteração da morfologia dos melanócitos. Pleomorfismo citológico.	56
FIGURA 8 – Alteração da morfologia dos melanócitos. Melanócito exibindo binucleação.	56
FIGURA 9 – Alteração da morfologia dos melanócitos. Melanócito exibindo binucleação.	57
FIGURA 10 – Alteração da morfologia dos melanócitos. Aumento do volume nuclear.	57
FIGURA 11 – Alteração da morfologia dos melanócitos. Atipia citológica.	58
Figura 12. Imunomarcção dos melanócitos através da reação com o anticorpo MelanA, utilizando o cromógeno diaminobenzidina (DAB) e contracoloração com hematoxilina.	59
Figura 13. Imunomarcção dos melanócitos através da reação com o anticorpo MelanA, utilizando o cromógeno diaminobenzidina (DAB) e contracoloração com giemsa.	59

LISTA DE TABELAS

ARTIGO DE REVISÃO

TABELA 1 – Características metodológicas dos estudos selecionados sobre variação quantitativa e qualitativa de melanócitos. 27

TABELA 2 – Variáveis analisadas e a sua influência na densidade dos melanócitos da pele. 28

TABELA 3 – Alterações da morfologia e distribuição dos melanócitos. 29

MÉTODOS

TABELA 1 – Tipos reativos de pele segundo a escala de Fitzpatrick. 32

ARTIGO ORIGINAL

TABELA 1 – Distribuição da frequência de confluência de melanócitos segundo a fotoexposição. 52

TABELA 2 – Comparação da média de idade segundo a presença de atipia citológica. 52

LISTA DE GRÁFICOS

ARTIGO ORIGINAL

GRÁFICO 1 - Intervalo de confiança de 95% para as médias de melanócitos segundo a fotoexposição.	51
GRÁFICO 2 – Diagrama de dispersão entre a média de melanócitos na área fotoprotégida e a idade.	51

SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO -----	12
2. REVISÃO DA LITERATURA -----	16
2.1 Artigo de Revisão -----	17
3. MÉTODOS -----	31
3.1 Obtenção das amostras -----	31
3.2 Aspectos éticos -----	32
3.3 Processamento histotécnico -----	32
3.4 Contagem e avaliação dos melanócitos -----	33
3.5 Estudo imuno-histoquímico complementar -----	33
3.6 Análise estatística -----	34
4. RESULTADOS -----	36
4.1 Artigo Original -----	37
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS -----	61
APÊNDICES -----	66
ANEXOS -----	69

APRESENTAÇÃO

1. APRESENTAÇÃO

Melanócitos são células derivadas da crista neural, que migram para a pele e dispõem-se ao longo da junção dermo-epidérmica. Sintetizam melanina, e distribuem este pigmento para os ceratinócitos circunjacentes. A principal função da melanina é proteger a pele contra os efeitos deletérios da luz solar através da absorção dos raios ultra-violetas.

Acredita-se que os melanócitos constituam cerca de 2 a 4% da população celular da epiderme, e apresentam baixo índice proliferativo.

Na microscopia óptica, caracterizam-se por possuir núcleo pequeno, arredondado, de tamanho menor e mais basofílico do que dos ceratinócitos, com citoplasma claro, translúcido.

Szabó (1954) iniciou os primeiros estudos sobre frequência e distribuição de melanócitos na pele humana em diferentes regiões do corpo. Para tal avaliação utilizou a reação de dopamina em preparados de epiderme após clivagem em solução salina. Observou que havia grande variabilidade na distribuição destas células entre os indivíduos e conforme a região anatômica.

Posteriormente outros autores usando da mesma metodologia chegaram a resultados semelhantes e complementares. Dentre eles, a ausência de influência do sexo e raça (tipo de pele) no número total de melanócitos, e uma tendência a diminuição destas células com a idade. Descreveram também a presença ocasional de dismorfismo citológico, mais evidente nas áreas de maior fotoexposição. (SZABÓ, 1954; STARICCO e PINKUS, 1957; MITCHELL, 1963; QUEVEDO *et al*, 1965; GILCHREST *et al*, 1979).

Na tentativa de melhor compreender os efeitos da fotoexposição na concentração dos melanócitos, Quevedo *et al* (1965) realizaram estudo em cinco indivíduos voluntários, submetendo o lado esquerdo da região glútea à exposição de lâmpada emissora de raios UVB, usando o lado direito como controle. Verificaram um maior número de células na área fotoexposta, com um aumento no tamanho celular e nos prolongamentos dendríticos. Gilchrest *et al* (1979) chegaram a resultados similares, utilizando a face lateral do braço (área de maior fotoexposição) e medial (controle).

Tais estudos foram muito importantes para o entendimento inicial da distribuição dos melanócitos na pele humana e a sua variação com a exposição solar. Entretanto, a complexa técnica histoquímica aplicada não fornece dados comparativos para a interpretação de preparações histológicas utilizadas na prática médica de rotina.

São poucos os relatos sobre a distribuição de melanócitos e a sua variação morfológica em fragmentos de pele sem lesão macroscópica utilizando preparações histológicas coradas pela hematoxilina e eosina.

Fallowfield *et al* (1991) examinaram fragmentos de pele sã da região glútea e do antebraço, fazendo uma contagem do número de melanócitos para cada 200 ceratinócitos basais. Chegaram a uma proporção média de um melanócito para cada dez ceratinócitos basais, com uma maior concentração na região de maior fotoexposição.

A proliferação anormal dos melanócitos pode dar origem a uma grande variabilidade de neoplasias benignas e malignas, com características clínicas e anatomopatológicas distintas. O melanoma, tumor maligno originado nos melanócitos, é a neoplasia cutânea de maior importância clínica, apesar da sua menor prevalência em relação aos carcinomas, pois muitas vezes pode apresentar curso clínico fatal, com tendência a disseminação linfática e hematogênica. (OMS, 2006).

Exposição solar intermitente é considerada um importante fator de risco ambiental para o desenvolvimento do melanoma, atuando sempre em conjunto com fatores endógenos individuais, incluindo a susceptibilidade genética.

O melanoma acomete principalmente indivíduos de pele clara, mas também pode ocorrer em outros grupos étnicos. Apresentou um grande aumento na sua incidência nos últimos tempos - alteração possivelmente relacionada com um hábito de vida associado à maior exposição solar.

A prevenção primária e a detecção precoce são as formas mais promissoras para diminuir a mortalidade relacionada ao melanoma. Desta forma, diversos esforços têm sido empregados para melhor compreender as etapas da tumorigênese desta neoplasia, com o objetivo de fornecer um maior número de critérios para o diagnóstico de lesões iniciais, além de auxiliar na identificação dos indivíduos de maior susceptibilidade para o desenvolvimento desta doença.

A atualidade trouxe situações, como o diagnóstico precoce de lesões iniciais e avaliação precisa de margens de ressecção, onde o reconhecimento da variação da morfologia do melanócito é de fundamental importância para a definição diagnóstica.

Baseados nestas dificuldades, Hendi *et al* em 2006 e Barlow *et al* em 2007 estudaram preparações histológicas de fragmentos de pele sem lesão macroscópica da periferia de espécimes cirúrgicos retirados durante o tratamento de neoplasias cutâneas melanocíticas e não melanocíticas. Observaram grande variabilidade e irregularidade na distribuição dos melanócitos ao longo da junção dermo-epidérmica, com áreas de confluência celular e extensão pelo epitélio folicular.

Fatores constitucionais individuais, região anatômica e alterações ambientais, em especial a fotoexposição, parecem influenciar o número, morfologia e forma de distribuição dos melanócitos.

Este trabalho visa obter mais informações sobre a variação da distribuição e morfologia dos melanócitos na pele humana sem lesão macroscópica em preparações histológicas usadas na prática médica de rotina, e verificar a influência da exposição solar nas características destas células.

O presente estudo foi desenvolvido com o apoio do Departamento de Patologia e do Departamento de Dermatologia da Universidade Federal de Pernambuco, tendo como orientadora a Profa. Dra. Maria do Carmo Abreu e Lima.

Esta dissertação deu origem a dois artigos científicos. O primeiro, intitulado com **Estudo Quantitativo e Qualitativo de Melanócitos da Pele Humana – Revisão Sistemática**, que foi submetido à avaliação como artigo de revisão para o periódico Revista Brasileira de Epidemiologia (vide ANEXO D). E o segundo, com título de: **Variação Morfológica de Melanócitos – A Influência da Exposição Solar**, que foi submetido como artigo original para a apreciação do Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (vide ANEXO F).

REVISÃO DA LITERATURA

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Artigo de Revisão Sistemática

O capítulo de revisão da literatura será apresentado no formato de artigo de revisão sistemática, intitulado como “Estudo quantitativo e qualitativo de melanócitos da pele humana – Revisão Sistemática”. Este artigo foi submetido a publicação na Revista Brasileira de Epidemiologia, e as normas para publicação estão contidas no ANEXO C.

Estudo Quantitativo e Qualitativo de Melanócitos da Pele Humana – Revisão Sistemática

Quantitative and Qualitative Analysis of Melanocytes from the Human Skin – A Systematic Review

Daniela Mayumi TAKANO ^{1,2}

Hilton Justino da SILVA ¹

Maria do Carmo Carvalho ABREU e LIMA ¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Patologia, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

² Centro de Estudos Dermatológicos do Recife – CEDER

Correspondência:

Daniela Takano

Avenida Beira-Mar, 500 – apto 304

CEP: 54400-010 Piedade/Jaboatão dos Guararapes – PE

danielatakano65@hotmail.com

Resumo

Introdução: O reconhecimento da variação da morfologia e distribuição dos melanócitos na pele humana é muito importante para a interpretação dos achados de biópsias, principalmente para o diagnóstico precoce correto de lesões neoplásicas intraepiteliais iniciais e avaliação precisa de margens de ressecção. **Objetivo:** Analisar estudos sobre a variação morfológica dos melanócitos da pele sem lesão macroscópica, a fim de fornecer parâmetros para a adequada avaliação histológica, e verificar as alterações relacionadas com a exposição ultravioleta. **Métodos:** Realizada revisão sistemática na base de dados da [MEDLINE](#), [LILACS](#), [Biblioteca Cochrane](#) e [SciELO](#), utilizando o descritor “melanócitos”, associado a “densidade”, “morfologia” ou “citologia” e seus correspondentes em inglês. Foram selecionados os trabalhos que utilizavam da microscopia óptica para estudo dos melanócitos. **Resultados:** A maior parte dos estudos mostrou grande variabilidade das características destas células entre os indivíduos e entre diferentes localizações anatômicas, com uma maior concentração nas áreas de maior fotoexposição. Os resultados são diversos ao se comparar as características dos melanócitos com a história de câncer cutâneo, em especial o melanocítico. **Conclusões:** O progresso na compreensão, diagnóstico e tratamento de lesões melanocíticas está intimamente relacionado com o conhecimento básico dos melanócitos, sua distribuição e características. Estudos complementares, inclusive realizados em população brasileira, poderão contribuir para o melhor entendimento do significado destes achados.

Palavras-chave: Melanócitos. Densidade. Morfologia. Pele. Revisão Sistemática.

Abstract

Introduction: Understanding the variability of morphology and distribution of melanocytes in human skin is very important for the interpretation of biopsy findings, especially for the correct diagnosis of initial malignant intraepithelial lesions, and the assessment of resection margins. **Objective:** To analyze prior studies done on the morphological variation of melanocytes in the human skin showing no macroscopic lesions, in order to provide parameters for histological evaluation, and collect data on changes related to UV exposure. **Methods:** A systematic review was conducted using the MEDLINE database, LILACS, Cochrane Library and SciELO, using "melanocytes," associated with "density", "morphology" or "cytology". Studies using optical microscopy to analyze melanocytes were selected. **Results:** Most articles showed great variability of cell characteristics among individuals and different anatomical regions, with a greater cell concentration in photoexposed areas. Results varied when melanocyte characteristics and history of skin cancer were compared, especially for the melanocytic type of cancer. **Conclusions:** The progress in the diagnosis and treatment of melanocytic lesions is closely related to the basic knowledge of melanocytes, their distribution and characteristics. Additional studies, also conducted in brazilian populations, may contribute to a better understanding of the significance of these findings.

Keywords: Melanocytes. Density. Morphology. Skin. Systematic Review.

Introdução

Melanócitos são células derivadas da crista neural, que migram para a pele e dispõem-se ao longo da junção dermo-epidérmica. Sintetizam melanina, cuja principal função é proteger a pele contra os efeitos deletérios da luz solar através da absorção dos raios ultra-violetas. Acredita-se que os melanócitos constituam cerca de 2 a 4% da população celular da epiderme, e apresentam baixo índice proliferativo ^(1,2).

O melanoma é a neoplasia maligna originada dos melanócitos. Corresponde apenas a cerca de 4% dos cânceres de pele, porém é a principal causa de mortalidade relacionada a câncer cutâneo ^(3,4).

O desenvolvimento do melanoma é multifatorial e está associado a diversos fatores de risco, dentre eles a susceptibilidade aos efeitos carcinogênicos da radiação ultravioleta ^(5,6). É sabido que a exposição solar induz alterações não somente no metabolismo dos melanócitos, mas também em seu número e forma ^(7,8,9).

O reconhecimento da variação da morfologia e distribuição dos melanócitos na pele humana é muito importante para a interpretação dos achados de biópsias cutâneas, principalmente para o diagnóstico precoce correto de lesões intraepiteliais iniciais e avaliação precisa de margens de ressecção. Tais avaliações são indispensáveis para o tratamento precoce e adequado, com maiores chances de cura.

Esta revisão visa analisar estudos sobre a variação morfológica dos melanócitos da pele sem lesão macroscópica, a fim de fornecer parâmetros para a interpretação de biópsias de pele e compreender as alterações relacionadas com a exposição ultravioleta.

Metodologia

Realizada busca eletrônica na base de dados da [MEDLINE - Literatura Internacional em Ciências da Saúde](#), [LILACS - Literatura Latino-Americana e do](#)

[Caribe em Ciências da Saúde](#), [Biblioteca Cochrane](#) e [SciELO - Scientific Electronic Library Online](#), utilizando o descritor “melanócitos”, associado a “densidade”, “morfologia” ou “citologia” e seus correspondentes em inglês. Feita também revisão manual da lista de referências bibliográficas dos artigos selecionados.

O principal critério de inclusão foi o método usado para a avaliação dos melanócitos. Foram selecionados apenas os trabalhos que estudavam tais células em fragmentos de pele humana sem lesão macroscópica através da microscopia óptica, e que utilizavam para tal avaliação a reação de dopamina em preparados de epiderme ou preparações histológicas coradas pela técnica de hematoxilina e eosina e/ou imunohistoquímica para antígenos melanocíticos.

Resultados

Dos 232 artigos resultantes da busca eletrônica, três preencheram adequadamente os critérios de inclusão. Outros seis trabalhos foram selecionados a partir da lista de referências.

A Tabela 1 traz informações sobre o método de avaliação, o tipo do material, a localização anatômica, o número total da amostra e a forma que os resultados são expressos. Os estudos estão distribuídos em ordem cronológica.

Os primeiros estudos utilizaram da técnica de reação de dopamina em preparados de epiderme após clivagem em solução salina (salt-split) ^(7,9,10,11,12). A partir de 1991, a avaliação foi feita em preparações histológicas coradas pela técnica de hematoxilina e eosina e/ou imunohistoquímica para antígenos melanocíticos - métodos utilizados atualmente na prática médica de rotina ^(13,14,15,16).

Foram analisados fragmentos de pele de espécimes cirúrgicos e de indivíduos voluntários de diferentes localizações anatômicas, por vezes estudando a fotoexposição

como variável influenciadora nas características e distribuição dos melanócitos (7,9,12,13,14).

Os resultados dos estudos são apresentados na Tabela 2, onde são descritas as principais variáveis consideradas e a sua influência nas características dos melanócitos.

A maior parte dos trabalhos evidenciou uma relação inversa entre a idade e o número de melanócitos. Em relação ao sexo e tipo de pele, nenhum dos trabalhos mostrou diferença significativa entre os grupos.

Observa-se grande variabilidade na distribuição destas células entre os indivíduos e conforme a região anatômica, com tendência a maior concentração nas áreas de maior fotoexposição.

