

**UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PELOTAS
CENTRO DE CIÊNCIAS DA VIDA E DA SAÚDE
DOUTORADO EM SAÚDE E COMPORTAMENTO**

**MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DE
COLAGENOPATIAS DEGENERATIVAS INFLAMATÓRIAS
ADQUIRIDAS**

**Eduardo de Barros Coelho Bicca
Orientador: Dr. Hiram Laranjeira de Almeida Júnior**

Pelotas, dezembro de 2012

**UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PELOTAS
CENTRO DE CIÊNCIAS DA VIDA E DA SAÚDE
DOUTORADO EM SAÚDE E COMPORTAMENTO**

**MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DE
COLAGENOPATIAS DEGENERATIVAS INFLAMATÓRIAS
ADQUIRIDAS**

Tese apresentada para obtenção do
título de doutor, pelo Programa de
Pós Graduação em Saúde e
Comportamento da Universidade
Católica de Pelotas.

**Eduardo de Barros Coelho Bicca
Orientador: Dr. Hiram Lorangeira de Almeida Júnior**

Pelotas, dezembro de 2012

Agradecimentos

Ao meu orientador, **Dr. Hiram Larangeira de Almeida Júnior**, pela inteligência, interesse e estímulo incessante. Um brilhante orientador e professor, o qual passei a admirar ainda mais.

Aos **pacientes**, cuja permissão possibilitou o presente estudo. Sua contribuição foi fundamental e indispensável para o mesmo.

A **Nara Moreira Rocha e Ricardo Marques e Silva**, pela disponibilidade e colaboração neste trabalho.

Aos meus pais, **Clécia e José Augusto**, fontes permanentes de apoio, estímulo e inspiração.

À minha amada namorada **Clarissa**, companheira incansável em todas as horas.

À minha avó **Zilda** (*in memoriam*), pelo permanente estímulo ao estudo e exemplo de caráter e seriedade.

Sumário

1. Introdução.....	5
1.1. Microscopia eletrônica de varredura.....	5
1.2. Líquen escleroso atrófico.....	6
1.3. Granuloma Anular.....	8
2. Objetivos.....	12
3. Hipóteses.....	13
4. Material e métodos.....	14
5. Aspectos éticos.....	15
6. Cronograma.....	16
7. Orçamento.....	17
8. Referências bibliográficas.....	18
9. Resultados.....	25
9.1. Líquen Escleroso 1.....	25
9.2. Líquen Escleroso 2	49
9.3. Granuloma Anular 1.....	73
9.4. Granuloma Anular 2	96
9.5. Esclerodermia.....	126
10. Discussão.....	134
11. Conclusões.....	136
12. Anexo - Artigo 1 Aceito.....	137

1. INTRODUÇÃO

1.1. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Historicamente, a microscopia eletrônica de varredura teve seu início com o trabalho de M. Knoll (1935), descrevendo a concepção do microscópio eletrônico de varredura¹. Em 1938 von Ardenne construiu o primeiro microscópio eletrônico de transmissão e varredura adaptando bobinas de varredura ao microscópio eletrônico de transmissão². O primeiro microscópio eletrônico de varredura para observação de amostras espessas foi construído em 1942, no entanto, ainda com resolução inferior ao microscópio óptico³. Melhoramentos foram feitos para reduzir o diâmetro do feixe de elétrons e melhorar a parte eletrônica. Com estas modificações se conseguiu obter uma imagem com resolução de 50 nm (500 \AA). A substituição das lentes eletrostáticas por lentes eletromagnéticas permitiu melhorar ainda mais a resolução passando para 25 nm³.

Modificações foram sendo introduzidas através de melhoras nos detectores, como por exemplo, a introdução do cintilador que converte os elétrons em sinal de luz, e a sua captação por uma fotomultiplicadora⁴. Em 1965 foi então construído o primeiro microscópio eletrônico de varredura comercial pela Cambridge Scientific Instrument. Desde então, muitos avanços têm sido feitos, principalmente em relação às fontes de elétrons, parte eletrônica e computacional. A substituição do sistema analógico pelo digital permite que as imagens sejam armazenadas e processadas facilmente. O advento dos microcomputadores e o desenvolvimento de programas específicos para operação e análise dos resultados facilitou

ainda mais a utilização do microscópio eletrônico de varredura. O mesmo se tornou um instrumento imprescindível nas mais diversas áreas: eletrônica, geologia, ciência e engenharia dos materiais, ciências da vida e da saúde⁵.

O instrumento tem sido de grande utilidade na descrição de doenças do cabelo⁶⁻⁹, micoses^{10,11}, doenças bolhosas¹² e doenças do colágeno^{13,14}. Nossa proposta é a de utilizar a MEV na caracterização de collagenopatias degenerativas (dois casos de líquen escleroso atrófico e dois de granuloma anular), para as quais não se tem usado tal técnica.

1.2. LÍQUEN ESCLEROSO ATRÓFICO (LEA)

Introdução - O líquen escleroso é uma doença dermatológica crônica mediada por linfócitos que pode afetar qualquer superfície cutânea, tendo predileção pela área anogenital¹⁵⁻¹⁹. É geralmente aceito como uma desordem autoimune, mas o exato antígeno alvo e a patogênese da doença permanecem controversos^{17,19,20}. A doença foi clinicamente descrita pela primeira vez por Hallopeau em 1887, com o nome de líquen plano atrófico²¹. Em 1892, Darier descreveu os achados histológicos da doença e a chamou de líquen plano escleroso²². Como nem todos os casos são histologicamente atróficos, em 1976, Friedrich propôs a remoção do termo “atrófico” da expressão “líquen escleroso atrófico”, resultando em “líquen escleroso”^{15,16,23}.

Aspectos Clínicos - O líquen escleroso é caracterizado clinicamente por lesões bem demarcadas, esbranquiçadas, levemente elevadas ou planas, frequentemente começando como pequenas

pápulas planas cobertas que podem coalescer para formar placas branco-marfim^{16,24-29}. Lesões genitais estão usualmente associadas com dor e prurido mas, quando extragenitais, são frequentemente assintomáticas^{16,24,28,30}. Em mulheres, as lesões podem levar a fusão dos pequenos lábios, estreitamento do intróito vaginal, resultando em dispareunia, disfunção sexual, e sangramento anogenital^{15,18}. Em homens e meninos, as lesões ocorrem geralmente na glândula e/ou prepúcio, podendo causar fimose e ereção dolorosa. Estenose meatal pode levar a problemas de passagem da urina e obstrução urinária^{15,18}. A prevalência é estimada de 1:30 a 1:1000 adultos^{18,31,32}.

Aspectos histológicos - A patologia do líquen escleroso pode ser difícil de interpretar e um diagnóstico final deve sempre ser feito no contexto de uma verdadeira correlação clinicopatológica. Não há uma correlação global entre a aparência histológica e a duração da presença da doença^{20,33}. Os achados histopatológicos característicos incluem hiperqueratose do epitélio, degeneração hidrópica das células basais, retificação da epiderme, esclerose do colágeno subepitelial, infiltrado linfocítico dérmico, epiderme atrófica e homogeneização do colágeno no terço superior da derme^{15,16,20,24,27-29,34-36}. As fibras elásticas subepiteliais decrescem e se separam da superfície epitelial na área edematosa hialinizada^{16,26,28,35-37}. Estas mudanças no epitélio, especialmente a hiperqueratose, e na textura do colágeno, promovem o aspecto esbranquiçado e brilhante visto clinicamente no líquen escleroso¹⁵. Nos estágios iniciais do líquen escleroso, tanto a aparência clínica quanto o quadro histológico podem ser difíceis de interpretar^{20,38}. O diagnóstico do líquen escleroso é usualmente clínico, sendo a biópsia uma ferramenta de ajuda que não deve ser

interpretada isoladamente. Uma biópsia inespecífica não afasta a hipótese de líquen escleroso, embora os achados histológicos clássicos confirmem o diagnóstico²⁰.

Aspectos ultraestruturais- há relatos somente de microscopia eletrônica de transmissão. Mihara encontrou substância amorfa, de forma irregular, contendo microfilamentos e quantidades variáveis de fibras colágenas em abundante matriz. Estas eram esparsas e com arranjo desorganizado, sugerindo formação ativa de colágeno. Em tais áreas, as fibras elásticas eram escassas, mas de aspecto normal³⁹.