Considerando o antecedente pessoal de neoplasias cutâneas, com especial atenção para pacientes com melanoma e múltiplos nevos displásicos, apenas Barlow *et al* em 2007 verificaram uma maior concentração de melanócitos na pele sã adjacente a fragmento retirado durante tratamento de melanoma (13,14,15,16).

A Tabela 3 resume as principais alterações da morfologia e distribuição dos melanócitos nos trabalhos selecionados. Nas áreas de maior fotoexposição foram descritas um maior número de alterações morfológicas, com presença de formas atípicas.

Discussão

Nesta revisão, os estudos mostraram grande variabilidade na densidade e distribuição de melanócitos entre os indivíduos e nas diferentes regiões anatômicas (7,10,11,13,14). As localizações de maior densidade de melanócitos foram as regiões de cabeça e pescoço, dorso/ombros e genitais. Tais achados são resultados de uma multiplicidade de fatores, individuais, ambientais, e provavelmente também embriológicos.

Não se verificou variação significativa do número de melanócitos entre os grupos de diferentes tipos de pele e sexo. A diferença na cor da pele está provavelmente relacionada com uma maior produção de melanina ⁽¹¹⁾.

O impacto da idade na densidade de melanócitos foi abordado primeiramente por Szabó ⁽⁷⁾, Gilchrest *et al* ⁽⁹⁾ e Mitchell ⁽¹⁰⁾, com uma tendência a diminuição do número de células com o envelhecimento, porém as amostras avaliadas eram pequenas e de regiões anatômicas distintas. Whiteman *et al* ⁽¹⁴⁾ em 1999 observaram uma relação inversa significativa entre a idade e número de melanócitos em amostras de pele do dorso das mãos de 97 indivíduos.

Gilchrest *et al* ⁽⁹⁾ defenderam que a diferença anatômica do número de melanócitos esteja relacionada com o grau de fotoexposição. Em seu estudo realizado em fragmentos de pele do braço de voluntários, observaram uma diferença significativa do número de células da porção lateral do braço (área de maior fotoexposição), quando comparado ao da porção medial (área de menor fotoexposição). Quevedo *et al* ⁽¹²⁾ obtiveram resultados similares após induzir uma fotoexposição no lado esquerdo da região glútea e avaliar quantitativamente com o lado direito não-fotoexposto. Deve-se destacar que nestes trabalhos o estudo dos melanócitos foi feito através da reação de dopamina em preparados de epiderme, método histoquímico que marca apenas as células sensíveis a dopamina, não sendo possível definir se o aumento observado está associado a uma real multiplicação celular ou uma ativação da tirosinase pela luz solar em melanócitos primeiramente dopa-negativos.

Fallowfield *et al* ⁽¹³⁾ em 1991 verificaram pela primeira vez em preparações histológicas coradas pela hematoxilina e eosina uma maior concentração de melanócitos na área do antebraço (maior fotoexposição) quando comparada a da região glútea (menor fotoexposição).

É provável que variabilidade anatômica do número de melanócitos esteja não apenas relacionada com a fotoexposição, uma vez que a região dos genitais masculinos também apresenta grande quantidade destas células ⁽¹⁰⁾. Whiteman *et al* ⁽¹⁴⁾ sugerem que tal distribuição seja determinada durante a embriogênese semelhante ao que ocorre com os folículos pilosos, sendo por vezes modificada por influências hormonais.

Alterações e variabilidade na morfologia dos melanócitos foram encontradas em todos os trabalhos, exceto o de Whiteman *et al* ⁽¹⁴⁾ que não abordaram o tema. Nas áreas de maior fotoexposição foram vistas mais frequentemente.

Fallowfield *et al* ⁽¹³⁾, Hendi *et al* ⁽¹⁵⁾ e Barlow *et al* ⁽¹⁶⁾ descreveram tais alterações da morfologia e distribuição dos melanócitos em preparações histológicas, com a vantagem de fornecer parâmetros comparativos para a prática médica de rotina. Descreveram além da atipia citológica, presença de confluência de melanócitos e extensão pelo epitélio folicular nas áreas de maior concentração de tais células – alterações estas por vezes compartilhadas com neoplasias melanocíticas intraepiteliais.

Nos poucos estudos mais recentes foi avaliada também a relação entre o número e características dos melanócitos nos pacientes portadores de história de melanoma e/ou nevos displásicos ^(13,14,15,16). Apenas Barlow *et al* ⁽¹⁶⁾ verificaram maior concentração dos melanócitos em pacientes tratados para melanoma. Não é possível definir ainda se tal achado representa um real “efeito de campo” - suposta alteração morfológica neoplásica incipiente presente na pele adjacente a tumores malignos melanocíticos ^(18,19), ou apenas uma característica particular da pele analisada, incluindo alterações individuais associadas a efeitos relacionados com a fotoexposição.

Considerações Finais

O progresso na compreensão, diagnóstico e tratamento de lesões melanocíticas está intimamente relacionado com o conhecimento básico dos melanócitos, sua distribuição e características.

Vale ressaltar que nenhum dos artigos selecionados foi realizado em amostra de população brasileira, com as suas características étnicas, demográficas e ambientais próprias.

Referências Bibliográficas

1. A. Bernard Ackerman, Almut Boer, Bruce Bennin, Geoffrey J. Gottlieb – Histologic Diagnosis of Inflammatory Skin Diseases – 3rd Edition. New York: Lippincott Williams e Wilkins; 2005.
2. David E Elder, Rosalie Elenitsas, Bennett Johnson Jr., George F. Murphy – Lever's Histopathology of the Skin – 9th Edition. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins; 2005.
3. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. CA Cancer J Clin. Mar-Apr 2005; 55(2):74-108.
4. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2007. CA Cancer J Clin. Jan-Feb 2007; 57(1):43-66.
5. Rhodes AR, Weinstock MA, Fitzpatrick TB, Mihm MC Jr, Sober AJ. Risk factors for cutaneous melanoma. A practical method of recognizing predisposed individuals. JAMA. Dec 4 1987; 258(21):3146-54.
6. Williams ML, Sagebiel RW. Melanoma risk factors and atypical moles. West J Med. Apr 1994; 160(4):343-50.
7. Mitchell RE. The effect of prolonged solar radiation on melanocytes of the human epidermis. J Invest Dermatol 1963; 41:199-212.
8. Rosdahl I. The epidermal melanocyte population and its reaction to ultraviolet light. Acta Derm Venereol Suppl (Stockh) 1979; 88:1-43.
9. Gilchrest BS, Blog FB, Szabo G. Effects of aging and chronic sun exposure on melanocytes in human skin. J Invest Dermatol 1979; 73:141-3.
10. Szabo G. The number of melanocytes in human epidermis. Br Med J 1954; 1:1016-1017.
11. Staricco RJ, Pinkus H. Quantitative and qualitative data on the pigment cells of adult human epidermis. J Invest Dermatol 1957; 28:33-44.
12. Quevedo WC, Szabo G, Virks J, Sinesi SJ. Melanocyte populations in UV-irradiated human skin. J Invest Dermatol. 1965; 45:295-298
13. Fallowfield ME, Curley RK, Cook MG. Melanocytic lesions and melanocyte populations in human epidermis. Br J Dermatol. 1991; 124:130-134.
14. Whiteman DC, Parsons PG, Green AC. Determinants of melanocyte density in adult human skin. Arch Dermatol Res. 1999 Sep; 291(9):511-6.

15. Hendi A, Brodland DG, Zitelli JA. Melanocytes in long-standing sun-exposed skin: quantitative analysis using the MART-1 immunostain. *Arch Dermatol*. 2006 Jul; 142(7):871-6.
16. Barlow JO, Maize J Sr, Lang PG. The density and distribution of melanocytes adjacent to melanoma and nonmelanoma skin cancers. *Dermatol Surg*. 2007 Feb; 33(2):199-207.
17. Cochran AJ. The incidence of melanocytes in normal skin. *J Invest Dermatol* 1970; 55:65-70.
18. Fallowfield ME, Cook MG. Epidermal melanocytes adjacent to melanoma and the field change effect. *Histopathology*. 1990; 17:397-400.
19. Wong CK. A study of melanocytes in the normal skin surrounding malignant melanoma. *Dermatologica* 1970; 141:215–25.

Tabela 1. Características metodológicas dos estudos selecionados sobre variação quantitativa e qualitativa de melanócitos.

Table 1. Methodological characteristics of the selected studies on the quantitative and qualitative analyzes of the melanocytes.

Autor, Ano	Material	Localização Anatômica	Número de Amostras	Método de Avaliação	Medida
Szabó, 1954	Fragmentos de pele de espécimes cirúrgicos	Coxa, braço, antebraço, cabeça e pescoço	25	Reação de dopamina em preparados de epiderme (pós - salt split)	Nº de melanócitos/mm ²
Staricco, 1957	Fragmentos de pele de espécimes cirúrgicos	Membros inferiores, abdômen, genitais, membros superiores, cabeça e pescoço, peito, dorso	63	Reação de dopamina em preparados de epiderme (pós - salt split)	Nº de melanócitos/mm ²
Mitchell, 1963	Fragmentos de pele de espécimes cirúrgicos	Membros inferiores, tronco, membros superiores, cabeça e pescoço	76	Reação de dopamina em preparados de epiderme (pós - salt split)	Nº de melanócitos/mm ²
Quevedo, 1965	Fragmentos de pele de voluntários homens	Região glútea – Fotoexposição por lâmpada emissora de raios UVB à esquerda e controle à direita	10, 5 de pele glútea à esquerda e 5 à direita	Reação de dopamina em preparados de epiderme (pós - salt split)	Nº de melanócitos/mm ²
Gilchrest, 1979	Fragmentos de pele de voluntários homens	Face lateral do braço (maior fotoexposição) e face medial do braço (menor fotoexposição)	16, 8 da face lateral do braço e 8 da face medial do braço	Reação de dopamina em preparados de epiderme (pós - salt split)	Nº de melanócitos/mm ²
Fallowfield, 1991	Fragmentos de pele de voluntários	Face extensora do antebraço (maior fotoexposição) e região glútea	168 , 84 do braço e 84 da região glútea	Preparações histológicas coradas por HE, e alguns casos corados por IHQ para o antígeno S100	Nº de melanócitos/200 ceratinócitos basais
Whiteman, 1999	Fragmentos de pele de voluntários homens	Dorso da mão (maior fotoexposição), dorso/ombro, tórax anterior, membro superior e inferior	97	Preparações histológicas coradas por IHQ para o antígeno B8G3	Nº de melanócitos/mm
Hendi, 2006	Fragmentos de pele de espécimes cirúrgicos	Cabeça e pescoço	132	Preparações histológicas coradas por IHQ para o antígeno MART-1	Nº de melanócitos/campo de grande aumento (x400, 0,5 mm)
Barlow, 2007	Fragmentos de pele de espécimes cirúrgicos	Cabeça e pescoço, tronco, membros inferiores e superiores, região palmo-plantar	180	Preparações histológicas coradas por HE	Nº de melanócitos/mm

Tabela 2. Variáveis analisadas e a sua influência na densidade dos melanócitos da pele.

Table 2. Analyzed variables and their influence on the density of the skin melanocytes.

Autor, Ano	Idade	Tipo de Pele	Sexo	Variação entre as Regiões Anatômicas	Fotoexposição	Antecedente de Neoplasias de Pele
Szabó, 1954	Diminuição ^o	Ausente	Ausente	Presente*	-	-
Staricco, 1957	Ausente	Ausente	Ausente	Presente*	-	-
Mitchell, 1963	Diminuição ^o	Ausente	Ausente	Presente*	Aumento**	-
Quevedo, 1965	-	-	-	-	Aumento **	-
Gilchrest, 1979	Diminuição ^o	-	-	-	Aumento **	-
Fallowfield, 1991	-	Ausente	-	Presente*	Aumento **	Ausente+++
Whiteman, 1999	Diminuição ^o	Ausente	-	Presente*	Ausente***	Ausente+++
Hendi, 2006	Diminuição ^o	-	-	-	Ausente +	Ausente +++
Barlow, 2007	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	-	Presente*+

- Não avaliado.

^o Diminuição do número de melanócitos com a idade.

* Maior concentração na região de cabeça e pescoço ^(7, 10, 11), nos genitais ⁽¹⁰⁾ e no dorso/ombro ⁽¹⁴⁾. Menor concentração no abdômen ⁽¹¹⁾ e tórax anterior ⁽¹⁴⁾.

** Maior concentração de melanócitos na área fotoexposta ^(7,9,12,13).

*** Avaliada história de exposição solar através de questionário ⁽¹⁴⁾.

+ Todas as amostras obtidas de área de fotoexposição crônica (região de cabeça e pescoço). Avaliada história recente de exposição solar através de questionário ⁽¹⁶⁾.

+++ História de melanoma ou nevos displásicos ^(13,14,15).

*+ Maior concentração na área adjacente a melanoma ⁽¹⁶⁾.

- Not evaluated.

^o Reduction of the number of melanocytes with age.

* Increased concentration in the head and neck region ^(7,10,11), in genital ⁽¹⁰⁾ and on the back / shoulder ⁽¹⁴⁾. Low concentration in the chest ⁽¹⁴⁾ and abdomen ⁽¹¹⁾.

** Highest concentrations of melanocytes in the photoexposed area ^(7,9,12,13).

*** Evaluated history of sun exposure through a questionnaire ⁽¹⁴⁾.

+ All samples obtained from areas of chronic photoexposure (head and neck region). Reviewed recent history of sun exposure through a questionnaire ⁽¹⁶⁾.

+++ History of melanoma or dysplastic nevi ^(13,14,15).

*+ Highest concentration in the area adjacent to melanoma ⁽¹⁶⁾.

Tabela 3. Alterações da morfologia e distribuição dos melanócitos.

Table 3. Variations in the morphology and distribution of melanocytes.

Autor, Ano	Alterações da Morfologia e Distribuição
Szabó, 1954	Presente
Staricco, 1957	Presente, dismorfismos
Mitchell, 1963	Presente, mais evidente nas áreas de fotoexposição, com formas atípicas, bi/multinucleação, distribuição irregular com formação de agregados
Quevedo, 1965	Presente, na área de fotoexposição, com aumento do tamanho e dos prolongamentos dendríticos
Gilchrest, 1979	Presente, apenas em 2 casos, na área de maior fotoexposição, com aumento do tamanho e dos prolongamentos dendríticos
Fallowfield, 1991	Presente, mais freqüente na área de maior fotoexposição
Whiteman, 1999	-
Hendi, 2006	Presente, distribuição irregular com confluência, e extensão pelo epitélio folicular
Barlow, 2007	Presente, com formas atípicas, confluência, formação de ninhos, disseminação pagetóide focal, extensão pelo epitélio folicular

- Não avaliado.

- Not evaluated.

MÉTODOS

3. MÉTODOS

3.1. Aspectos éticos

O projeto de pesquisa foi encaminhado ao Comitê de Ética, com aprovação sob a resolução nº 196/96 em 23/10/2007 – vide ANEXO A.

Os familiares e/ou responsáveis pelo corpo foram informados sobre a possibilidade de participação neste estudo antes da coleta das amostras. As biópsias foram realizadas somente após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – vide APÊNDICE B.

3.2. Obtenção das amostras

Foram obtidas 60 amostras de pele de cadáveres do Serviço de Verificação de Óbitos (S.V.O.) de Recife/Pernambuco através de biópsia realizada por *punch* de 5,0 milímetros. Figura 1.

Os fragmentos de pele foram coletados de áreas sem lesão macroscópica aparente, provenientes do membro superior, antebraço, face lateral (área fotoexposta) e da região glútea (área fotoprottegida, duplamente coberta).