Na derme superficial, em área homogeneizada, foram vistas alterações tais como desintegração e homogeneização das fibras colágenas com fibras elásticas esparsas ou ausentes. Na derme profunda, fibras elásticas fragmentadas foram vistas⁴⁰.

Há degeneração e regeneração do colágeno e quantidades aumentadas de elastina. A lâmina basal mostra descontinuidade, longas lacunas e replicação. A epiderme tem número aumentado de células de Langerhans e diminuído de melanócitos⁴¹. Foi relatado, ainda, o achado de lâmina basal em grinalda pela microscopia eletrônica de transmissão⁴². Um importante diagnóstico diferencial é a esclerodermia em placa⁴³⁻⁴⁵, motivo pelo qual faremos a comparação dos casos de líquen escleroso com um de esclerodermia em placa.

1.3. GRANULOMA ANULAR (GA)

Introdução - desde sua primeira descrição por Fox em 1895⁴⁶ o granuloma anular tem sido bem descrito na literatura dermatológica. Trata-se de uma lesão relativamente comum e benigna, de causa desconhecida, consistindo em uma dermatose granulomatosa,

encontrada em adultos e crianças⁴⁷⁻⁵². Clinicamente, aparece como pápulas intradérmicas, as quais podem ser discretas ou arrançadas em uma configuração anular^{47,50,52}. A doença não mostra predileção por raça ou etnia e ocorre em todos os grupos etários. Contudo, 66% dos pacientes tem menos de 30 anos de idade e as mulheres são afetadas aproximadamente duas vezes mais que os homens⁵¹⁻⁵⁵.

Aspectos clínicos - A forma mais comum da doença é a localizada, sendo descritas ainda as formas generalizada, perfurante e subcutânea^{47,56-59}. A forma localizada de granuloma anular corresponde a 75% dos casos^{47,54}. Ela começa com um pequeno anel de pequenas pápulas firmes, vermelhas ou cor de carne. Com a progressão da condição, há alguma involução central e o anel de pápulas aumenta de 0,5 para 5,0cm de diâmetro. As lesões podem ser isoladas ou coalescer em placas, sendo encontradas nas faces lateral e dorsal das mãos e pés. Mais de 50% destes pacientes terão resolução espontânea dentro de dois anos^{55,60}. A forma disseminada ou generalizada é similar à variante localizada, mas é mais difundida, tendo dez ou mais lesões. As pápulas podem se fundir para formar lesões anelares nas extremidades, no tronco e pescoço. Em contraste com a forma localizada, estas lesões podem persistir por três a quatro anos ou mais⁶⁰.

O granuloma anular subcutâneo é diagnosticado principalmente em crianças de dois a cinco anos de idade. As lesões são nódulos subcutâneos assintomáticos, de crescimento rápido, em extremidades, mãos, escalpo, nádegas e áreas pré-tibial e periorbital. As lesões podem ser solitárias ou agrupadas. O diagnóstico é feito por biópsia excisional. Estas lesões podem resolver espontaneamente ou podem

recorrer após a excisão. Não há relatos de progressão para doença sistêmica^{57,60}. O granuloma anular perfurante é raro e ocorre mais frequentemente em crianças e adultos jovens, sendo também mais comum em mulheres. Ele pode ter formas localizada e generalizada. A forma localizada é encontrada nos membros superiores e na pelve, enquanto a variante generalizada, que é mais comum, se apresenta em área abdominal, tronco, membros superiores e inferiores. As lesões são pápulas de 1 a 4mm com uma crosta ou escama central com ou sem centro umbilicado. A biópsia mostra granulomas em paliçada com eliminação transepitelial de fibras colágenas degeneradas^{60,61}. Esta eliminação transepitelial leva à designação perfurante. Vinte e cinco por cento dos pacientes reportam prurido e vinte e cinco por cento referem dor, principalmente em lesões localizadas nas palmas^{60,62}.

Aspectos histológicos- a histopatologia do granuloma anular é caracterizada por degeneração focal do colágeno, inflamação reativa e fibrose^{47,63}. A epiderme é normal, exceto na variante perfurante. O padrão de colágeno degenerado é um espectro variando de grandes focos de degeneração completa circundados por histiócitos em paliçada com mucina central a pequenos focos de degeneração incompleta do colágeno. Um infiltrado de linfócitos, histiócitos e fibroblastos é encontrado entre o colágeno normal e o parcialmente degenerado, frequentemente em um arranjo de linhas simples. A aparência histológica lembra nódulos reumatóides, de onde vem o sinônimo nódulo pseudo-reumatóide⁴⁷.

Aspectos ultraestruturais – ultraestruturalmente só há publicações com microscopia eletrônica de transmissão, tendo sido

relatada degeneração de fibras elásticas, com fagocitose das mesmas por macrófagos e células gigantes^{64,65}. As fibras elásticas e colágenas ao redor dos granulomas se mostram dentro dos limites da normalidade⁶⁴.

As normalmente bem definidas bandas colágenas se mostram desintegradas, com o arranjo paralelo das fibrilas perdido. As fibrilas mostram-se inchadas, com estrias cruzadas e se degradando a um material granular e amorfo^{65,66}.

2. OBJETIVOS:

2.1. OBJETIVO GERAL

- Descrever os aspectos ultraestruturais com microscopia eletrônica de varredura de dois casos de LEA e dois de GA.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever as lesões cutâneas dos casos;
- Descrever a microscopia óptica das lesões;
- Descrever achados tridimensionais das lesões na microscopia eletrônica de varredura;
- Comparar os achados com caso de esclerodermia em placa.

3. HIPÓTESES

Microscopia eletrônica de varredura.

- As fibras colágenas estarão degeneradas nos casos de LEA, especialmente em região superficial da derme, o que poderia ser bem correlacionado com os achados da microscopia óptica;

- As fibras colágenas mostrarão degeneração focal nos casos de GA, particularmente nas regiões afetadas pelo infiltrado inflamatório característico desta patologia, de forma semelhante ao já observado e descrito na microscopia óptica;

- No caso de esclerodermia em placa, não esperamos encontrar degeneração de fibras colágenas, apesar de eventuais semelhanças macroscópicas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo descritivo, o qual relatará os casos clínicos de duas pacientes com LEA e duas com GA, os quais serão comparados com o caso de uma paciente com esclerodermia em placa. Após a descrição dos achados clínicos serão demonstrados os achados dos exames microscópicos através de material obtido por *punch*.

Para a microscopia óptica, será realizado processamento de rotina em laboratório de anatomia patológica, com coloração por hematoxilina-eosina.

Para os exames de microscopia eletrônica de varredura, os fragmentos de pele serão processados de rotina para essa técnica, com o apoio técnico e estrutural dos laboratórios de microscopia eletrônica - EMBRAPA-CPA-CT e Faculdade de Odontologia – UFPEL

Os resultados obtidos serão confrontados com a literatura disponível (PUBMED e LILACS) e posteriormente divulgados na forma de artigo.

5. ASPECTOS ÉTICOS

A pele a ser submetida às microscopias óptica e eletrônica foi obtida com o consentimento dos pacientes através de excisão por *punch* de áreas lesionais, para realização dos diagnósticos.

6. CRONOGRAMA

Revisão bibliográfica.....	março 2011/dezembro 2012
Elaboração do projeto.....	abril/junho 2011
Defesa do projeto.....	setembro 2011
Microscopia óptica.....	novembro 2011
Microscopia eletrônica de varredura.....	dezembro 2011
Editoração fotográfica.....	janeiro/junho 2012
Análise dos resultados.....	janeiro/junho 2012
Redação dos artigos.....	janeiro/dezembro 2012
Defesa da tese.....	dezembro 2012

7. ORÇAMENTO

Não haverá custo para a realização das microscopias óptica e eletrônica de varredura. Os custos serão absorvidos pelos setores envolvidos (Laboratórios de microscopia eletrônica - EMBRAPA-CPA-CT e Faculdade de Odontologia – UFPEL).