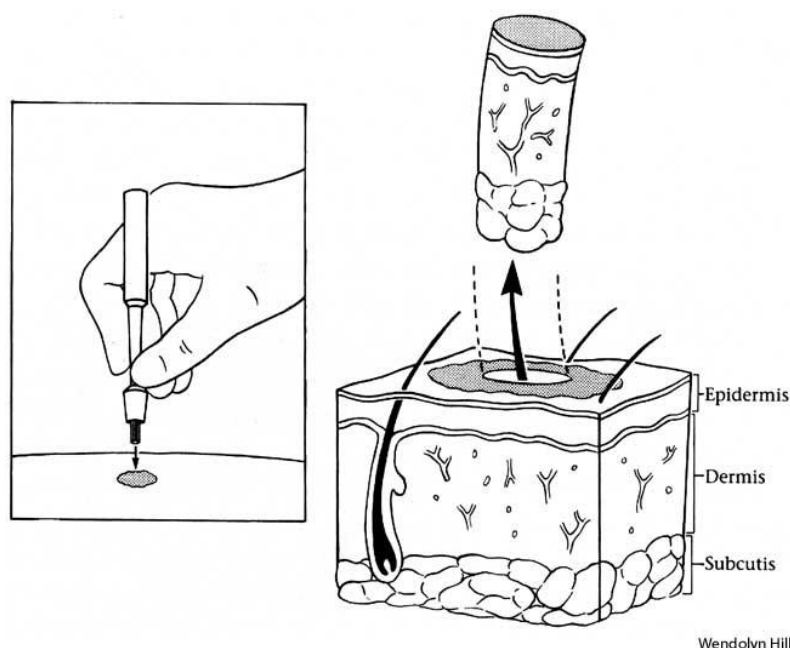


Figura 1. Método de obtenção de amostras de pele através de biópsia realizada por *punch*.

Os pacientes foram classificados pela idade, sexo e tipo reativo de pele (I-VI, conforme os critérios de Fitzpatrick) – vide APÊNDICE A.

A escala de Fitzpatrick foi desenvolvida em 1975 e classifica os indivíduos segundo suas características físicas e tolerância a luz solar. Tabela 1.

Tabela 1. Tipos reativos de pele segundo a escala de Fitzpatrick.

Tipo Reativo de Pele	Cor da Pele	Características
I	Branco, cabelos loiros ou ruivos, olhos azuis	Sempre queima, nunca bronzeia
II	Branco, cabelos loiros ou ruivos, olhos verdes, castanhos ou azuis	Usualmente queima, dificilmente bronzeia
III	Amarelo claro, qualquer cor de cabelo ou olhos	Às vezes queima, bronzeia gradualmente
IV	Marrom claro, tipo mediterrâneo	Raramente queima, bronzeia com facilidade
V	Marrom escuro	Muito raramente queima, bronzeia com muita facilidade
VI	Negro	Nunca queima, sempre bronzeia

3.3. Processamento histotécnico

O material foi fixado em formalina a 10%, e submetido a processamento histológico. Foram realizados recortes de aproximadamente 5 μ , os quais foram corados pela técnica de hematoxilina e eosina no laboratório de Patologia de Departamento de Dermatologia da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE e no laboratório privado (Unidade de Patologia, Recife).

3.4. Contagem e avaliação dos melanócitos

A junção dermo-epidérmica foi avaliada em 10 campos de grande aumento (x400), e o resultado foi expresso em número médio de melanócitos por campo de grande aumento (CGA). As lâminas foram nomeadas através de códigos, impossibilitando a identificação da amostra. O reconhecimento do melanócitos foi feito através das suas características morfológicas. Foram contados apenas os melanócitos presentes em um mesmo plano e com núcleos completamente visíveis.

A confluência dos melanócitos também foi avaliada, e classificada conforme o número de células dispostas lado a lado. Desta forma, considerou-se: ausência de confluência, confluência leve (2 -3 melanócitos), moderada (4 - 5 melanócitos) e acentuada (mais do que 5 melanócitos). Procurou-se também pela formação de ninhos (definida como 4 melanócitos em íntimo contato) e presença de disseminação pagetóide (ascensão de melanócitos para as demais camadas do epitélio).

A atipia citológica foi definida como ausente ou presente, observando-se as seguintes alterações da morfologia: aumento do volume nuclear, nucléolo evidente, pleomorfismo, hipercromasia, bi/multinucleação.

As informações obtidas foram incluídas em uma ficha de dados (vide APÊNDICE A).

3.5. Estudo imuno-histoquímico complementar

O estudo imuno-histoquímico para o antígeno Melan-A (Clone A103, DAKO) foi realizado em 10 amostras aleatórias de pele da área fotoexposta (membro superior) e em 10 amostras da área fotoprottegida (região glútea) para fins comparativos em laboratório privado (Imunopat, Recife). Realizou-se, inicialmente, a reação com o anticorpo monoclonal anti-MelanA/MART-1, revelada através do cromógeno diaminobenzidina (DAB), com contracoloração pela hematoxilina de Harris.

Em um segundo momento, em casos selecionados, para facilitar a distinção entre a positividade da cor marrom acastanhada fornecida pelo cromógeno DAB do pigmento marrom de melanina presente nos ceratinócitos, foi utilizado a contracoloração com Giemsa, conforme metodologia proposta por Sálvio e Marques em 2006. Esta análise complementar foi realizada em caráter ilustrativo, com o objetivo de verificar, dentre as técnicas disponíveis, qual seria a melhor para evidenciar os melanócitos na pele humana sem lesão macroscópica. Todavia, a metodologia escolhida para a contagem de melanócitos neste estudo foi a avaliação de preparações histológicas coradas pela hematoxilina e eosina, dada a sua maior aplicabilidade na rotina do diagnóstico histopatológico e o seu baixo custo.

3.6. Análise estatística

Os cálculos estatísticos foram realizados no software SPSS for Windows versão 12.0 - Statistical Package for the Social Science. O nível de significância assumido foi de 5%.

Para a comparação das médias de melanócitos entre as áreas fotoexposta e fotoprottegida foi aplicado o teste t-Student pareado (VIERA, 1998), pois trata-se de dados provenientes de um mesmo indivíduo. A variável média de melanócitos apresentou

distribuição normal pelo teste de Kolmogorov-Smirnov (SIEGEL, 1988), que é condição para a utilização de metodologia paramétrica. Para as demais comparações entre médias aplicou-se o teste t-Student não-pareado.

Para análise de correlação, calculou-se o coeficiente de correlação de Pearson (r) (VIERA, 1998), que é uma medida entre -1 e 1, onde o valor zero indica que as variáveis analisadas não possuem correlação (o comportamento de uma variável independe da outra). Aplicou-se também um teste de significância.

Para a comparação entre mais do que 2 grupos, utilizou-se a metodologia de Análise de Variância (ANOVA). Para as variáveis cujo valor do teste foi significativo ($p\text{-valor} < 0,05$), foi feita uma análise de comparações múltiplas, através do teste LSD, com a finalidade de determinar em quais pares de grupos se encontrava a diferença.

Para a comparação entre a diferença da proporção entre os grupos foi aplicado o teste McNemar.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 Artigo Original

O capítulo de resultados será apresentado no formato de artigo original, intitulado como “Variação Morfológica de Melanócitos – A Influência da Exposição Solar”. Este artigo foi submetido à publicação na *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, e as normas para publicação estão contidas no ANEXO E.

Variação Morfológica de Melanócitos – A Influência da Exposição Solar

Melanocytes Morphological Variation - The Influence of Sunlight

Daniela Mayumi TAKANO ¹

Maria do Carmo ABREU e LIMA ²

¹ Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Patologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

² Professora Doutora do Departamento de Patologia da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

*Desenvolvido no Departamento de Patologia da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, no Departamento de Dermatologia da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE e no Serviço de Verificação de Óbitos do Recife / Pernambuco.

**Autor responsável pela correspondência: Daniela Takano.

*** Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Mestre em Patologia. UFPE, 2009.

Resumo

Introdução: Acredita-se que a exposição solar possa alterar o número, a distribuição e morfologia dos melanócitos na pele humana, muitas vezes dificultando a interpretação correta de biópsias de pele, principalmente no que se refere ao diagnóstico de lesões melanocíticas iniciais e avaliação precisa de margens de ressecção. **Objetivo:** Avaliar a densidade, distribuição e morfologia dos melanócitos da pele humana em área exposta e não exposta ao sol. **Materiais e Métodos:** Realizada a análise histológica de 60 fragmentos de biópsias de pele obtidas do antebraço (área fotoexposta) e da região glútea (área duplamente coberta) de cadáveres do Serviço de Verificação de Óbitos de Recife/Pernambuco. **Resultados:** Observou-se um número bastante variável de melanócitos nos fragmentos de pele do antebraço e região glútea, com uma maior concentração destas células na área de maior fotoexposição ($p < 0,001$). Notou-se também uma distribuição irregular dos melanócitos ao longo da camada basal da epiderme, por vezes com células dispostas lado a lado. Esta confluência foi identificada com maior frequência nas amostras de maior celularidade e na área fotoexposta (0,035), não se observando mais do que 4 melanócitos distribuídos de forma contínua. A atipia citológica foi encontrada em 40% das amostras de pele da área fotoexposta, estando ausente na área fotoprotendida. Não se observou a formação de ninhos e tampouco disseminação pagetóide. **Conclusão:** Existe grande variabilidade da densidade e distribuição dos melanócitos na pele humana. A presença de atipia citológica e confluência celular não devem ser usados como critérios isolados para a definição de uma lesão neoplásica.

Palavras-chave: Melanócitos. Densidade. Morfologia.

Abstract

Background: It is believed that sun exposure can change the number, distribution and morphology of melanocytes in human skin, often challenging the correct interpretation of skin biopsies, especially in the determination of initial intraepithelial melanocytic lesions and the assessment of resection margins. **Objective:** To evaluate the density, distribution and morphology of melanocytes in sun-exposed skin. **Material and Methods:** 60 skin biopsy specimens obtained from the forearm (sun-exposed skin) and the buttock (covered skin) from cadavers of the Serviço de Verificação de Óbitos - Recife / Pernambuco were submitted to histological analysis. **Results:** There was great variability in melanocyte density in the samples from the forearm and buttock regions, with a higher concentration of these cells in the sun-exposed areas ($p < 0,001$). There was also an irregular distribution of melanocytes along the epidermal basal layer, with occasional cells being arranged side by side. This confluence was identified more frequently in specimens with greater cellularity and in sun-exposed areas ($p = 0,035$), and did not exceed more than 4 adjacent melanocytes. Cytological atypia was found in 40% of the samples from sun-exposed skin, and was absent in the covered areas. Nesting of melanocytes and pagetoid spread were not seen. **Conclusion:** There is great variability in the density and distribution of melanocytes in human skin. The presence of cytological atypia and cell confluence should not be used alone as criteria for the definition of a neoplastic lesion.

Keywords: melanocytes. Density. Morphology.

Introdução

Os primeiros estudos sobre número, distribuição e características dos melanócitos na pele humana utilizaram da reação de dopamina em preparados de epiderme após clivagem em solução salina. Observaram que havia grande variabilidade na distribuição destas células entre os indivíduos e conforme a região anatômica. Descreveram também a presença ocasional de dismorfismo citológico, mais evidente nas áreas de maior fotoexposição^(1,2,3,4,5).

Tais estudos foram muito importantes para o entendimento inicial da distribuição dos melanócitos na pele humana e a sua variação com a exposição solar. Entretanto, a técnica histoquímica aplicada é complexa e não fornece dados comparativos para a interpretação de preparações histológicas utilizadas na prática médica de rotina.

São poucos os relatos sobre a distribuição de melanócitos e a sua variação morfológica em fragmentos de pele sem lesão macroscópica utilizando preparações histológicas coradas pela hematoxilina e eosina.

Fallowfield *et al* ⁽³⁾ examinaram fragmentos de pele sã da região glútea e do antebraço, fazendo uma contagem do número de melanócitos para cada 200 ceratinócitos basais. Chegaram a uma proporção média de um melanócito para cada dez ceratinócitos basais, com uma maior concentração na região de maior fotoexposição.

A proliferação anormal dos melanócitos pode dar origem a uma grande variabilidade de neoplasias benignas e malignas, com características clínicas e anatomopatológicas distintas. O melanoma, tumor maligno originado nos melanócitos, é a neoplasia cutânea de maior importância clínica, apesar da sua menor prevalência em relação aos carcinomas, pois muitas vezes pode apresentar curso clínico fatal, com tendência a disseminação linfática e hematogênica⁽⁷⁾.

A prevenção primária e a detecção precoce são as formas mais promissoras para diminuir a mortalidade relacionada ao melanoma. Desta forma, diversos esforços têm sido empregados para melhor compreender as etapas da tumorigênese desta neoplasia, com o objetivo de fornecer um maior número de critérios para o diagnóstico de lesões iniciais, além de auxiliar na identificação dos indivíduos de maior susceptibilidade para o desenvolvimento desta doença.

Fatores constitucionais individuais, região anatômica e alterações ambientais, em especial a fotoexposição, parecem influenciar o número, morfologia e forma de distribuição dos melanócitos.

A atualidade trouxe situações, como o diagnóstico de lesões iniciais e avaliação precisa de margens de ressecção, onde o reconhecimento da variação da morfologia do melanócito é de fundamental importância para a definição diagnóstica.

Este estudo visou obter mais informações sobre a variação da distribuição e morfologia dos melanócitos na pele humana sem lesão macroscópica em preparações histológicas usadas na prática médica de rotina, e verificar a influência da exposição solar nas características destas células.

Materiais e Métodos

Foram obtidas 60 amostras de pele de cadáveres do Serviço de Verificação de Óbitos (S.V.O.) de Recife/Pernambuco através de biópsia realizada por *punch* de 5,0 milímetros, coletadas de áreas sem lesão macroscópica aparente, provenientes do membro superior, antebraço, face lateral (área fotoexposta) e da região glútea (área fotoprottegida, duplamente coberta).

Os pacientes foram classificados pela idade, sexo e tipo reativo de pele (I-VI, conforme os critérios de Fitzpatrick).

O projeto de pesquisa foi encaminhado ao Comitê de Ética da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, com aprovação sob a resolução nº 196/96 em 23/10/2007.

O material foi submetido a processamento histológico e corado pela técnica de hematoxilina e eosina. A junção dermo-epidérmica foi avaliada em 10 campos de grande aumento (x400), e o resultado foi expresso em número médio de melanócitos por campo de grande aumento (CGA). As lâminas foram nomeadas através de códigos, impossibilitando a identificação da amostra. O reconhecimento do melanócitos foi feito através das suas características morfológicas. Foram contados apenas os melanócitos presentes em um mesmo plano e com núcleos completamente visíveis.

A confluência dos melanócitos foi avaliada, e classificada conforme o número de células dispostas lado a lado. Desta forma, considerou-se: ausência de confluência,

confluência leve (2 -3 melanócitos), moderada (4 - 5 melanócitos) e acentuada (mais do que 5 melanócitos). Procurou-se também pela formação de ninhos (definida como 4 melanócitos em íntimo contato) e presença de disseminação pagetóide (ascensão de melanócitos para as demais camadas do epitélio).

A atipia citológica foi definida como ausente ou presente, observando-se as seguintes alterações da morfologia: aumento do volume nuclear, nucléolo evidente, pleomorfismo, hipercromasia, bi/multinucleação.

Estudo imuno-histoquímico para o antígeno Melan-A (Clone A103, DAKO) foi realizado em 10 amostras aleatórias de pele da área fotoexposta (membro superior) e em 10 amostras da área fotoprotegida (região glútea) para fins comparativos. Realizou-se, inicialmente, a reação com o anticorpo monoclonal anti-MelanA/MART-1, revelada através do cromógeno diaminobenzidina (DAB), com contracoloração pela hematoxilina de Harris. E em um segundo momento, em casos selecionados, para facilitar a distinção entre a positividade da cor marrom acastanhada fornecida pelo cromógeno DAB do pigmento marrom de melanina presente nos ceratinócitos, foi utilizado a contracoloração com Giemsa, conforme metodologia proposta por Sálvio e Marques em 2006 ⁽⁸⁾. Esta análise complementar foi realizada em caráter ilustrativo, com o objetivo de verificar, dentre as técnicas disponíveis, qual seria a melhor para evidenciar os melanócitos na pele humana sem lesão macroscópica. Todavia, a metodologia escolhida para a contagem de melanócitos neste estudo foi a avaliação de preparações histológicas coradas pela hematoxilina e eosina, dada a sua maior aplicabilidade na rotina do diagnóstico histopatológico e o seu baixo custo.

O nível de significância assumido foi de 5%. Os cálculos estatísticos foram realizados no software SPSS for Windows versão 12.0 - Statistical Package for the Social Science.