8. REFERÊNCIAS

1. Knoll M. Aufladepotential und Sekundäremission elektronenbestrahlter Körper. Z Tech Phys 1935; 16: 467-475.
2. Von Ardenne M. Das Elektronen-Rastermikroskop. Theoretische Grundlagen. Z Tech Phys 1938; 109: 553-572.
3. Zworykin VK, Hiller J, Snyder RL. ASTM Bulletin 1942; 15: 117.
4. Everhart TE, Thornley RFM. Wide band detector for micro-microampere low-energy electron currents. J Sci Instrum 1960; 37: 246-248.
5. Dedavid AB, Gomes CI, Machado G. Microscopia Eletrônica de Varredura – Aplicações e Preparação de Amostras. EDIPUCRS 2007: 9-11.
6. Hicks J, Metry DW, Barrish J, Levy M. Uncombable Hair (cheveux incoiffables, *pili trianguli et canaliculi*) Syndrome: Brief Review and Role of Scanning Electron Microscopy in Diagnosis. Ultrastruct Pathol 2001; 25:99-103.
7. de Almeida Jr H, Götze F, Heckler G, Silva RM. *Trichomycosis capitis*: first report of this localization and ultrastructural aspects. Eur J Dermatol 2011; 21: 1–2.
8. de Almeida Jr HL, da Cunha Filho RR, de Castro LAS, Rocha NM, Abrantes V. Microscopic aspects of pili canaliculi. JEADV 2007; 21: 104–143.
9. Shelley WB, Miller MA. Electron microscopy, histochemistry, and microbiology of bacterial adhesion in trichomycosis axillaris. J Am Acad Derm 1984; 10: 1005-14.

10. Duquia RP, de Almeida Jr HL, Vettorato G, Rocha NM, de Castro LAS. Ecthyma-like phaeohyphomycosis caused by *Cladosporium cladosporioides*. *Mycoses* 2010; 53:541-3.
11. Hoog GS et al., *Atlas of Clinical Fungi* 1995; 474–5.
12. Almeida HL Jr, Monteiro LMA, Goetze FM, Silva RM, Rocha NM. Clinical variability in dystrophic epidermolysis bullosa and findings with scanning electron microscopy. *An Bras Dermatol* 2012; 87:127-30.
13. de Almeida Jr HL, Breunig JÁ, Wolter M, de Castro LAS, Rocha NM. Light and electron microscopy of eruptive collagenoma. *J Cutan Pathol* 2009; 36:35-8.
14. Bicca EBC, Almeida FB, Pinto GM, Castro LAS, de Almeida Jr HL. Síndrome de Ehlers-Danlos Clássica: Aspectos Clínicos, Histológicos e Ultraestruturais. *An Bras Dermatol* 2011; 86: S164-7.
15. Pugliese JM, Morey AF, Peterson AC. Lichen Sclerosus: Review of the literature and current recommendations for management. *J Urol* 2007; 48: 808.
16. Azevedo RS, Romañach MJ, de Almeida OP, et al. Lichen sclerosus of the oral mucosa: clinicopathological features of six cases. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2009; 38: 855–860.
17. Li YZ, Wu Y, Zhang QH, Wang Y, Zhen JH, Li SL. Hypoxia–ischaemia is involved in the pathogenesis of vulvar lichen sclerosus. *Clin Exp Dermatol* 2009; 34:531–536.
18. Ching CC, Kirtschig G, Baldo M, Lewis F, Shu-Hui Wang SH, Wojnarowska F. Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials on topical interventions for genital lichen sclerosus. *J Am Acad Dermatol* 2012; 67:305-12.

19. van der Avoort IAM, van der Laak JAWM, Otte-Höller I, et al. The prognostic value of blood and lymph vessel parameters in lichen sclerosus for vulvar squamous cell carcinoma development: an immunohistochemical and electron microscopy study. *Am J Obstet Gynecol* 2010; 203:167.1-8.
20. Murphy R. Lichen sclerosus. *Dermatol Clin* 2010; 28: 707–715.
21. Hallopeau H. Lecons Clinique sur les maladies cutanees et syphilitique. *L'Union Medicale* 1887;43:742-7 [in French].
22. Darier J. Lichen plan sclereux. *Ann Dermatol Syph* 1892;3:833-7 [in French].
23. Val I, Almeida G. An overview of lichen sclerosus. *Clin Obstet Gynecol* 2007; 178: 2268-2276.
24. Jensen T, Worsaae N, Melgaard B. Oral Lichen sclerosus et atrophicus: A case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 94:702-6.
25. Kaur S, Thami GP, Kanwar AJ, Mohan H. Linear oro-facial lichen sclerosus. *Clin Exp Dermatol* 2002; 27: 467–470.
26. Montgomery H, Hill WR. Lichen sclerosus et atrophicus. *Arch Dermatol Syph* 1940; 42: 755–779.
27. Neill SM, Tatnall FM, Cox NH. British Association of Dermatologists. Guidelines for the management of lichen sclerosus. *Br J Dermatol* 2002; 147: 640–649.
28. Powell JJ, Wojnarowska F. Lichen sclerosus. *Lancet* 1999; 353: 1777–1783.
29. Schulten EA, Starink TM, van der Waal I. Lichen sclerosus et atrophicus involving the oral mucosa: report of two cases. *J Oral Pathol Med* 1993; 22: 374–377.

30. Brown AR, Dunlap CL, Bussard DA, Lask JT. Lichen sclerosus et atrophicus of the oral cavity – report of two cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997; 84: 165–170.
31. Liebovitz A, Kapulun V, Saposhnicov N, Habet B. Vulvovaginal examinations in elderly nursing home women residents. *Arch Gerontol Geriatr* 2000; 31:1-4.
32. Tasker GL, Wojnarowska F. Lichen sclerosus. *Clin Exp Dermatol* 2003; 28:128-33.
33. Marren P, Yell J, Charnock FM, et al. The association between lichen sclerosus and antigens of the HLA system. *Br J Dermatol* 1995; 132:197-203.
34. Hewitt J. Histologic criteria for lichen sclerosus of the vulva. *J Reprod Med* 1986; 31:781-7.
35. Mendonça EF, Ribeiro-Rotta RF, Silva MA, Batista AC. Lichen sclerosus et atrophicus of the oral mucosa. *J Oral Pathol Med* 2004; 33: 637–640.
36. Miller RF. Lichen sclerosus et atrophicus with oral involvement: histopathologic study and dermabrasive treatment. *Arch Dermatol* 1957; 76: 43–55.
37. Rajlawat BP, Triantafyllou A, Field EA, Parslew R. Lichen sclerosus of the lip and buccal mucosa. *Clin Exp Dermatol* 2004; 29: 684–685.
38. Regauer S, Liegl B, Reich O. Early vulvar lichen sclerosus: a histopathological challenge. *Histopathology* 2005; 47: 340-7.
39. Mihara Y, Mihara M, Hagari Y, Shimao S. Lichen sclerosus et atrophicus. A histological, immunohistochemical and electron microscopic study. *Arch Dermatol Res* 1994; 286: 434-442.

40. Romppanen U, Rantala I, Lauslahti K, Reunala T. Light and Electron Microscopic Findings in Lichen sclerosus of the Vulva during Etretinate Treatment. *Dermatologica* 1987; 175: 33-40.
41. Mann PR, Cowan MA. Ultrastructural changes in four cases of lichen sclerosus et atrophicus. *Br J Dermatol* 1973; 89: 223-231.
42. Dupré A, Viraben R. Lame basale en guirlande dans un cas de lichen scléro-atrophique. Étude ultrastructurale. *Ann Dermatol Venereol* 1988; 115: 19-26.
43. Kreuter A. Localized Scleroderma. *Dermatol Ther* 2012; 25: 135–147.
44. Nishioka S. Histological Comparison of Morphea and Lichen Sclerosus et Atrophicus. *Kur Med J* 1997; 44: 83-90.
45. Monsálvez V, Rivera R, Vanaclocha, F. Lichen Sclerosus. *Actas Dermosifiliogr* 2010; 101: 31-38.
46. Fox TC. Ringed eruption of the fingers. *Br J Dermatol* 1895; 7:91–95.
47. Sandwich JT, Davis LS. Granuloma Annulare of the Eyelid: A Case Report and Review of the Literature. *Ped Dermatol* 1999; 5: 373–376.
48. Martín-Sáez E, Fernández-Guarino M, Carrillo-Gijón R, Muñoz-Zato E, Jaén-Olasolo P. Eficacia de la dapsona en el granuloma anular diseminado: presentación de un caso y revisión de la literatura. *Actas Dermosifiliogr* 2008; 99: 64-8.
49. Sabuncuoglu H, Öge K, Soyimezoglu F, Saglam A. Subcutaneous Granuloma Annulare of the Scalp in Childhood: A Case Report and Review of the Literature. *Turkish Neurosurgery* 2007; 17:19-22.
50. Kowalzik L. Granuloma anulare. *Hautarzt* 2005; 56:1071–1083.

51. Li A, Hogan DJ, Sanusi ID, Smoller BR. Granuloma Annulare and Malignant Neoplasms. *Am J Dermatopathol* 2003; 25: 113–116.
52. Stewart LR, George S, Hamacher KL, Hsu S. Granuloma annulare of the palms. *Dermatol Online J* 2011; 17:7.
53. Hsu S, Le EH, Khoshevis MR. Differential Diagnosis of Annular Lesions. *Am Fam Physician* 2001; 64:289-96.
54. Nopper A, Markus R, Esterly N. When it's not ringworm: annular lesions of childhood. *Pediatr Ann* 1998; 27:136-48.
55. Smith MD, Downie JB, DiCostanzo D. Granuloma annulare. *Int J Dermatol* 1997;36:326-33.
56. Chung S, Frush DP, Prose NS, Shea CR, Laor T, Bisset GS. Subcutaneous Granuloma Annulare: MR Imaging Features in Six Children and Literature Review. *Radiology* 1999; 210:845–849.
57. Davids JR, Holman BH, Billman GF, Krous JF. Subcutaneous granuloma annulare: recognition and treatment. *J Pediatr Orthop* 1993; 13:582–586.
58. Muhlbauer JE. Granuloma annulare. *J Am Acad Dermatol* 1980; 3:217–230.
59. Felner EI, Steinberg JB, Weinberg AG. Subcutaneous granuloma annulare: a review of 47 cases. *Pediatrics* 1997; 100:965–967.
60. Cyr PR. Diagnosis and Management of Granuloma Annulare. *Am Fam Physician* 2006; 74:1729-34.
61. Gamo VR, Sopena BJ, Guerra TA, Vergara SA, Rodriguez Peralto JL, Iglesias DL. Pustular generalized perforating granuloma annulare. *Br J Dermatol* 2003;149:866-8.
62. Fang KS, Lawry M, Haas A. Papules on the hands. Granuloma annulare. *Arch Dermatol* 2001;137:1647-52.

63. Lever WF, Schaumberg-Lever G. Histopathology of the skin, 7th ed. Philadelphia: JB Lippincott, 1990:257–260.
64. Hanna WM, Moreno-Merlo F, Andrighetti L. Granuloma Annulare: An Elastic Tissue Disease? Case Report and Literature Review. *Ultrastruct Pathol* 1999; 23: 33-38.
65. Wolff HH, Maciejewski W. The Ultrastructure of Granuloma Annulare. *Arch Derm Res* 1977; 259: 225-234.
66. Friedman-Birnbaum R, Ludatscher RM. Comparative Ultrastructural Study of Generalized and Localized Granuloma Annulare. *Am J Dermatopathol* 1986; 8: 302-308.

9. RESULTADOS

9.1. Relato do caso 1 de Líquen Escleroso

Uma paciente feminina de 63 anos apresentou, há três anos, placas endurecidas em membros superiores com posterior acometimento de tronco e membros inferiores. Nega sintomas sistêmicos e tem história progressiva de hipertensão arterial sistêmica.

9.1.1. Aspectos clínicos



Figura 1 - Lesões lenticulares, esbranquiçadas, queratóticas e brilhantes localizadas no tornozelo direito.

9.1.2. Microscopia Óptica

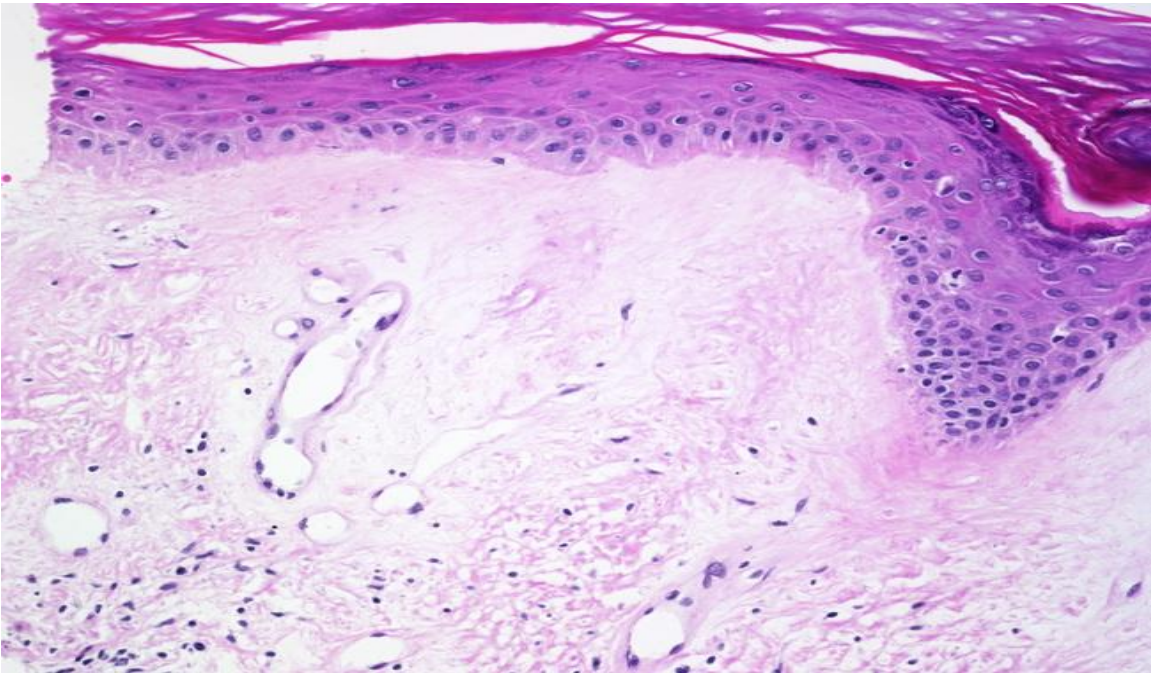


Figura 2- A microscopia óptica mostrou degeneração e hialinização das fibras colágenas na derme alta, características da patologia (<http://www.webpathology.com/image.asp?n=2&Case=538>).