Resultados

Foram obtidas 60 amostras de pele de 30 cadáveres do Serviço de Verificação de Óbitos (S.V.O.) de Recife/Pernambuco. Destes, 18 eram do sexo masculino e 12 do sexo feminino. Apresentavam ampla distribuição de faixa etária, com uma idade média de 57,57 anos (desvio padrão de 23.97 anos). Em relação ao tipo reativo de pele, a maior parte da amostra era representada pelos subtipos III, IV e V.

O número médio de melanócitos nos fragmentos de pele do antebraço (área fotoexposta) foi de 7,74 melanócitos/CGA, e nos da região glútea, área duplamente coberta (fotoprottegida) foi de 4,85 melanócitos/CGA. A área fotoexposta apresentou um número maior de melanócitos em comparação com a área fotoprottegida ($p < 0,05$) (Gráfico 1).

Observou-se correlação estatisticamente significativa apenas entre a idade e as médias de melanócitos na área fotoprottegida. A correlação encontrada foi negativa, ou seja, quanto maior a idade menor a média de melanócitos na área fotoprottegida. Gráfico 2.

Não se observou diferença estatisticamente significativa no número médio de melanócitos entre homens e mulheres tanto para a área fotoexposta quanto para a fotoprottegida. Para fins de cálculos estatísticos, agrupou-se os subtipos reativos de pele em 3 diferentes categorias, I - II, III - IV e V - VI. Não se verificou diferença significativa entre o número médio de melanócitos e os diferentes tipos reativos de pele na área fotoexposta. Na área fotoprottegida, o número médio de melanócitos dos grupos III - IV e V - VI se mostrou diferente.

A distribuição dos melanócitos ao longo da camada basal da epiderme mostrou-se bastante irregular, tanto na área fotoexposta como na fotoprottegida, notando-se setores de maior e menor celularidade no mesmo fragmento de pele. Figuras 1, 2 e 3.

A disposição lado a lado destas células (confluência) foi encontrada tanto na área fotoexposta como na área fotoprottegida. A confluência de melanócitos foi identificada em uma proporção maior de casos na área fotoexposta (63,3%) (Teste de McNemar, $p = 0,035$) (Tabela 1). Entretanto, não se observou em nenhum dos fragmentos mais do que 4 melanócitos dispostos de forma contínua. Figuras 4, 5 e 6.

A presença de atipia citológica foi definida pelo encontro do aumento do volume nuclear, nucléolo evidente, pleomorfismo citológico, hipercromasia e bi/multinucleação. Estas alterações apenas foram encontradas na área fotoexposta, e identificadas em 12 (40%) dos casos. Figuras 7, 8, 9, 10 e 11.

A idade média do grupo de pacientes que exibiram atipia citológica foi de 54,58 anos, com valores variando entre 22 a 88 anos. No grupo de pacientes sem atipia citológica, a idade variou de 1 a 91 anos, com média de 59,56 anos. Desta forma, não foi observada diferença da idade entre os grupos segundo a presença de atipia citológica (Tabela 2).

Discussão

Observamos uma diferença significativa do número médio de melanócitos entre os fragmentos de pele obtidos do membro superior e da região glútea em um mesmo indivíduo. Tal achado está possivelmente relacionado com a presença da exposição solar, uma vez que a região glútea é duplamente coberta e a do antebraço está exposta ao sol de forma mais crônica do que ocasional na população brasileira. Resultado semelhante foi encontrado por Fallowfield *et al* ⁽⁶⁾.

Deve-se ressaltar, entretanto, que a localização anatômica é fator importante para a determinação da densidade de melanócitos na pele humana. Uma variação do número de melanócitos conforme as diferentes regiões topográficas foi verificada desde os primeiros estudos que abordaram o tema ^(1,2,3,9). Tais autores identificaram grande variação no número de melanócitos entre os indivíduos, com maiores densidades encontradas na região de cabeça/pescoço e genitais masculinos, seguidas do dorso, membro superior e membro inferior. O encontro de grande número de melanócitos na região dos genitais, área também duplamente coberta, reforça a idéia de que fatores outros além da exposição solar influenciam a determinação da densidade desta célula. Whiteman *et al* ⁽⁹⁾ sugerem que fatores embriológicos estejam envolvidos nesta distribuição anatômica, de forma semelhante ao que ocorre com os folículos pilosos.

A influência da exposição solar como um determinante da variação da densidade de melanócitos foi previamente avaliada de diversas formas. Quevedo *et al* ⁽⁴⁾ induziram uma fotoexposição no lado esquerdo da região glútea e avaliaram quantitativamente o número de melanócitos de forma comparativa com o lado direito não-fotoexposto. Gilchrest *et al* ⁽⁵⁾ avaliaram o número de melanócitos em fragmentos de pele da porção lateral do braço (área de maior fotoexposição) e da porção medial (área de menor fotoexposição) de um mesmo indivíduo. Ambos os artigos relataram um maior número destas células na área de maior fotoexposição. Deve-se destacar que nestes trabalhos o estudo dos melanócitos foi feito através da reação de dopamina em preparados de epiderme, método histoquímico que marca apenas as células sensíveis a dopamina. Desta forma, não se pode excluir a possibilidade de ter ocorrido apenas a ativação da tirosinase pela luz solar em melanócitos pré-existentes primeiramente dopa-negativos, resultando em um maior número de células positivas.

Whiteman *et al* ⁽⁹⁾ e Hendi *et al* ⁽¹⁰⁾ avaliaram a exposição solar através de questionários. Em nenhum dos trabalhos, observou-se associação de um maior número de melanócitos com a presença da história de exposição solar. No primeiro caso, os autores atribuem a ausência de associação por uma dificuldade de mensurar e graduar a exposição solar através de questionários; e no segundo, relacionam tal achado com as características da amostra estudada, onde apenas 11 dos 132 pacientes avaliados referiam exposição solar intensa e recente.

Whiteman *et al* ⁽⁹⁾ também fizeram uma observação sobre o número de melanócitos e o tipo de exposição solar, se crônica ou intermitente. Argumentaram que em seu estudo se observou um número médio de melanócitos 17% maior na região do tronco (exposição solar intermitente) do que no dorso das mãos (exposição solar crônica). Entretanto, deve-se também novamente considerar a variável localização anatômica como um possível fator confusional.

A relação entre a densidade de melanócitos e a exposição solar é ainda uma questão bastante complexa. Estudos prospectivos com análise de biópsias de uma mesma localização em um mesmo indivíduo após períodos diferentes de exposição solar podem ser uma forma de melhor abordar o tema.

Existe grande variabilidade de metodologia nos estudos realizados previamente na definição de como medir e contar o número de melanócitos na pele. Este fato dificulta a análise comparativa quantitativa dos resultados. Optamos, neste trabalho, por contar o número de células por campo de grande aumento (CGA) (x400) em preparações histológicas coradas por hematoxilina e eosina, pois é uma forma simples, facilmente reproduzível e capaz de ser aplicada com facilidade na prática médica de rotina.

Considerando a variável gênero, em concordância com a literatura pré-existente, não verificamos diferença no número de melanócitos entre homens e mulheres ^(1,2,3,11). Em relação ao tipo reativo de pele, não observamos diferença entre os grupos na área de maior fotoexposição. Notamos uma diferença matemática entre os grupos III - IV e V - VI, apenas na área fotoprottegida. Este achado pode estar relacionado com a forma irregular de distribuição dos indivíduos pelas categorias e pela grande variabilidade das medidas nas diferentes regiões. Nenhum dos estudos anteriores evidenciou diferença no número de melanócitos e a cor da pele ^(1,2,3,6,9,11). A tonalidade da pele está provavelmente relacionada com a produção, distribuição e degradação da melanina.

A idade como fator influenciador da densidade de melanócitos foi analisada inicialmente em amostras pequenas ^(3,5) e em localizações anatômicas distintas ⁽²⁾, ficando ainda controverso se havia diminuição do número destas células com o envelhecimento. Whiteman *et al* ⁽⁹⁾, em sua série, identificaram um declínio do número de melanócitos nos fragmentos de pele do dorso das mãos de 97 indivíduos com mais de 50 anos. Hendi *et al* ⁽¹⁰⁾ também descreveram uma correlação inversa entre o número médio de melanócitos em fragmentos de pele da cabeça / pescoço e a idade do paciente, que variou entre 32 a 98 anos. A nossa série incluiu uma ampla faixa etária, de 1 a 91 anos, existindo uma tendência a uma diminuição do número de melanócitos com a idade. Tal achado só foi estatisticamente significativo na região glútea – área fotoprotetida. É possível que a fotoexposição possa ter atuado como uma variável de confusão nesta avaliação, elevando o número médio de melanócitos dos pacientes com maior idade. Vale citar como exemplo o indivíduo de número 6, com 91 anos e um número médio de melanócitos de 14,9/CGA na região do antebraço (área fotoexposta) e 2,1/CGA na região glútea (área fotoprotetida).

Outra observação importante no nosso estudo foi que além da diferença no número de melanócitos entre as diferentes localizações anatômicas, áreas fotoexposta e fotoprotetida, houve também uma grande variação do número de melanócitos de uma mesma região. Barlow *et al* ⁽¹¹⁾ também chamaram atenção para esta grande variação na densidade de melanócitos, ressaltando que a definição de um padrão de “normalidade” para este tópico é muito problemática.

Além da grande variabilidade entre os indivíduos em uma mesma localização topográfica, notamos ainda uma marcante variação da distribuição destas células em um mesmo fragmento de pele. Por exemplo, em uma mesma amostra de pele do antebraço, identificamos setores com 4 melanócitos/CGA, contrastando com setores contendo 20 melanócitos/CGA. De forma semelhante, porém com menor intensidade, esta irregularidade na distribuição também foi verificada nas amostras da região glútea, com valores de 1 a 10 melanócitos/CGA em um mesmo fragmento. Desta forma, a proporção média de um melanócito para cada dez ceratinócitos basais, informação primeiramente fornecida pelos estudos de Cochran ⁽¹²⁾, Rhodes *et al* ⁽¹³⁾ e Fallowfield *et al* ⁽⁶⁾, é uma medida bastante generalista para ser aplicada como parâmetro para a prática médica de rotina.

No sentido de trazer informações úteis para a interpretação de biópsias de pele com lesões melanocíticas, Hendi *et al* ⁽¹⁰⁾ e Barlow *et al* ⁽¹¹⁾ avaliaram de forma mais detalhada a distribuição dos melanócitos pela epiderme. Hendi *et al* ⁽¹⁰⁾ observaram na pele com fotoexposição crônica da região da cabeça / pescoço uma média de 15 a 20 melanócitos/CGA, com presença de confluência em 89% das amostras, a maior parte foi considerada leve (2 melanócitos lado a lado), porém chegou a encontrar até 9 melanócitos dispostos de forma contínua. Barlow *et al* ⁽¹¹⁾, ao avaliar fragmentos de pele da região da cabeça / pescoço, tronco, membros superiores e inferiores, relataram o encontro de confluência de 3 a 4 melanócitos em 16,7% da sua amostra, sendo mais freqüente nas áreas de maior celularidade, caracterizando a principal alteração morfológica identificada na sua série.

No nosso trabalho, encontramos a presença de confluência de melanócitos tanto nos fragmentos de pele obtidos do antebraço - área exposta - como nos da região glútea - área coberta. Tal achado foi mais freqüente na área de maior fotoexposição, presente em 66,3% dos casos desta amostra. Deve-se notar também que, assim como descrito em estudos anteriores, a confluência foi mais evidente nos fragmentos que mostraram os maiores índices de densidade e celularidade. Na maior parte dos nossos casos, esta confluência representou a presença de 2 a 3 melanócitos dispostos lado a lado, não se identificando em nenhum dos fragmentos mais do que 4 melanócitos dispostos de forma contínua.

Evidenciamos também no nosso estudo, além da variação da distribuição, alterações da forma e características celulares. Estas incluíam aumento do volume nuclear, nucléolo evidente, pleomorfismo citológico, hipercromasia, irregularidades do contorno, bi/multinucleação, e foram denominadas de atipia citológica. A atipia citológica foi identificada apenas nos fragmentos de pele obtidos do antebraço, área de maior exposição solar, e esteve presente em 40 % das amostras.

Fallowfield *et al* ⁽⁶⁾ apresentaram resultado similar em seu trabalho, verificaram a presença de atipia citológica em 50% dos fragmentos de pele obtidos do antebraço (área de maior fotoexposição). Relataram também o achado de atipia citológica leve em apenas 6 das 84 biópsias obtidas da região glútea - área coberta. Ressaltaram que destes 6 casos, 4 pacientes apresentavam história de melanoma e 2 de nevo displásico. Desta forma, sugeriram que o encontro de melanócitos anormais na pele coberta (região

glútea) possa indicar um indivíduo com uma maior susceptibilidade de desenvolvimento do melanoma.

No que se trata da atipia citológica, tentamos analisar nos nossos casos se havia alguma influência do envelhecimento na alteração da morfologia destas células. Observamos a presença de atipia em indivíduos com idade entre 22 e 88 anos; e 66,6% dos indivíduos que não exibiram atipia citológica possuíam idade superior a 60 anos. Esta observação sugere que existam outros fatores individuais que alterem o meio ambiente celular e por consequência modifiquem a morfologia microscópica do melanócito, não obrigatoriamente relacionados com o envelhecimento. Este achado também está de acordo com a ampla faixa etária de acometimento do melanoma, que ocorre inclusive em crianças e jovens.

A extensão dos melanócitos pelo epitélio folicular foi verificada nos estudos de Weyers *et al*⁽¹⁴⁾, Hendi *et al*⁽¹⁰⁾ e Barlow *et al*⁽¹¹⁾. Weyers *et al*⁽¹⁴⁾ referiram que em apenas 12% dos casos de pele com fotodano observou melanócitos distribuídos “profundamente” nas estruturas anexiais. Hendi *et al*⁽¹⁰⁾ relataram que a média da profundidade do último melanócito encontrado no epitélio folicular foi de 0,38mm da camada basal. Barlow *et al*⁽¹¹⁾ verificaram a presença de extensão pelo epitélio folicular em 6,1% dos seus casos, porém não forneceram outras informações mais detalhadas. Nos nossos casos foi difícil a avaliação da extensão pelo epitélio folicular, pois por ser tratar de biópsias pequenas obtidas por *punch* de 5,0 milímetros, não foi possível analisar estruturas foliculares completas.

No nosso trabalho, assim como no de Hendi *et al*⁽¹⁰⁾, não se identificou a formação de ninhos ou de disseminação pagetóide em nenhuma das amostras. Barlow *et al*⁽¹¹⁾ relata a presença de ninhos em 2 dos seus 180 casos e de disseminação pagetóide em 1. Weyers *et al*⁽¹⁴⁾ encontrou apenas um pequeno ninho de 4 melanócitos na pele com fotodano em 100 casos, e notou em 6 destes a presença de melanócitos acima da junção dermo-epidérmica.

Desta forma, acreditamos que a presença de ninhos e de disseminação pagetóide até os terços superiores do epitélio são importantes critérios para a definição de proliferação neoplásica de melanócitos. Já a distribuição irregular e contínua destas células, a atipia citológica e a extensão pelo epitélio folicular não devem ser interpretadas de forma isolada no diagnóstico destas lesões.

Por se tratar de fragmentos de pele obtidos de cadáveres do Serviço de Verificação de Óbitos (S.V.O), não foi possível coletar informações precisas sobre o histórico de câncer de pele nos nossos pacientes.

Diversos autores avaliaram a influência do antecedente de neoplasias cutâneas, principalmente melanocíticas, na densidade e características morfológicas dos melanócitos. Entretanto, trata-se de assunto ainda controverso na literatura. Fallowfield *et al* ⁽⁶⁾, Whiteman *et al* ⁽⁹⁾ e Hendi *et al* ⁽¹⁰⁾ não verificaram alteração na densidade, distribuição e morfologia dos melanócitos da pele adjacente a neoplasias melanocíticas estatisticamente diferente daquela encontrada na pele com fotodano. Apenas Barlow *et al* ⁽¹¹⁾ detectaram um número significativo maior de melanócitos na pele adjacente a tumores melanocíticos. Esta alteração, primeiramente descrita por Wong ⁽¹⁵⁾ em 1970, ficou conhecida como “efeito de campo”, e foi usada como justificativa para a ampliação de margens de ressecção no tratamento destas lesões.