9.1.3. Microscopia Eletrônica de Varredura

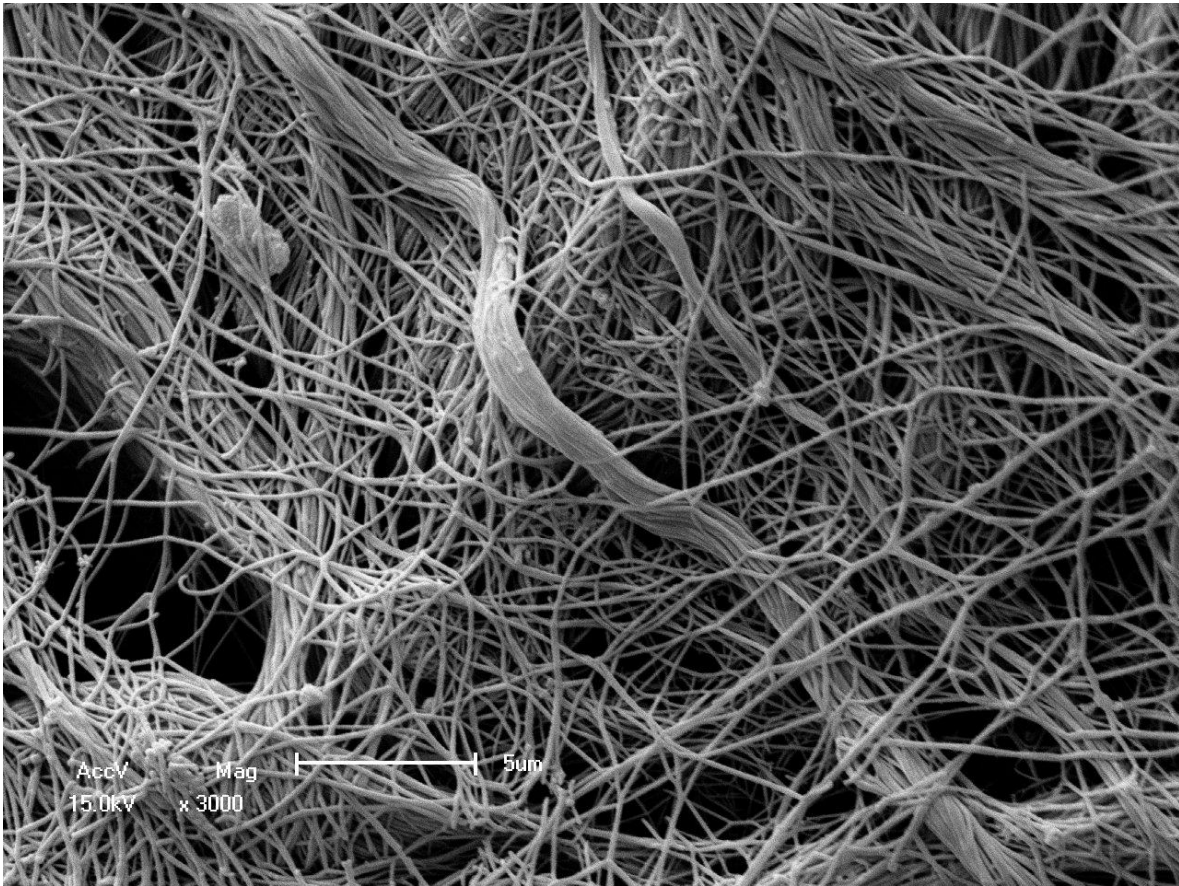


Figura 3 - Fibras colágenas com aspecto morfológico preservado (MEV – 3.000x).

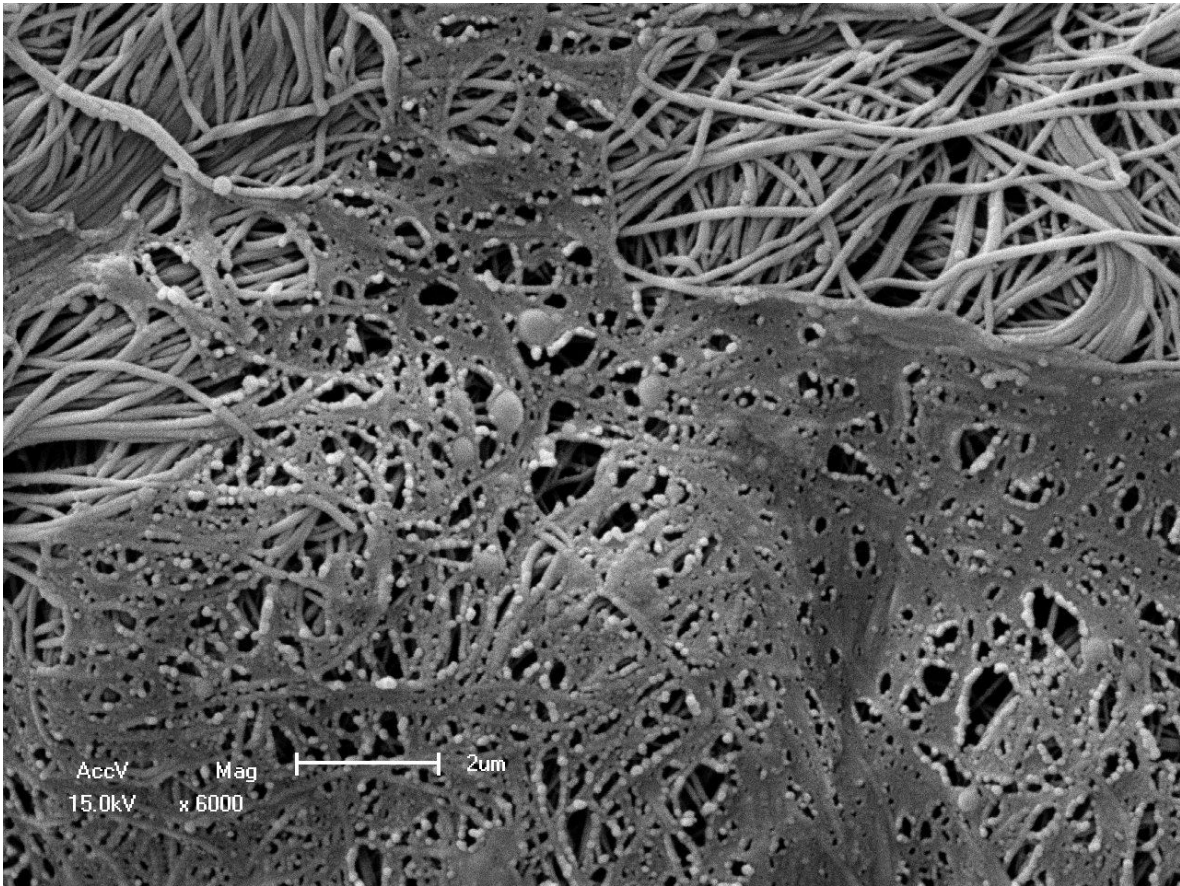


Figura 4 - Zona de transição entre fibras colágenas preservadas e área com extensa degeneração/hialinização do colágeno e presença de linfócitos (MEV – 6.000x).

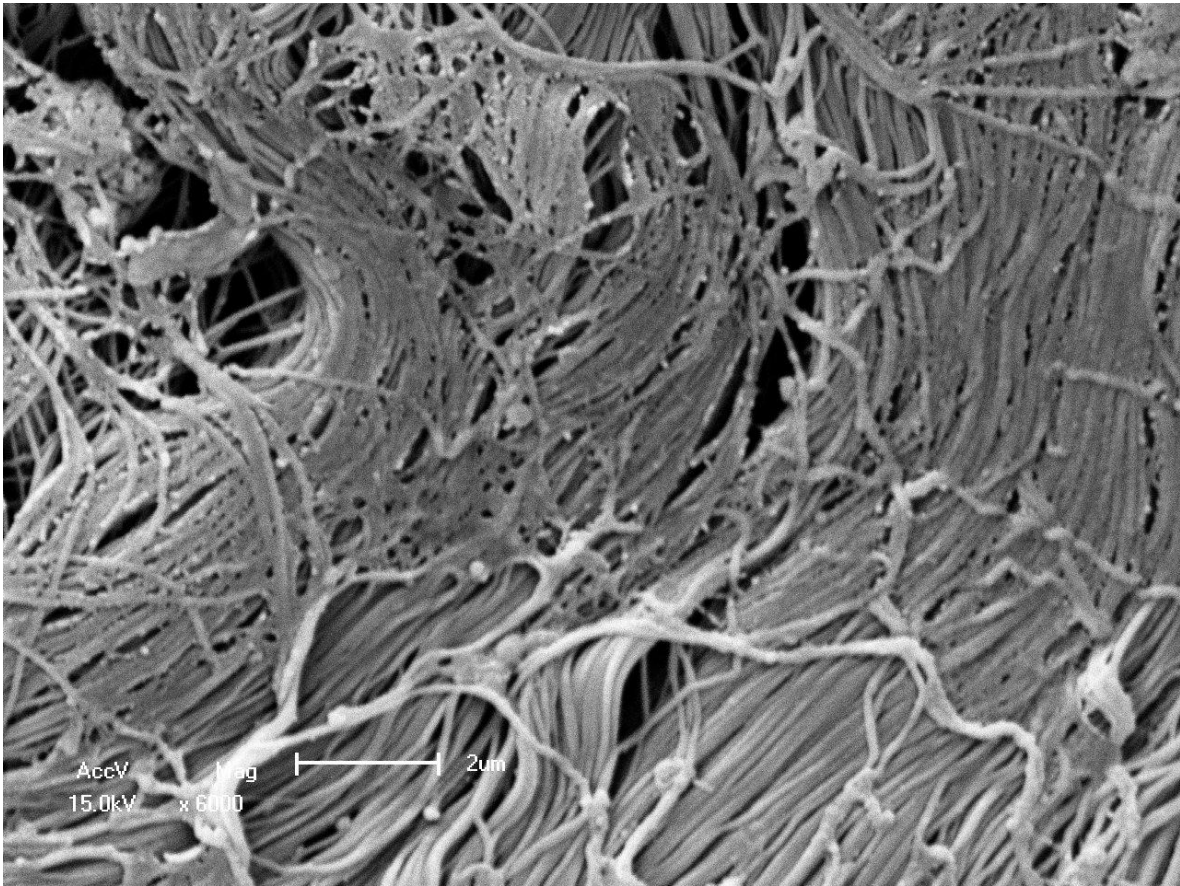


Figura 5 - Área exibindo fibras colágenas preservadas e focos de degeneração predominantemente em quadrante superior esquerdo (MEV – 6.000x).