A maior parte dos autores atualmente atribui este achado de “efeito de campo” na pele adjacente a tumores melanocíticos apenas ao fotodano, pois também está presente na pele adjacente a tumores não melanocíticos, e inclusive na pele sem lesão macroscópica como observado no nosso trabalho ^(10,14,16).

Embora a metodologia escolhida no nosso estudo tenha sido a análise dos melanócitos na coloração de rotina (hematoxilina e eosina), a utilização de técnica mais específica de detecção por imuno-histoquímica com o anticorpo MelanA revelou aspectos interessantes. O uso do cromógeno diaminobenzidina (DAB), pela sua cor castanha dificulta a distinção dos melanócitos dos grânulos marrons do pigmento melânico presente nos ceratinócitos (figura 12). Por outro lado, o uso do método proposto por Sálvio e Marques ⁽⁸⁾ com contracoloração pelo Giemsa, substituindo a hematoxilina, produz uma coloração azul esverdeada do pigmento melânico, matendo a cor castanha do DAB, facilitando a identificação dos melanócitos sem a necessidade do uso de cromógenos de diferentes cores, simplificando a técnica (figura 13). O estudo complementar por imuno-histoquímica para a contagem de melanócitos não parece fornecer valores diferentes da análise realizada pela coloração de rotina ^(6,9). Apenas Hendi *et al* ⁽¹⁰⁾ recomendaram o uso desta metodologia para a avaliação intraoperatória de margens de ressecção durante a cirurgia de Mohs, pela dificuldade de interpretação da morfologia dos melanócitos quando com artefatos decorrentes do congelamento.

Conclusões

Comparando-se a pele humana sem lesão macroscópica do antebraço – face lateral (área fotoexposta) com a da região glútea (área fotoprottegida), em biópsias por *punch* obtidas durante autópsias, observamos que:

- o número e distribuição dos melanócitos foram variáveis;
- na pele fotoexposta, verificou-se aumento do número de melanócitos, maior confluência e atipia citológica;
- não houve correlação da atipia citológica com a idade;
- não se verificou formação de ninhos de melanócitos, tampouco disseminação pagetóide.

Parâmetros de normalidade são muito difíceis de definir, o que torna muitas vezes problemática a interpretação de biópsias de pele, principalmente para o diagnóstico de lesões iniciais e para a avaliação precisa das margens de ressecção.

A irregularidade da distribuição, com confluência de melanócitos, e a atipia citológica devem ser sempre avaliados conjuntamente com outros fatores para a determinação do diagnóstico de melanoma, dentre eles principalmente a formação de ninhos e a presença de disseminação pagetóide.

Referências Bibliográficas

1. Szabo G. The number of melanocytes in human epidermis. *Br Med J* 1954; 1:1016–1017.
2. Staricco RJ, Pinkus H. Quantitative and qualitative data on the pigment cells of adult human epidermis. *J Invest Dermatol* 1957; 28:33–44.
3. Mitchell RE. The effect of prolonged solar radiation on melanocytes of the human epidermis. *J Invest Dermatol* 1963; 41:199–212.
4. Quevedo WC, Szabo G, Virks J, Sinesi SJ. Melanocyte populations in UV-irradiated human skin. *J Invest Dermatol*. 1965; 45:295–298
5. Gilchrest BS, Blog FB, Szabo G. Effects of aging and chronic sun exposure on melanocytes in human skin. *J Invest Dermatol* 1979; 73:141–3.
6. Fallowfield ME, Curley RK, Cook MG. Melanocytic lesions and melanocyte populations in human epidermis. *Br J Dermatol*. 1991; 124:130-134.
7. Philip E. LeBoit, Gunter Burg, David Weedon, Alain Sarasin. *Skin Tumors* – World Health Organization. 2006.
8. Salvio , A. G. e Marques, M. E. A. Imuno-histoquímica para identificação de células neoplásicas no infiltrado ativo de melanomas finos. *J Bras Patol Med Lab*, 2006 Abril; 42 (2):143-148.
9. Whiteman DC, Parsons PG, Green AC. Determinants of melanocyte density in adult human skin. *Arch Dermatol Res*. 1999 Sep; 291(9):511-6.
10. Hendi A, Brodland DG, Zitelli JA. Melanocytes in long-standing sun-exposed skin: quantitative analysis using the MART-1 immunostain. *Arch Dermatol*. 2006 Jul; 142(7):871-6.
11. Barlow JO, Maize J Sr, Lang PG. The density and distribution of melanocytes adjacent to melanoma and nonmelanoma skin cancers. *Dermatol Surg*. 2007 Feb; 33(2):199-207.
12. Cochran AJ. The incidence of melanocytes in normal skin. *J Invest Dermatol* 1970; 55:65-70.

13. Rhodes AR, Weinstock MA, Fitzpatrick TB, Mihm MC Jr, Sober AJ. Risk factors for cutaneous melanoma. A practical method of recognizing predisposed individuals. *JAMA*. Dec 4 1987; 258(21):3146-54.
14. Weyers W, Bonczkowitz M, Weyers I, Bittinger A, Schill W-B. Melanoma in situ versus melanocytic hyperplasia in sun-damaged skin: assessment of the significance of histopathologic criteria for differential diagnosis. *AmJ Dermatopathol*. 1996;18:560-566
15. Wong CK. A study of melanocytes in the normal skin surrounding malignant melanoma. *Dermatologica* 1970; 141:215–25.
16. Fallowfield ME, Cook MG. Epidermal melanocytes adjacent to melanoma and the field change effect. *Histopathology*. 1990; 17:397-400.

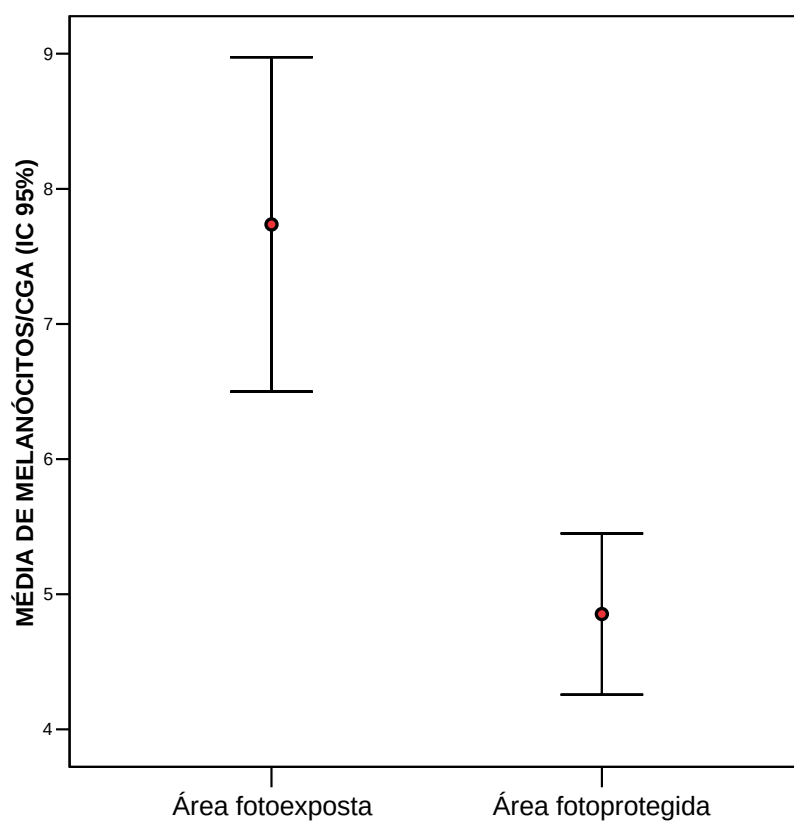


Gráfico 1. Intervalo de confiança de 95% para as médias de melanócitos segundo a localização anatômica e fotoexposição. (**Teste t pareado, p-valor < 0,001**).

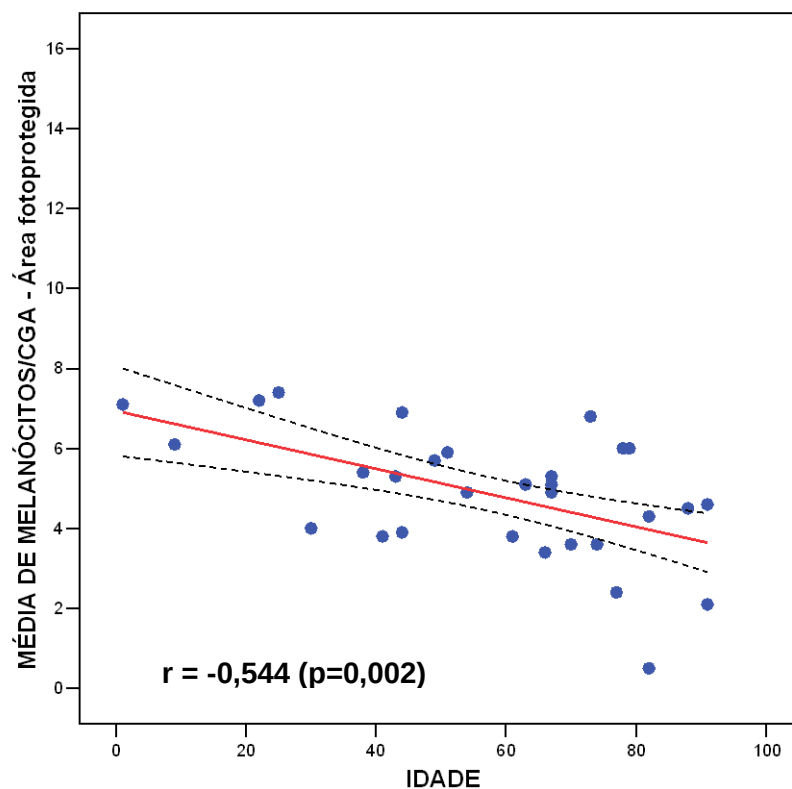


Gráfico 2. Diagrama de dispersão entre a média de melanócitos na área fotoprottegida e a idade. (**Correlação de Pearson (r) = 0,544, p-valor = 0,002**).

Tabela 1. Distribuição da frequência da confluência de melanócitos segundo a localização anatômica e a fotoexposição.

	CONFLUÊNCIA – Área fotoexposta	CONFLUÊNCIA – Área fotoprotégida
Ausente	11 (36,7%)	20 (66,7%)
Leve	18 (60,0%)	10 (33,3%)
Moderado	1 (3,3%)	0 (0,0%)
Acentuada	0 (0%)	0 (0%)
Total	30	30

(Teste de McNemar, $p=0,035$).

Tabela 2. Comparação da média de idade segundo presença de atipia citológica.

ATIPIA	N	Média	Mediana	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
Não	18	59,56	67,00	26,47	1	91
Sim	12	54,58	52,50	20,40	22	88
Total	30	57,57	64,50	23,97	1	91

p-valor = 0,587

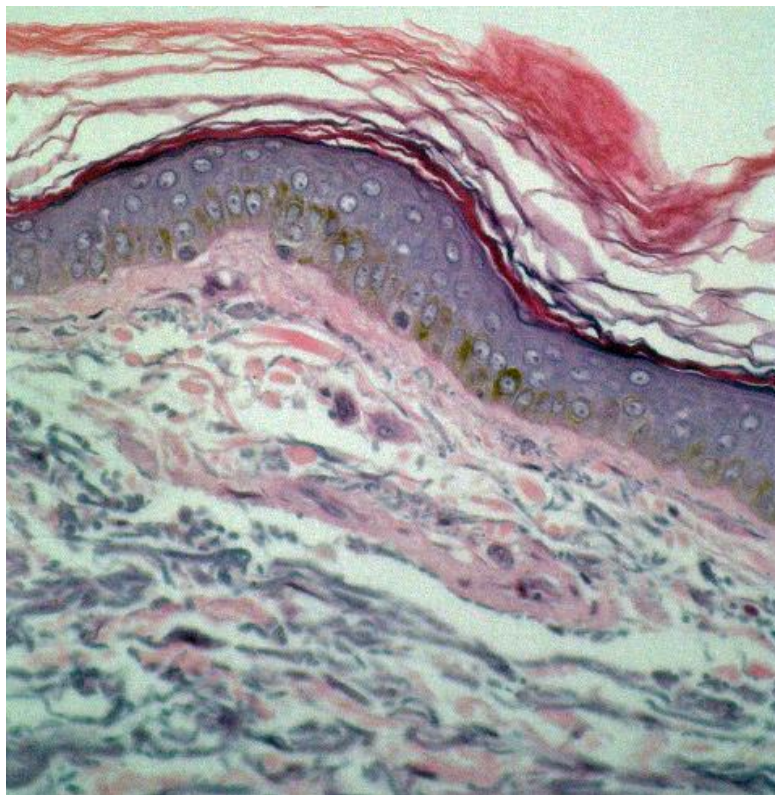


Figura 1. Distribuição de melanócitos ao longo da camada basal em área de baixa concentração celular.



Figura 2. Distribuição de melanócitos ao longo da camada basal em área de alta concentração celular.

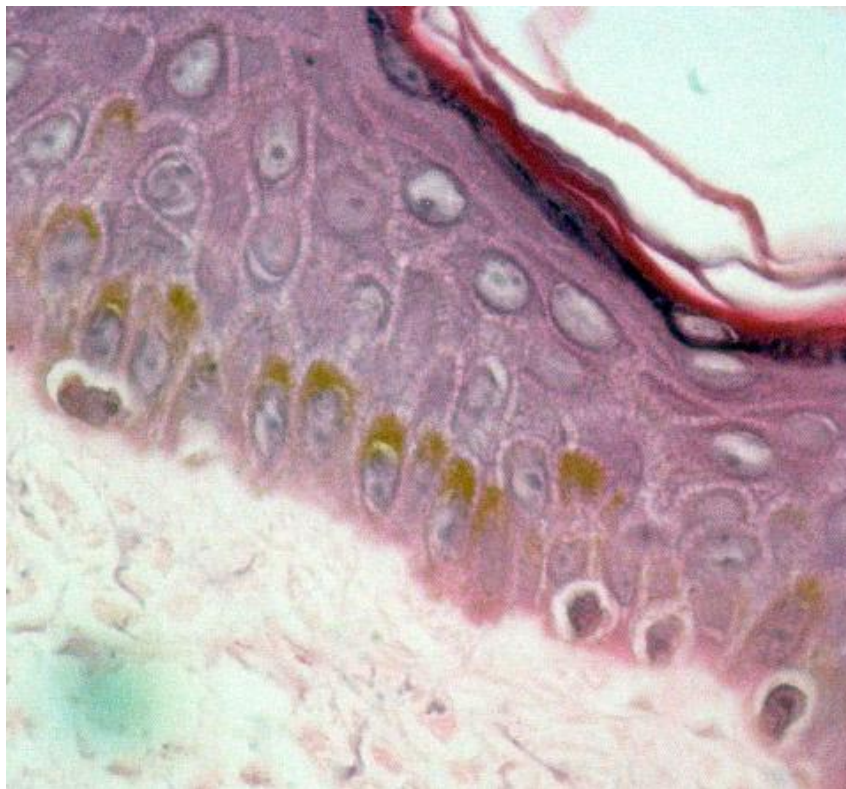


Figura 3. Irregularidade na distribuição dos melanócitos ao longo da camada basal.

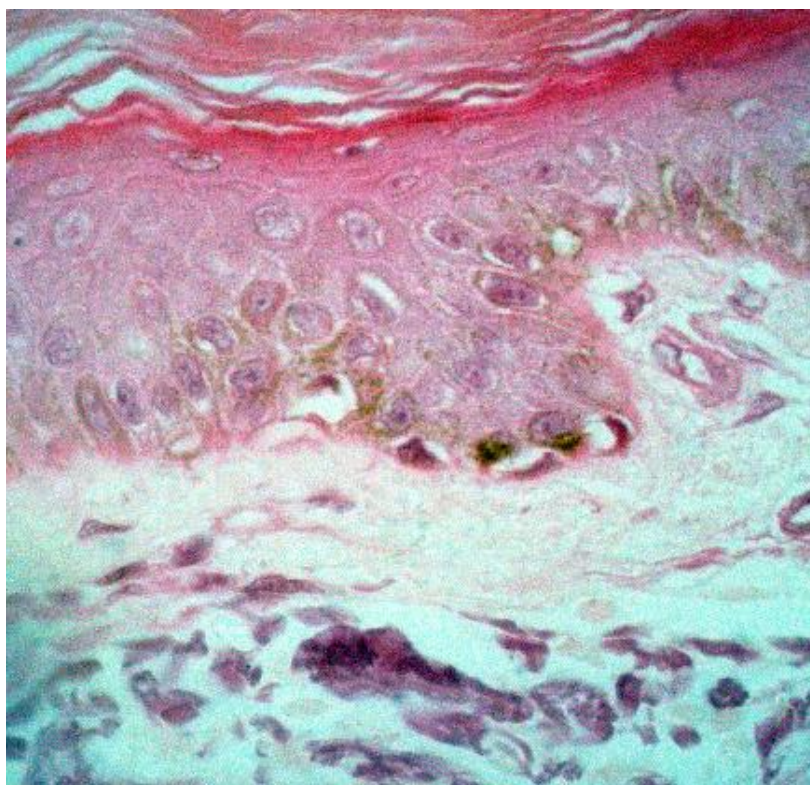


Figura 4. Área de confluência de melanócitos.