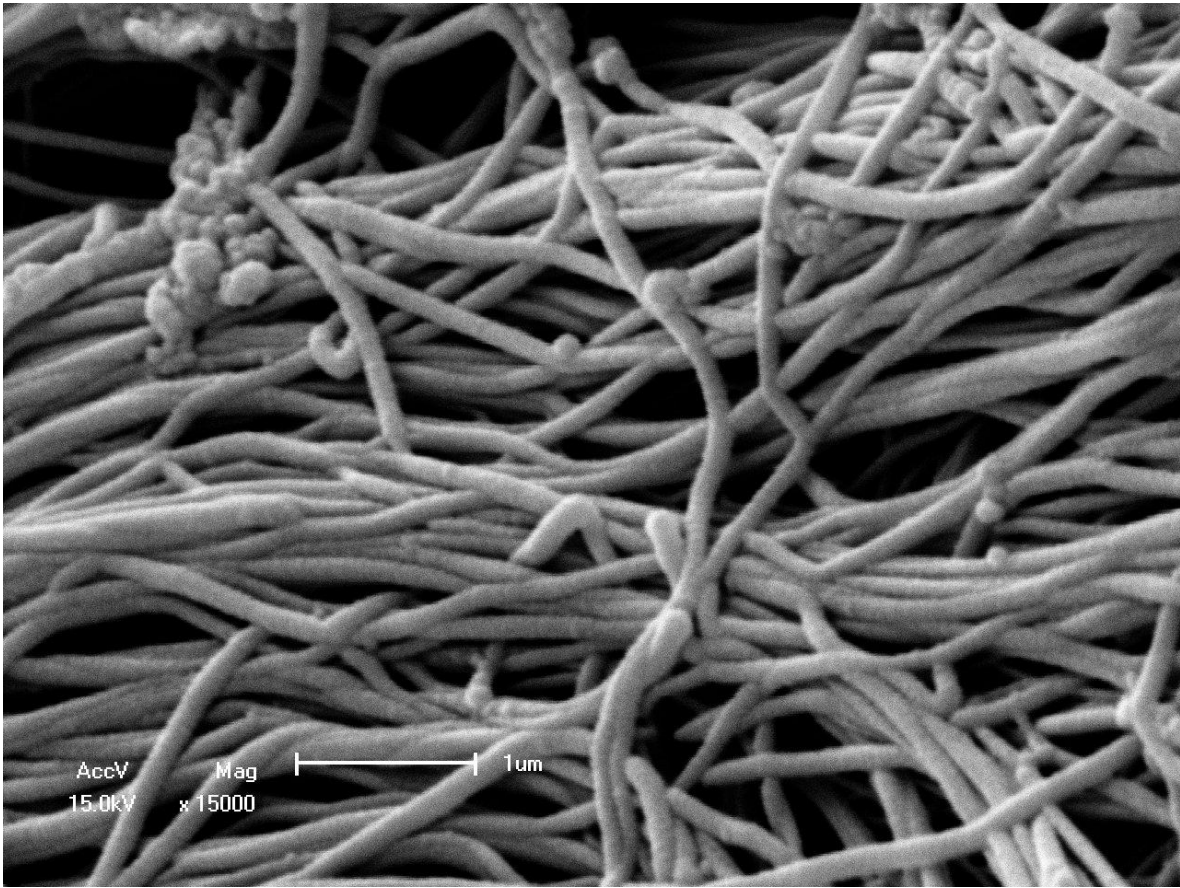


Figura 6 - Fibras colágenas com aspecto morfológico preservado na parte inferior do espécime (MEV – 15.000x).

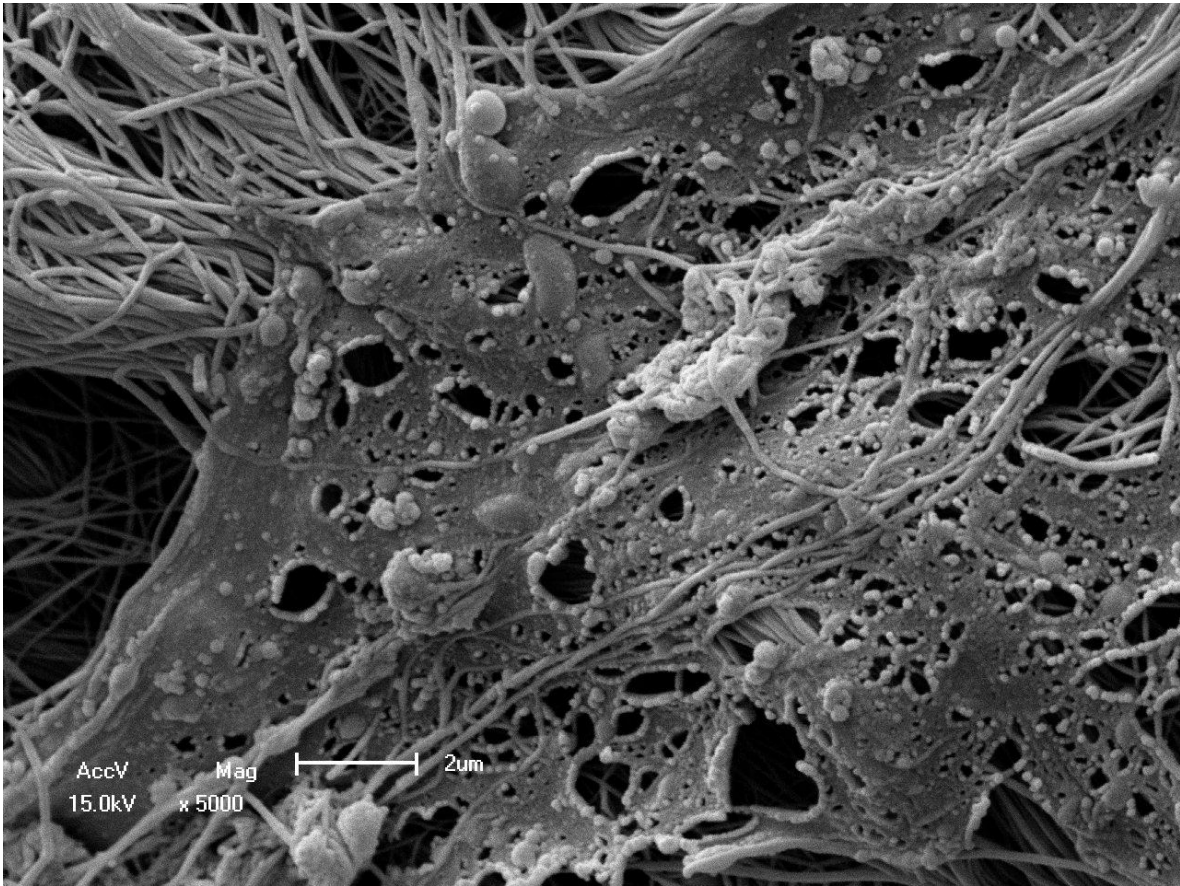


Figura 7 - Extensa área mostrando colágeno degenerado, com linfócitos, algumas fibras isoladas e zona preservada no canto superior esquerdo (MEV – 5.000x).