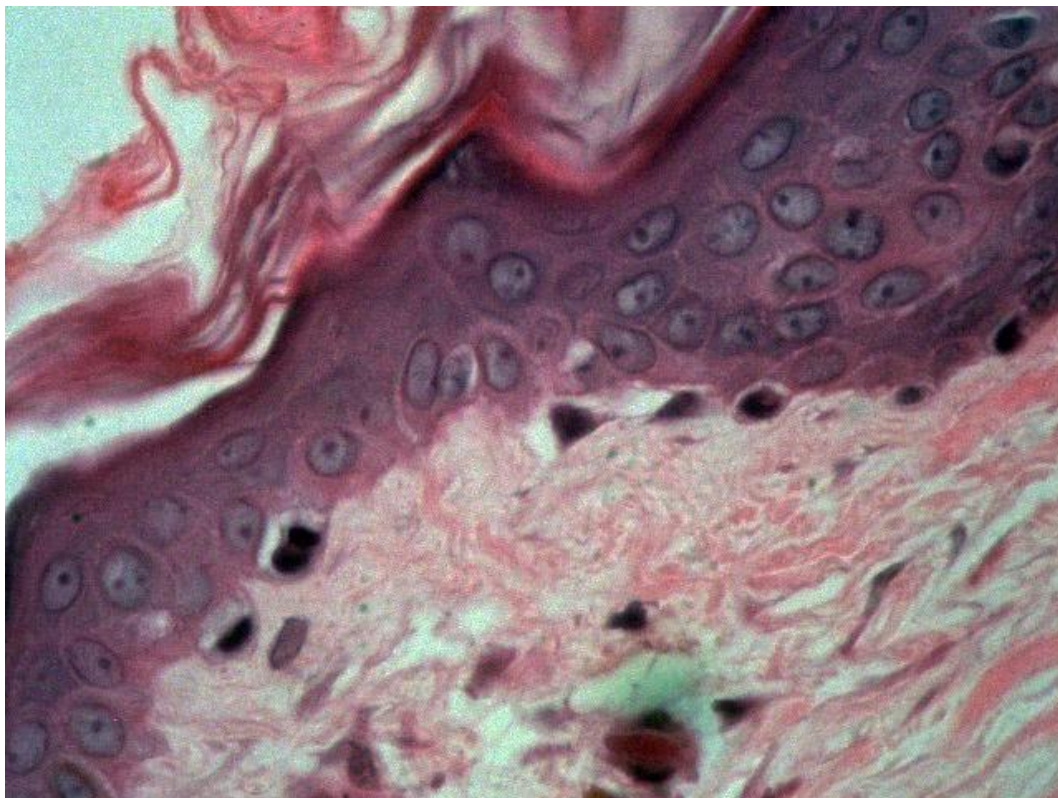


Figura 5. Área de confluência de melanócitos.

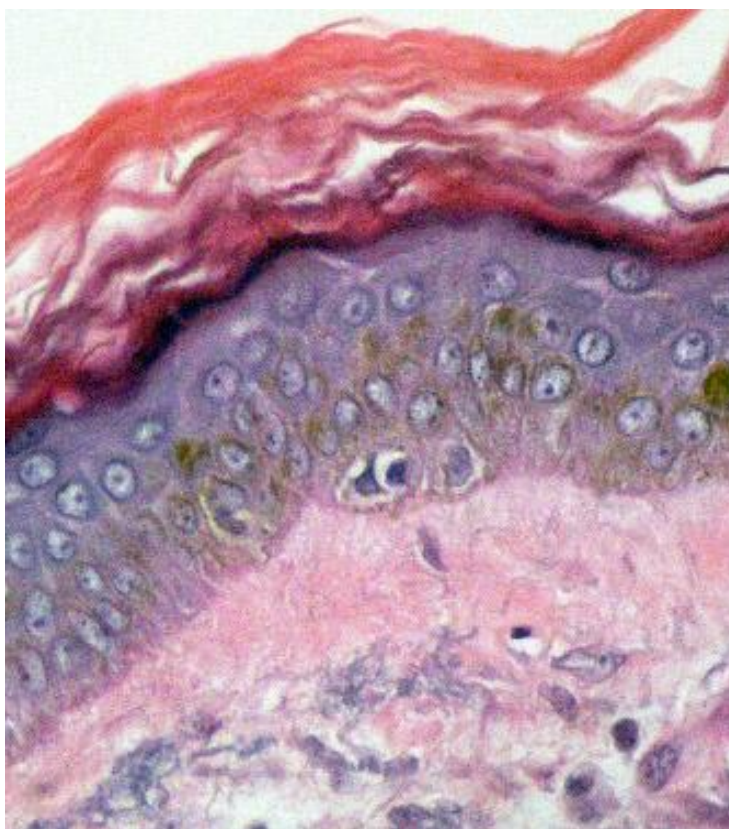


Figura 6. Área de confluência de melanócitos.

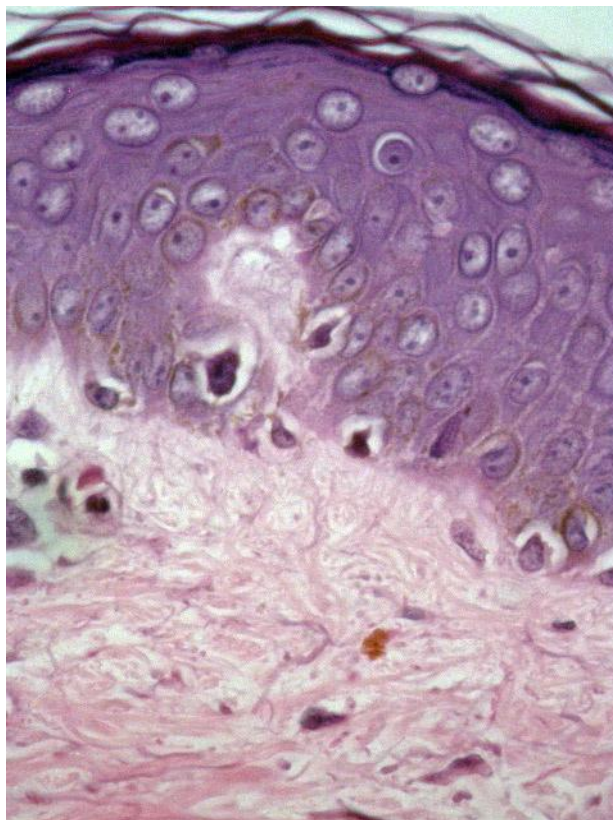


Figura 7. Alteração da morfologia dos melanócitos. Pleomorfismo citológico.

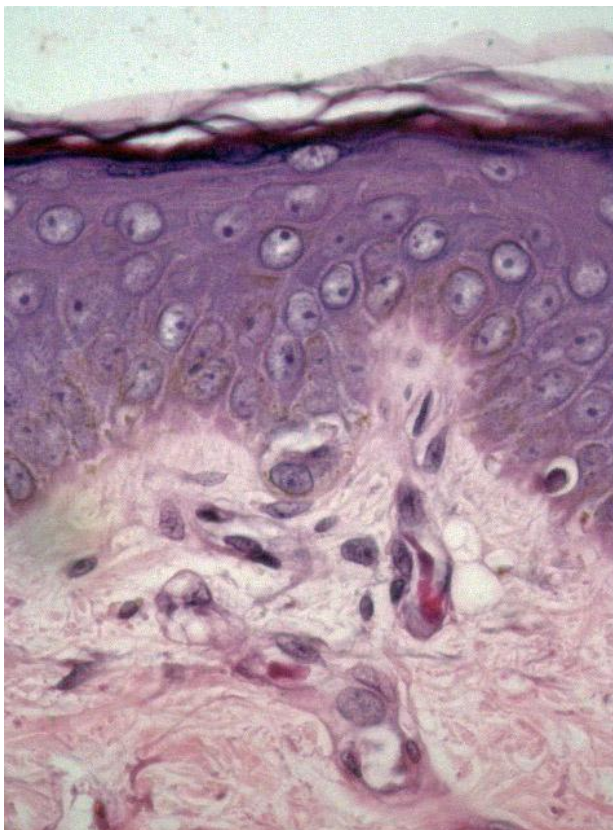


Figura 8. Alteração da morfologia dos melanócitos. Melanócito exibindo binucleação

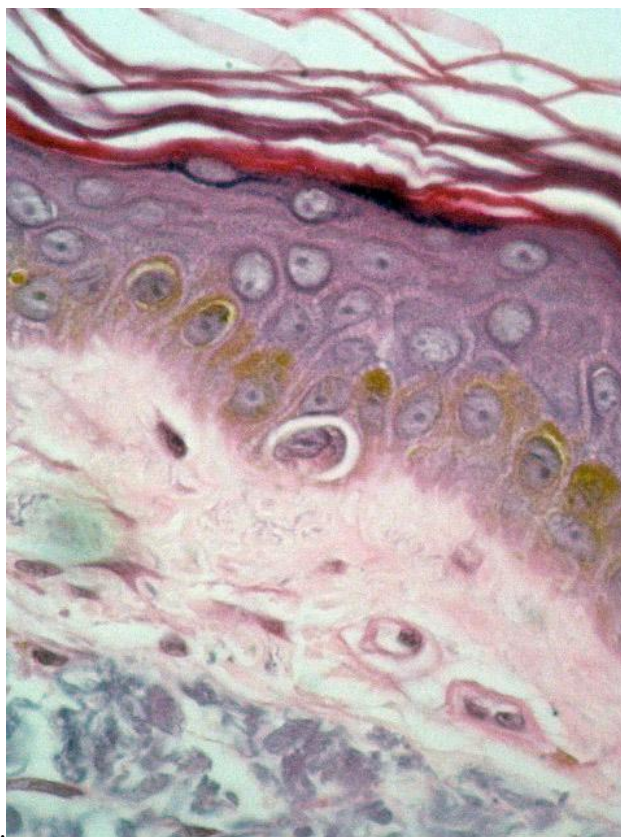


Figura 9. Alteração da morfologia dos melanócitos. Melanócito exibindo binucleação.

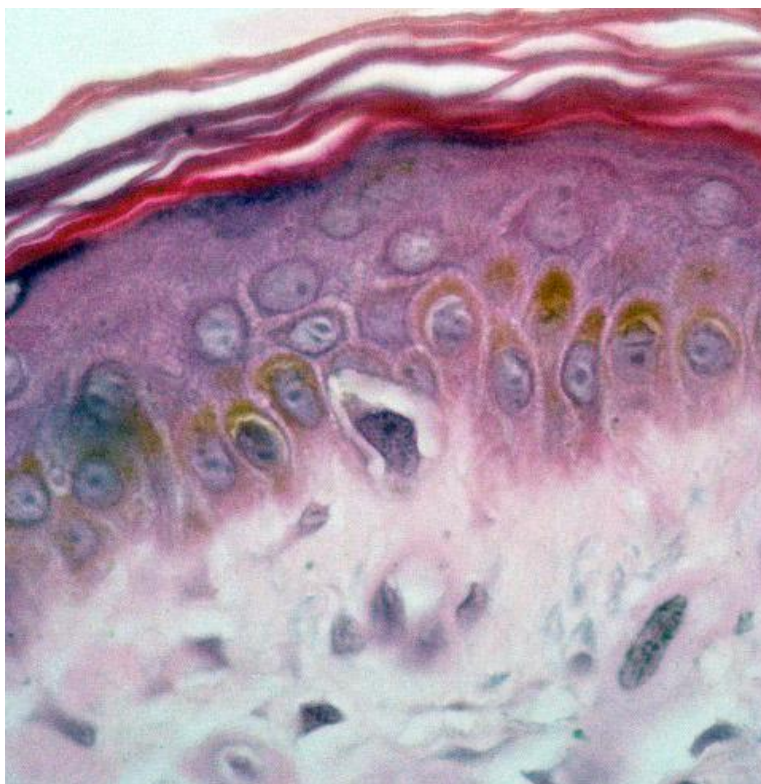


Figura 10. Alteração da morfologia dos melanócitos. Aumento do volume nuclear.

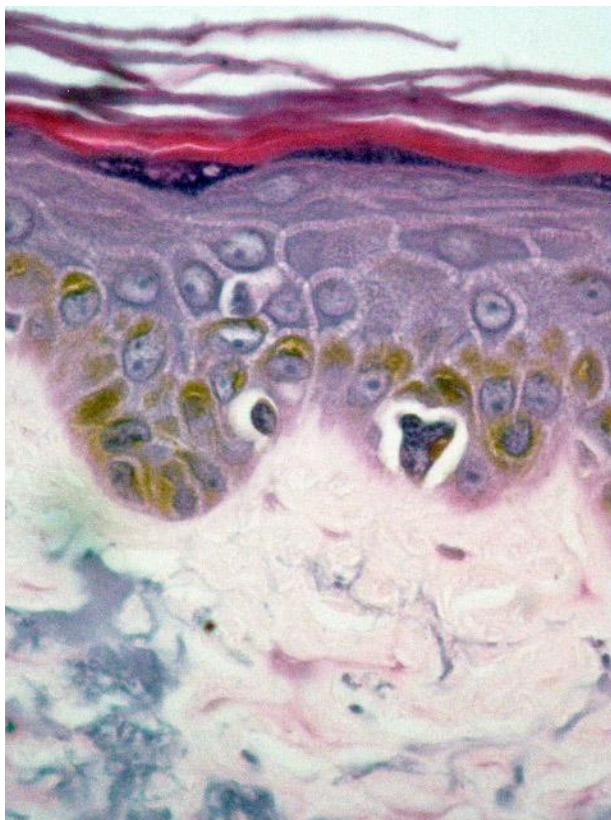


Figura 11. Alteração da morfologia dos melanócitos. Atipia citológica.

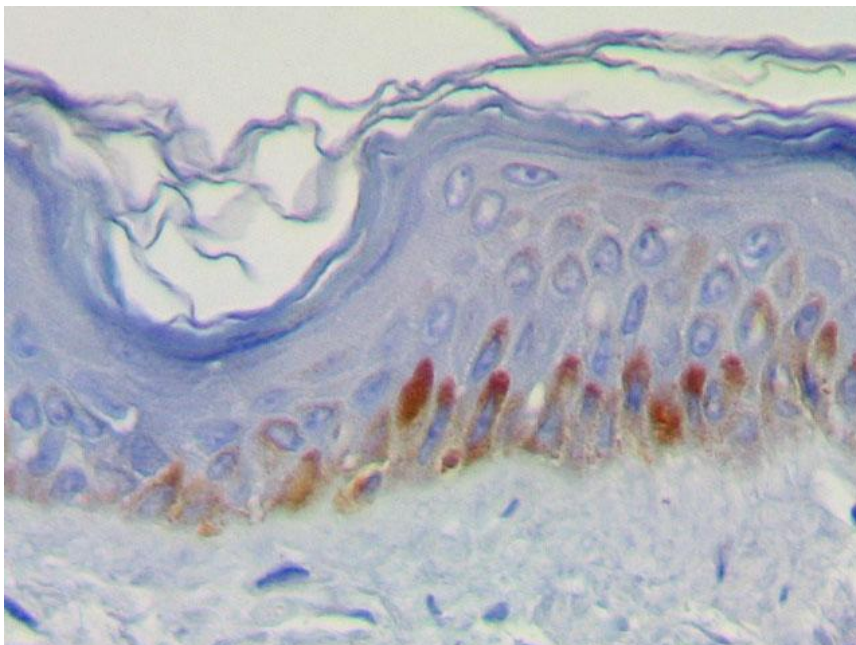


Figura 12. Imunomarcacão dos melanócitos através da reação com o anticorpo MelanA, utilizando o cromógeno diamonibenzidina (DAB) e contracoloração com hematoxilina.