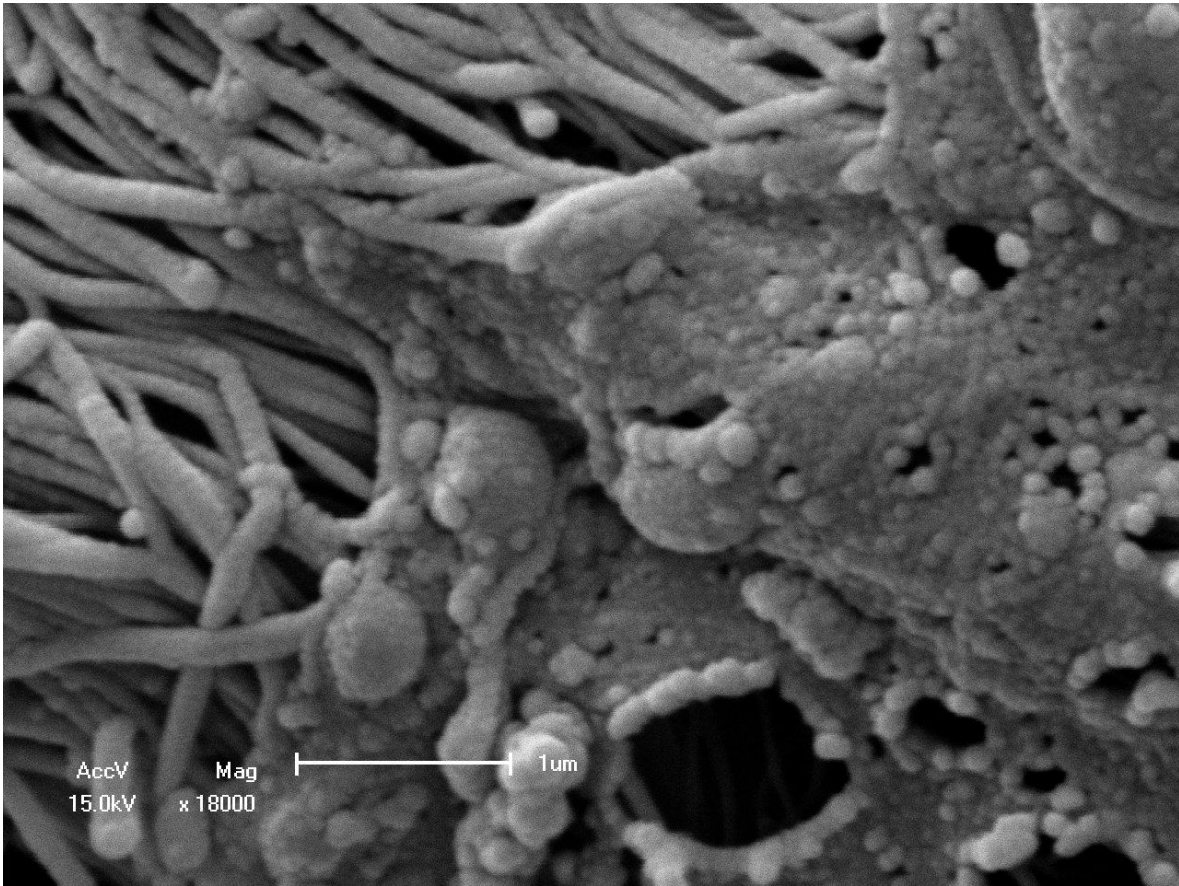


Figura 8 - Detalhe da imagem anterior mostrando transição de fibras preservadas (à esquerda) e degeneradas/hialinizadas, com linfócitos e padrão em colar de pérolas (MEV – 18.000x).

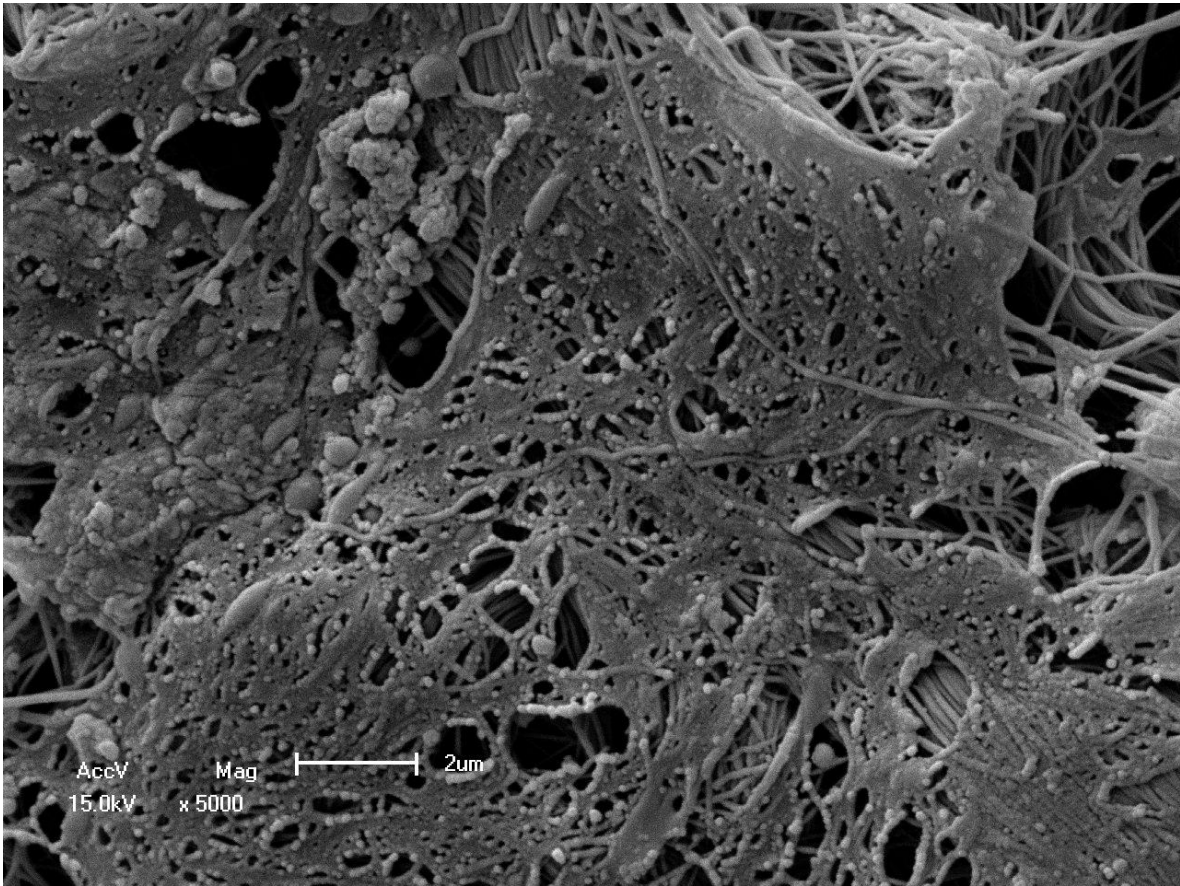


Figura 9 - Extensa área demonstrando hialinização de fibras colágenas (MEV – 5.000x).

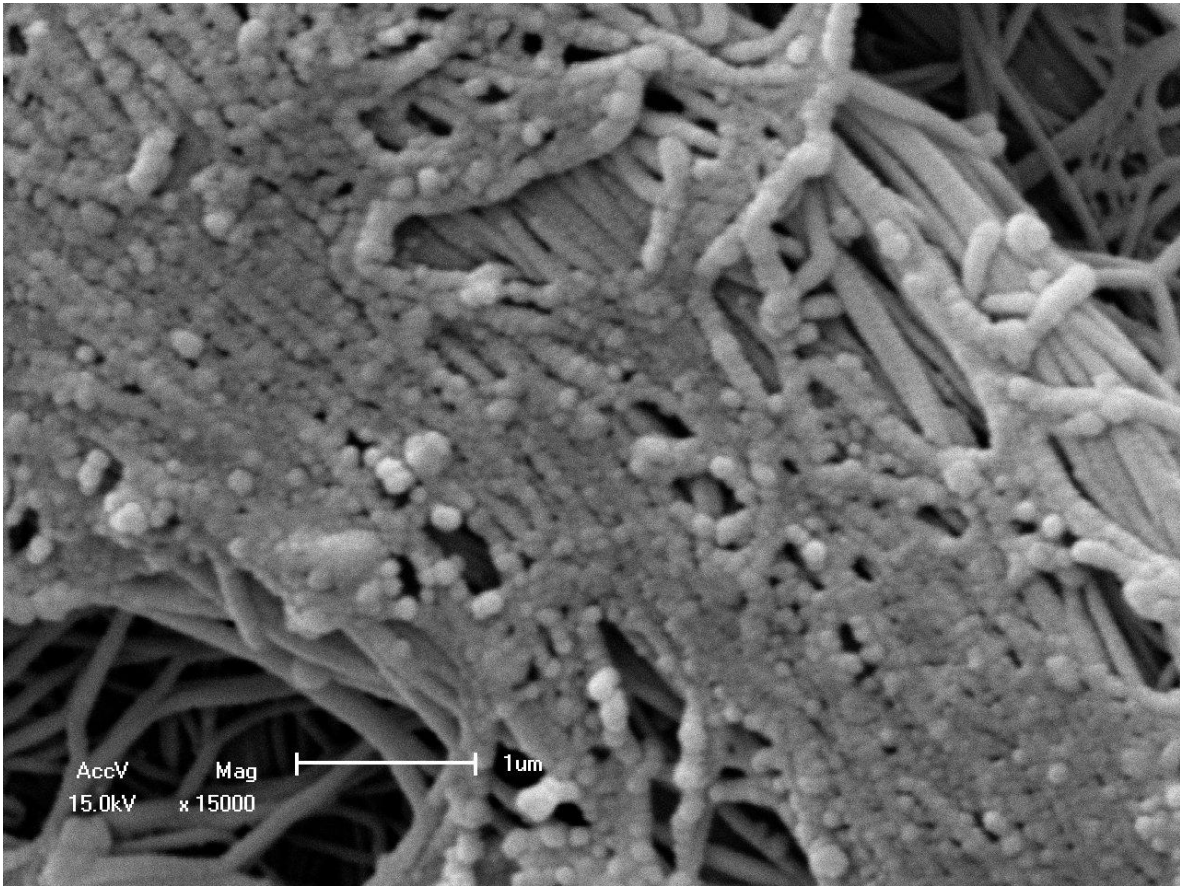


Figura 10 - Detalhe de área mostrando fibras colágenas hialinizadas, com aspecto em colar de pérolas (MEV – 15.000x).