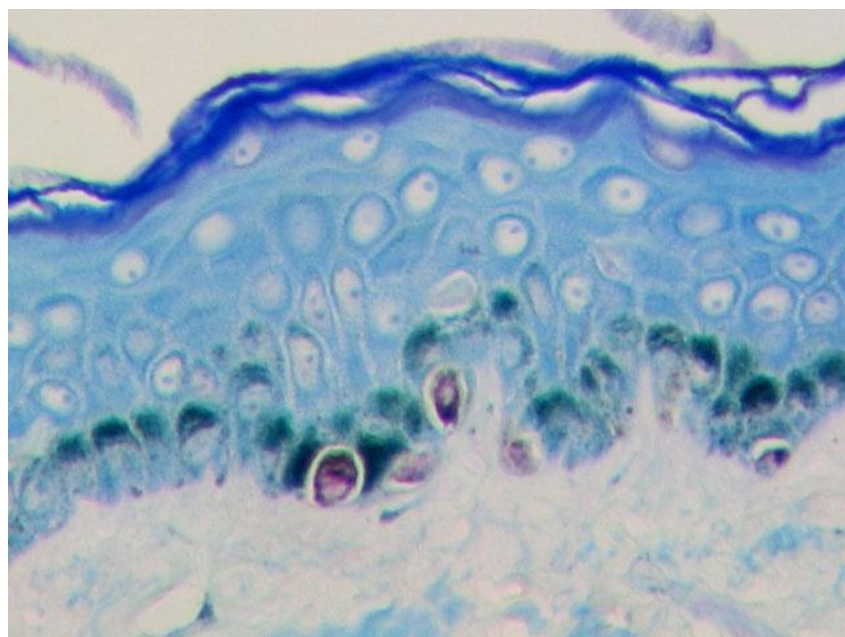


Figura 13. Imunomarcacão dos melanócitos através da reação com o anticorpo MelanA, utilizando o cromógeno diamonibenzidina (DAB) e contracoloração com giemsa.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Segundo a literatura, existe grande variabilidade das características dos melanócitos entre os indivíduos e entre diferentes localizações anatômicas, com uma maior concentração nas áreas de maior fotoexposição.
- Comparando-se a pele humana sem lesão macroscópica do antebraço – face lateral (área fotoexposta) com a da região glútea (área fotoprottegida), em biópsias por *punch* obtidas durante autópsias, observamos que:
 - o número e distribuição dos melanócitos foram variáveis;
 - na pele fotoexposta, verificou-se aumento do número de melanócitos, maior confluência e atipia citológica;
 - na pele fotoprottegida, houve diminuição do número de melanócitos com a idade;
 - não houve correlação da atipia citológica com a idade;
 - não se verificou formação de ninhos de melanócitos, tampouco disseminação pagetóide.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

1. A. Bernard Ackerman, Almut Boer , Bruce Bennin, Geoffrey J. Gottlieb – **Histologic Diagnosis of Inflammatory Skin Diseases – 3rd Edition**. New York: Lippincott Williams e Wilkins; 2005.
2. Armitage, P. and Berry, G. **Statistical Methods in Medical Research**. 3 ed. Oxford: Blackwell Science, 1994.
3. Barlow JO, Maize J Sr, Lang PG. **The density and distribution of melanocytes adjacent to melanoma and nonmelanoma skin cancers**. Dermatol Surg. 2007 Feb; 33(2):199-207.
4. Cochran AJ. **The incidence of melanocytes in normal skin**. J Invest Dermatol 1970; 55:65-70.
5. David E Elder, Rosalie Elenitsas, Bennett Johnson Jr., George F. Murphy – **Lever's Histopathology of the Skin – 9th Edition**. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins; 2005.
6. Fallowfield ME, Cook MG. **Epidermal melanocytes adjacent to melanoma and the field change effect**. Histopathology. 1990; 17:397-400.
7. Fallowfield ME, Curley RK, Cook MG. **Melanocytic lesions and melanocyte populations in human epidermis**. Br J Dermatol. 1991; 124:130-134.
8. Gilchrest BS, Blog FB, Szabo G. **Effects of aging and chronic sun exposure on melanocytes in human skin**. J Invest Dermatol 1979; 73:141–3.
9. Hendi A, Brodland DG, Zitelli JA. **Melanocytes in long-standing sun-exposed skin: quantitative analysis using the MART-1 immunostain**. Arch Dermatol. 2006 Jul; 142(7):871-6.

10. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. **Cancer statistics, 2007.** CA Cancer J Clin. Jan-Feb 2007; 57(1):43-66.
11. Mitchell RE. **The effect of prolonged solar radiation on melanocytes of the human epidermis.** J Invest Dermatol 1963; 41:199–212.
12. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. **Global cancer statistics, 2002.** CA Cancer J Clin. Mar-Apr 2005; 55(2):74-108.
13. Philip E. LeBoit, Gunter Burg, David Weedon, Alain Sarasin. **Skin Tumors – World Health Organization.** 2006.
14. Quevedo WC, Szabo G, Virks J, Sinesi SJ. **Melanocyte populations in UV-irradiated human skin.** J Invest Dermatol. 1965; 45:295–298
15. Rhodes AR, Weinstock MA, Fitzpatrick TB, Mihm MC Jr, Sober AJ. **Risk factors for cutaneous melanoma. A practical method of recognizing predisposed individuals.** JAMA. Dec 4 1987; 258(21):3146-54.
16. Rosdahl I. **The epidermal melanocyte population and its reaction to ultraviolet light.** Acta Derm Venereol Suppl (Stockh) 1979; 88:1–43.
17. Salvio , A. G. e Marques, M. E. A. **Imuno-histoquímica para identificação de células neoplásicas no infiltrado ativo de melanomas finos.** J Bras Patol Med Lab, 2006 Abril; 42 (2):143-148.
18. Siegel, S. and Castellan, N.J. **Nonparametric Statistics.** New York: McGraw-Hill. 2ed. 1988.
19. Staricco RJ, Pinkus H. **Quantitative and qualitative data on the pigment cells of adult human epidermis.** J Invest Dermatol 1957; 28:33–44.
20. Szabo G. **The number of melanocytes in human epidermis.** Br Med J 1954; 1:1016–1017.
21. Vieira, S. **Introdução à Bioestatística.** Rio de Janeiro: Campus, 3ª ed. 1998.

22. Weyers W, Bonczkowitz M, Weyers I, Bittinger A, Schill W-B. **Melanoma in situ versus melanocytic hyperplasia in sun-damaged skin: assessment of the significance of histopathologic criteria for differential diagnosis.** *AmJ Dermatopathol.* 1996;18:560-566
23. Whiteman DC, Parsons PG, Green AC. **Determinants of melanocyte density in adult human skin.** *Arch Dermatol Res.* 1999 Sep; 291(9):511-6.
24. Williams ML, Sagebiel RW. **Melanoma risk factors and atypical moles.** *West J Med.* Apr 1994; 160(4):343-50.
25. Wong CK. **A study of melanocytes in the normal skin surrounding malignant melanoma.** *Dermatologica* 1970; 141:215–25.

APÊNDICE A – Ficha de identificação

Nome: _____

Idade: _____

Sexo: Feminino () Masculino ()

Tipo Reativo de Pele: I () II () III () IV () V () VI ()

Área Fotoexposta

Nº de melanócitos/CGA (400x): ____/____/____/____/____/____/____/____/____/____

Confluência de melanócitos: Ausente () 2-3 () 4-5 () >5 ()

Atipia citológica: Ausente () Presente ()

Área Fotoprottegida

Nº de melanócitos/CGA (400x): ____/____/____/____/____/____/____/____/____/____

Confluência de melanócitos: Ausente () 2-3 () 4-5 () >5 ()

Atipia citológica: Ausente () Presente ()

APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Termo de Consetimento Livre e Esclarecido

Venho por meio desta soliocitar a inclusão de,

_____, no
projeto de pesquisa “Variação Morfológica de Melanócitos – A Influência da exposição Solar”.
Serão coletadas pequenas amostras de 5 milímetros da pele do membro superior (área
exposta ao sol) e da região glútea (área não-exposta) que serão submetidos à análise
microscópica.

O estudo visa reconhecer as alterações celulares dos melanócitos decorrentes da prolongada
e desprotegida da luz solar e dar informações úteis para a interpretação das biópsias de pele.

Recife, ____ de _____ de ____.

Responsável

1ª Testemunha

2ª Testemunha

Pesquisador

Daniela Mayumi Takano

Tel: 33410502

Avenida Beira-mar, 500.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. N.º 318/2007 - CEP/CCS

Recife, 23 de outubro de 2007

Registro do SISNEP FR – 152681

CAAE – 0270.0.172.000-07

Registro CEP/CCS/UFPE Nº 271/07

Título: “Variação Morfológica de Melanócitos – A influência da Exposição Solar”

Pesquisador Responsável: Daniela Mayumi Takano

Senhora Pesquisadora:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CEP/CCS/UFPE) registrou e analisou, de acordo com a Resolução N.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, o protocolo de pesquisa em epígrafe, aprovando-o e liberando-o para início da coleta de dados em 23 de outubro de 2007.

Ressaltamos que o pesquisador responsável deverá apresentar relatório ao final da pesquisa (31/10/2008).

Atenciosamente

Prof. Geraldo Bosco Lindoso Couto
Coordenador do CEP/CCS / UFPE

A

Mestranda Daniela Mayumi Takano

Programa de Pós-Graduação em Patologia – CCS/UFPE

ANEXO B – Autorização do Serviço de Verificação de Óbitos

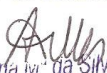


UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA

Dr. Aggeu Magalhães
Fundador da Patologia
em Pernambuco.

Venho por meio desta, comunicar o conhecimento e autorização para a coleta do material para o projeto de pesquisa, “ **Variação Morfológica de Melanócitos**” – **A Influência da Exposição Solar**”, a ser realizado no Serviço de Verificação de Óbitos de Recife-PE, após parecer e aprovação do Comitê de Ética desta Instituição.

Recife, 24 de setembro de 2007.


Dra. Adriana Ivo da Silva Teles
Chefe do Depatº de Patologia/CCSAUFPE

ANEXO C – Normas para a publicação na Revista Brasileira de Epidemiologia



ISSN 1415-790X versão

impressa

ISSN 1809-4503 versão online

Escopo e política

A **Revista Brasileira de Epidemiologia** tem por finalidade publicar Artigos Originais e inéditos, inclusive de revisão crítica sobre um tema específico, que contribuam para o conhecimento e desenvolvimento da Epidemiologia e ciências afins (máximo de 25 p., incluindo tabelas e gráficos). Publica também artigos para as seções: Debate destinada a discutir diferentes visões sobre um mesmo tema que poderá ser apresentado sob a forma de consenso/dissenso, artigo original seguido do comentário de outros autores, reprodução de mesas redondas e outras formas assemelhadas; Notas e Informações - notas prévias de trabalhos de investigação, bem como relatos breves de aspectos novos da epidemiologia além de notícias relativas a eventos da área, lançamentos de livros e outros (máximo de 5 p.); Cartas ao Editor - comentários de leitores sobre trabalhos publicados na Revista Brasileira de Epidemiologia (máximo de 3 p.).

Os manuscritos apresentados devem destinar-se exclusivamente à **Revista Brasileira de Epidemiologia**, não sendo permitida sua apresentação simultânea a outro periódico. Para tanto, o(s) autor(es) deverá(ão) assinar declaração de acordo com modelo fornecido pela Revista. Os conceitos emitidos, em qualquer das secções da Revista, são de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

Cada manuscrito é apreciado por três relatores, indicados por um dos Editores Associados, a quem caberá elaborar um relatório final conclusivo a ser submetido ao Editor Científico. Os manuscritos não aceitos ficam à disposição do(s) autor(es) por um ano.

Os manuscritos publicados são de responsabilidade da Revista, sendo vedadas tanto a reprodução, mesmo que parcial, em outros periódicos, como a tradução para outro

idioma sem a autorização do Conselho de Editores. Assim, todos os trabalhos, quando submetidos a publicação, deverão ser acompanhados de documento de transferência de direitos autorais, contendo assinatura do(s) autor(es), conforme modelo fornecido pela Revista.

Apresentação do manuscrito

Os artigos são aceitos em português, espanhol ou inglês. Os artigos em português e espanhol podem ser acompanhados, além dos resumos (no idioma original do artigo e em inglês), de um sumário mais extenso (uma lauda), em inglês, com maior número de informações (podendo conter, inclusive, citação de tabelas e figuras), para divulgação na home page da Abrasco - www.abrasco.org.br. Os títulos e notas de rodapé das figuras e tabelas deverão ser bilingües (português/inglês ou espanhol/inglês). Os resumos deverão ter no mínimo 150 e no máximo 250 palavras. Os originais devem ser apresentados em espaço duplo e submetidos em três vias. O manuscrito deverá ser apresentado com uma página de rosto, onde constarão: título (quando apresentado em português ou espanhol, trazer também o título em inglês), nome(s) do(s) autor(es) (último sobrenome deve ser indicado em letras maiúsculas) e respectiva(s) instituição(ões) a que pertence(m), por extenso, endereço para correspondência e fontes de financiamento da pesquisa e respectivo número do processo. Todos os artigos deverão ser encaminhados juntamente com o disquete e indicação quanto ao programa e à versão utilizada (linguagem compatível com o ambiente Windows). Quando datilografados, devem obedecer o mesmo formato.

Ilustrações

As tabelas e figuras (gráficos e desenhos) deverão ser enviadas em páginas separadas; devem ser suficientemente claras para permitir sua reprodução de forma reduzida, quando necessário.

Palavras-chave

Os autores deverão apresentar no mínimo 3 e no máximo 10 palavras-chave que considerem como descritores do conteúdo de seus trabalhos, no idioma em que o artigo foi apresentado e em inglês para os artigos submetidos em português e espanhol, estando os mesmos sujeitos a alterações de acordo com o "Medical Subject Headings" da NML.

Abreviaturas

Deve ser utilizada a forma padronizada; quando citadas pela primeira vez, devem ser

por extenso. Não devem ser utilizadas abreviaturas no título e no resumo.

Referências

Numeração consecutiva de acordo com a primeira menção no texto, utilizando algarismos arábicos em sobrescrito. A listagem final deve seguir a ordem numérica do texto, ignorando a ordem alfabética de autores. Não devem ser abreviados títulos de livros, editoras ou outros. Os títulos de periódicos seguirão as abreviaturas do Index Medicus/Medline. Devem constar os nomes dos 6 primeiros autores; quando ultrapassar este número utilize a expressão et al. Comunicações pessoais, trabalhos inéditos ou em andamento poderão ser citados quando absolutamente necessários, mas não devem ser incluídos na lista de referências, somente citadas no texto ou em nota de rodapé. Quando um artigo estiver em via de publicação, deverá ser indicado: título do periódico, ano e outros dados disponíveis, seguidos da expressão, entre parênteses "no prelo". As publicações não convencionais, de difícil acesso, podem ser citadas desde que o(s) autor(es) do manuscrito indique(m) ao leitor onde localizá-las.

A exatidão das referências é de responsabilidade do(s) autor(es).

EXEMPLOS DE REFERÊNCIAS

Artigo de periódico

Szklo M. Estrogen replacement therapy and cognitive functioning in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. Am J Epidemiol 1996; 144: 1048-57.

Livros e outras monografias

Lilienfeld DE, Stolley PD. Foundations of epidemiology. New York: Oxford University Press; 1994.

Capítulo de livro

Laurenti R. Medida das doenças. In: Forattini OP. Ecologia, epidemiologia e sociedade. São Paulo: Artes Médicas; 1992. p. 369-98.

Tese e Dissertação

Bertolozzi MR. Pacientes com tuberculose pulmonar no Município de Taboão da Serra: perfil e representações sobre a assistência prestada nas unidades básicas de

saúde [dissertação de mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 1991.

Trabalho de congresso ou similar (publicado)

Mendes Gonçalves RB. Contribuição à discussão sobre as relações entre teoria, objeto e método em epidemiologia. In: Anais do 1º Congresso Brasileiro de Epidemiologia; 1990 set 2-6; Campinas (Br). Rio de Janeiro: ABRASCO; 1990. p. 347-61.

Relatório da OMS

World Health Organization. Expert Committee on Drug Dependence. 29th Report. Geneva; 1995. (WHO - Technical Report Series, 856).

Documentos eletrônicos

Hemodynamics III: the ups and downs of hemodynamics. [computer program]. Version 2.2. Orlando (FL): Computerized Systems; 1993.

OBSERVAÇÃO

A Revista Brasileira de Epidemiologia adota as normas do Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (estilo Vancouver), publicadas no New England Journal of Medicine 1997; 336: 309 e na Revista Panamericana de Salud Publica 1998; 3: 188-96, cuja cópia poderá ser solicitada à Secretaria da Revista.

Envio de manuscritos

Os manuscritos devem ser endereçados ao Editor Científico, no seguinte endereço:

Av. Dr. Arnaldo, 715 - Biblioteca - 2º andar - Sala 1
01246-904 São Paulo, SP - Brasil
fone/fax (011) 3085 5411
e-mail: revbrepi@edu.usp.br

ANEXO D – Normas para a publicação no Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina
Laboratorial

Daniela

Mayumi

Takano,

Agradecemos a submissão do seu manuscrito "Estudo Quantitativo e Qualitativo de Melanócitos da Pele Humana – Revisão Sistemática" para Revista Brasileira de Epidemiologia. Através da interface de administração do sistema, utilizado para a submissão, será possível acompanhar o progresso do documento dentro do processo editorial, bastando apenas clicar no sistema localizado em:

URL

do

Manuscrito:

<http://submission.scielo.br/index.php/rbepid/author/submission/15538>

Login:

danielatakano

Em caso de dúvidas envie suas questões para este email. Agradecemos mais uma vez considerar nossa revista como meio de transmitir ao público seu trabalho.

Sandra

Suzuki

Revista Brasileira de Epidemiologia

ANEXO E – Normas para a publicação no Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial



ISSN 1676-2444 versão

impressa

ISSN 1678-4774 versão online

O **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, continuação do Jornal Brasileiro de Patologia, de periodicidade bimestral (fevereiro, abril, junho, agosto, outubro e dezembro), destina-se à publicação de trabalhos científicos que contribuam para a divulgação do conhecimento e para o desenvolvimento da área de Medicina Laboratorial (Patologia Clínica, Patologia, Citopatologia) e aceita artigos escritos em português, inglês ou espanhol, das seguintes categorias: artigos originais, relatos de casos, comunicações breves, cartas aos editores e resenhas. Profissionais de competência reconhecida serão convidados pelo Conselho Editorial a escrever artigos de revisão e de atualização.

Análise dos trabalhos

O manuscrito recebido para publicação será enviado para um ou mais avaliadores, pares científicos, de renome e conhecimento específico que contemple o assunto abordado no artigo. Após resposta do avaliador, o Editor do JBPML entrará em contato com os autores comunicando a eventual rejeição ou os passos a serem tomados para a publicação definitiva do manuscrito.

Direitos autorais

Solicita-se aos autores enviar, junto com a carta aos Editores, um termo de

responsabilidade. Desta forma, os trabalhos, quando submetidos à publicação, deverão ser acompanhados de documento de transferência de direitos autorais, contendo a assinatura de cada um dos autores, cujo modelo é apresentado a seguir:

"Eu/Nós..., autores do trabalho intitulado..., o qual submeto(emos) à apreciação do *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, concordo(amos) que os direitos autorais a ele referentes se tornarão propriedade exclusiva da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial, vedada qualquer reprodução total ou parcial, em qualquer outra parte ou meio de divulgação impresso sem que a prévia e necessária autorização seja solicitada e obtida.

Declaro(amos) também que o artigo é original em sua forma e conteúdo, não tendo sido publicado em outro periódico científico, completo ou em parte, e certifico(amos) que não se encontra sob análise em qualquer outro veículo de comunicação científica.

Atesto(amos) que o(s) autor(es) participou(aram) efetivamente da concepção e realização do artigo em questão e dos experimentos que resultaram nessa comunicação.

De igual forma, declaro(amos) estar comprometido(s) com a análise dos dados e com a redação do manuscrito.

De forma inequívoca, não tenho(mos) nenhum conflito de interesse com o tema abordado nem com os produtos citados.

Data:... Assinatura:..."

Ética

Estudos realizados com seres humanos, incluindo-se órgãos e/ou tecidos isoladamente, bem como prontuários clínicos ou resultados de exames clínicos, deverão estar de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (<http://www.bioetica.ufrgs.br/res19696.htm>). O trabalho a ser publicado deverá ser acompanhado de consentimento, por escrito, do paciente e de cópia da aprovação (certificado) do Comitê de Ética da Instituição onde foi realizada a pesquisa, em consonância com a Declaração de Helsinki, 1989 (<http://www.bioetica.ufrgs.br/helsin4.htm>).

Nos trabalhos experimentais envolvendo animais, devem ser respeitados os princípios éticos de experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) (<http://www.cobea.org.br/etica.htm#10>) e as normas estabelecidas no Guide for Care and Use of Laboratory Animals (Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences, National Research Council, Washington, D.C., 1996) (<http://oacu.od.nih.gov/regs/guide/guidex.htm>).

É essencial que as drogas e substâncias químicas usadas sejam identificadas com precisão. Não devem ser utilizados nomes ou iniciais do paciente no material ilustrativo, assim como é vetado informar nomes comerciais, de empresas e/ou registros de hospitais.

Como preparar um trabalho antes de enviá-lo aos Editores

Deverão ser enviadas três cópias impressas dos trabalhos, bem como uma cópia em disquete 3 1/2, contendo o arquivo do texto em Word for Windows 6.0 ou posterior. As ilustrações e tabelas devem ser preparadas em programa processador de gráficos.

Devem constar na primeira página: 1) título do artigo: deve ser conciso e completo, descrevendo o assunto a que se refere. Palavras supérfluas devem ser omitidas. Apresentar a versão do título para o inglês; 2) nome completo do(s) autor(es); 3) titulação acadêmica e indicação da instituição a que cada autor está filiado, acompanhada do respectivo endereço; 4) nome do departamento e/ou instituição no qual o trabalho foi realizado; 5) indicação do autor responsável pela correspondência; 6) se foi subvencionado, indicar o nome da agência de fomento que concedeu o auxílio; 7) se foi baseado em tese, indicar título, ano e instituição onde foi apresentada; 8) se foi apresentado em reunião científica, indicar nome, local e data

de realização do evento.

Resumos e unitermos

Devem constar na segunda página dois resumos: um em português (Resumo) e outro em inglês (Abstract). Os resumos devem identificar os objetivos, os procedimentos e as conclusões do trabalho (máximo de 150 palavras para resumos não-estruturados e de 250 para resumos estruturados). Os resumos estruturados, a serem apresentados pelos artigos originais e de revisão, devem incluir as informações do conteúdo dos artigos, com a indicação dos cabeçalhos, que constituem a divisão formal do artigo. Os unitermos, palavras que representam o assunto tratado no trabalho, devem ser em número de três a seis, fornecidos pelo autor, utilizando-se o vocabulário controlado Decs – Descritores em Ciências da Saúde (Bireme), acrescidos de outros termos, quando necessário. Devem ser apresentados em português e inglês.

O endereço para correspondência do autor responsável deve vir no final do artigo.

Agradecimentos

Devem ser breves, diretos e dirigidos apenas à pessoa ou às instituições que contribuíram substancialmente para a elaboração do trabalho. Virão antes das referências bibliográficas

Estrutura do texto

Artigos originais

São contribuições destinadas a divulgar resultados de pesquisa original inédita que possam ser replicados ou generalizados. Os artigos podem conter até 4 mil palavras. A sua estrutura formal deve seguir o esquema de apresentação do texto para esse tipo de artigo: Introdução, Objetivos, Material e método, Resultados, Discussão e Conclusões. O uso de subtítulos é recomendado particularmente na Discussão do artigo. Implicações clínicas e limitações do estudo devem ser apontadas. Sugere-se o detalhamento do tópico Material e método. Para esses artigos exige-se a apresentação de um resumo estruturado em português e inglês, com cabeçalhos obedecendo à apresentação formal do artigo: Introdução (Background), Objetivos (Objectives), Material e método (Material and method), Resultados (Results), Discussão (Discussion) e Conclusões (Conclusions). O Abstract (resumo em inglês)

deve ser precedido pelo título em inglês. As referências bibliográficas devem aparecer no final do texto.

Comunicações breves

São relatos curtos que devem apresentar: 1) dados de estudos preliminares com achados sugestivos que garantam uma investigação mais definitiva; 2) estudos de replicação; e 3) estudos negativos de tópicos importantes. Esses artigos devem ter até 1.500 palavras, incluir resumo não-estruturado e, no máximo, uma tabela ou figura, além das referências bibliográficas.

Artigos de revisão e atualização

Artigos de revisão e/ou atualização apenas serão publicados por convite específico dos editores. Avaliação crítica sistematizada da literatura sobre determinado assunto, devendo conter conclusões. Devem conter até 5 mil palavras. A organização do texto do artigo, com exceção de Introdução, Discussão e Conclusão, fica a critério do autor. Para esses artigos exige-se um resumo estruturado no idioma do texto e outro em inglês. Uma lista extensa de referências bibliográficas deve aparecer no final do texto.

Relatos de casos

São trabalhos de observações clínicas originais acompanhados de análise e discussão. Devem conter até 1.500 palavras. A sua estrutura deve apresentar, no mínimo, os seguintes tópicos: Introdução, Relato(s) dos(s) caso(s), Discussão. Incluir um resumo não-estruturado no idioma do texto e em inglês.

Cartas aos Editores

Inclui cartas que visam a discutir artigos recentes publicados na revista ou a relatar pesquisas originais ou achados científicos significativos. Cartas breves, com no máximo 500 palavras (incluindo referências, sem tabelas ou figuras), serão consideradas se estiver explícita a frase para publicação. A carta deve ser assinada por todos os seus autores.

Referências

As referências bibliográficas devem aparecer no final do artigo, em ordem alfabética

numerada. Os títulos dos periódicos deverão ser referidos na forma abreviada de acordo com o Index Medicus (List of Journals Indexed in Index Medicus). Se a lista de referências não seguir a norma adotada, os trabalhos serão imediatamente rejeitados, sem revisão de conteúdo.

Os autores devem certificar-se de que as referências citadas no texto constam da lista de referências com datas exatas e nomes de autores corretamente grafados. A exatidão das referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores. Comunicações pessoais, trabalhos inéditos ou em andamento poderão ser citados, quando absolutamente necessários, mas não devem ser incluídos na lista de referências bibliográficas; apenas mencionados no texto ou em nota de rodapé. A lista de referências deve seguir o estilo dos exemplos abaixo, e se mais de três autores colaboraram numa publicação, deve ser listado o primeiro seguido da expressão latina *et al.*

Exemplos:

- Artigos de periódicos (um só autor)

COTRIM, F.L.S. Coleta de sangue para dosagem de triglicerídeos. *J Bras Patol*, v. 33, n. 4, p. 201-02, 1997.

- Artigos de periódicos (mais de três autores)

ABREU, E.S. *et al.* Doença de Hodgkin infanto-juvenil no estado do Ceará e sua relação com o vírus Epstein-Barr: parâmetros clínicos e análise morfológica imuno-histoquímica e por hibridização *in situ*. *J Bras Patol*, v. 33, n. 4, p. 178-84, 1998.

- Artigo de periódico *on-line*

YAZLE, J.S.R. *et al.* Assistência hospitalar como indicador da desigualdade social. *Rev Saúde Publ*, São Paulo, v. 31, n. 5, 1997. Disponível em: <http://www.fsp.usp.br/rsp>. Acesso em: 23 mar. 1998.

- Livros no todo (dois autores)

RINGSVEN, M.K.; BOND, D. *Gerontology and leadership skills for nurses*. Albany, N.Y.: Delmar Publishers, 1996.

- Capítulos ou parte de livro editado por outro autor

SCIVOLETO, R. Sistema nervoso autônomo. In: ZANINI, A. C.; OGA, S. *Farmacologia aplicada*. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1989. Cap. 9; p. 97-141.

- Parte de livro em meio eletrônico

SÃO PAULO (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Tratados e organizações ambientais em matéria de meio ambiente. In: _____. *Entendendo o meio ambiente*. São Paulo, 1999. v. 1. Disponível em: <http://www.bdt.org/sma/entendendo/atual/htm>. Acesso em: 8 mar.1999.

- Evento em meio eletrônico

SILVA, R. N.; OLIVEIRA, R. Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total da educação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPE, 4., 1996, Recife. *Anais eletrônicos...* Recife: UFPE, 1996. Disponível em: <http://www.propesq.ufpe.br/anais/educ/ce04.htm>. Acesso em: 21 jan.1997.

- Tese ou dissertação

Oliveira, C.M. *Isolamento e caracterização de estreptococos de placa dental*. Rio de Janeiro, 1974. Tese (doutoramento) – Instituto de Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

- Citações no texto

Devem ser identificadas por algarismos arábicos (números-índice). Podem também ser acrescentados o nome do autor e o ano. As referências com mais de um autor devem conter o sobrenome do autor seguido da expressão *et al.*, como, por exemplo, Higashi et al¹.

Tabelas e figuras

As tabelas deverão ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e encabeçadas por seu título, recomendando-se a não-repetição dos mesmos dados em gráficos. Na montagem das tabelas, seguir as Normas de apresentação tabular estabelecidas pelo Conselho Nacional de Estatística e publicadas pelo IBGE (1993). As ilustrações (gráficos, fotografias, desenhos, etc.) deverão ser numeradas

consecutivamente com algarismos arábicos e citadas como figuras.

Devem ser suficientemente claras para permitir sua produção. Os gráficos deverão vir preparados em programa processador de gráficos. Deverão ser indicados os locais aproximados no texto onde as ilustrações serão intercaladas como figuras.

Abreviações e nomes de medicamentos

As abreviações devem ser indicadas no texto no momento de sua primeira utilização. Empregar o nome genérico de medicamentos e indicar a fonte de componentes não-disponíveis para prescrição.

As unidades de medida, inclusive suas abreviaturas, devem ser expressas no sistema métrico decimal e, quando o autor assim o desejar, também no System International (SI) entre parênteses.

Endereço para envio dos originais

Sociedade	Brasileira	de	Patologia	Clínica/Medicina	Laboratorial
R. Dois	de	Dezembro,	78/salas	909 e 910	– Catete
CEP 22220-040	–	Rio de	Janeiro-RJ	–	Brasil
Tel.: (21)		3077-1400	ou		3077-1408
E-mail: jbpml@sbpc.org.br					

ANEXO F – Comprovante de submissão para a publicação no Jornal Brasileiro de
Patologia e Medicina Laboratorial

From: sgp@jbpm.org.br
To: danielatakano65@hotmail.com
Subject: Artigo Submetido SGP/ JBPML
Date: Wed, 22 Jul 2009 08:56:34 -0300



Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial

Rua Dois de Dezembro, 78/909 Catete

Rio de Janeiro RJ Brasil

CEP 22220-040

Rio de Janeiro, quarta-feira, 22 de julho de 2009

Ilmo(a) Sr.(a)
Prof(a), Dr(a) Daniela Mayumi Takano

Referente ao código de fluxo: 128
Classificação: Artigo Original

Informamos que recebemos o manuscrito Variação Morfológica de Melanócitos - A Influência da Exposição Solar será enviado para apreciação dos revisores para possível publicação/participação na(o) Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. Por favor, para qualquer comunicação futura sobre o referido manuscrito cite o número de referência apresentado acima.

O (s) autor (es) declara(m) que o presente trabalho é original, sendo que o seu conteúdo não foi nem está sendo considerado para publicação em outro periódico, brasileiro ou do Exterior, seja no formato impresso ou eletrônico.

Obrigado por submeter seu trabalho a(o) Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. Atenciosamente,

Adagmar Andriolo
Editor
ALFREDO J. A. BARBOSA - Patologia (Anatomia Patológica)
Editor