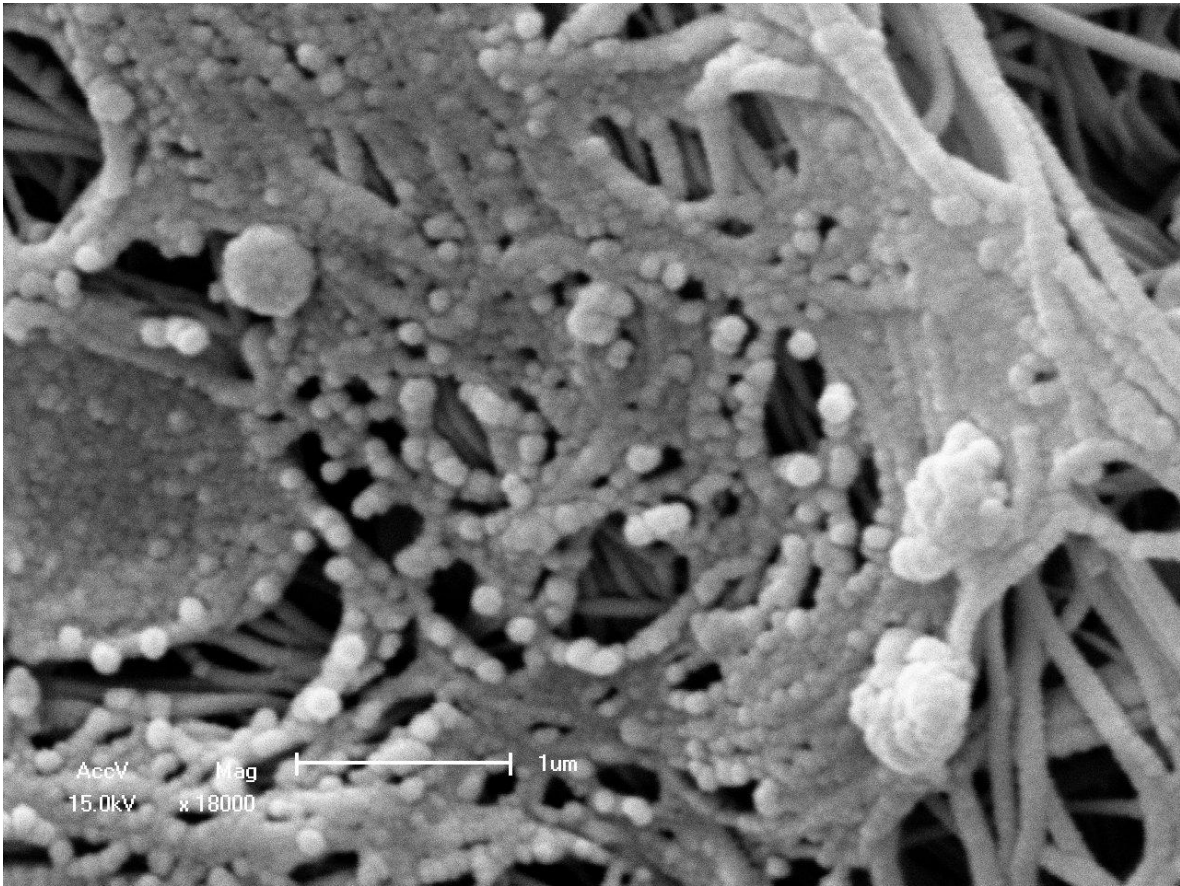


Figura 11 - Detalhe de área exibindo fibras colágenas hialinizadas, com padrão em colar de pérolas (MEV – 18.000x).

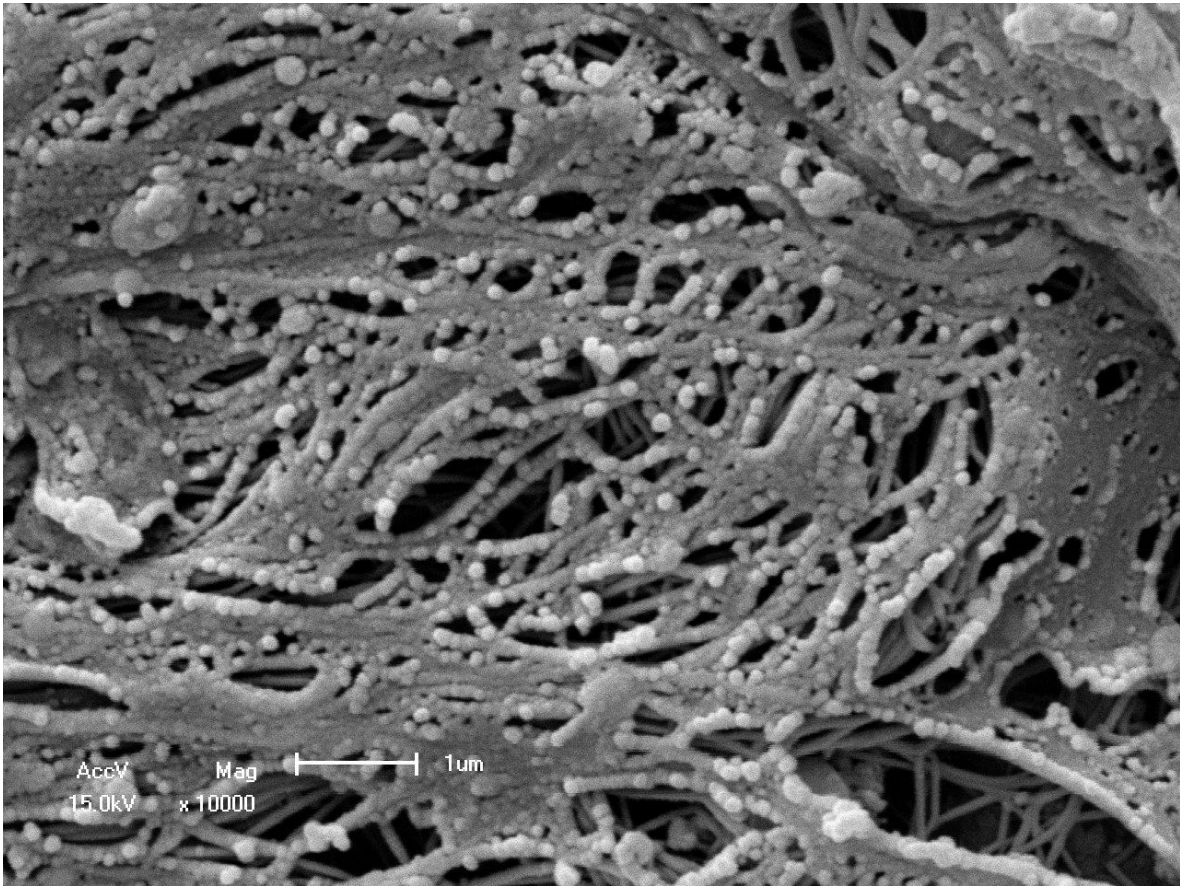


Figura 12 - Extensa área demonstrando fibras colágenas degeneradas/hialinizadas, mantendo o padrão em colar de pérolas (MEV – 10.000x).

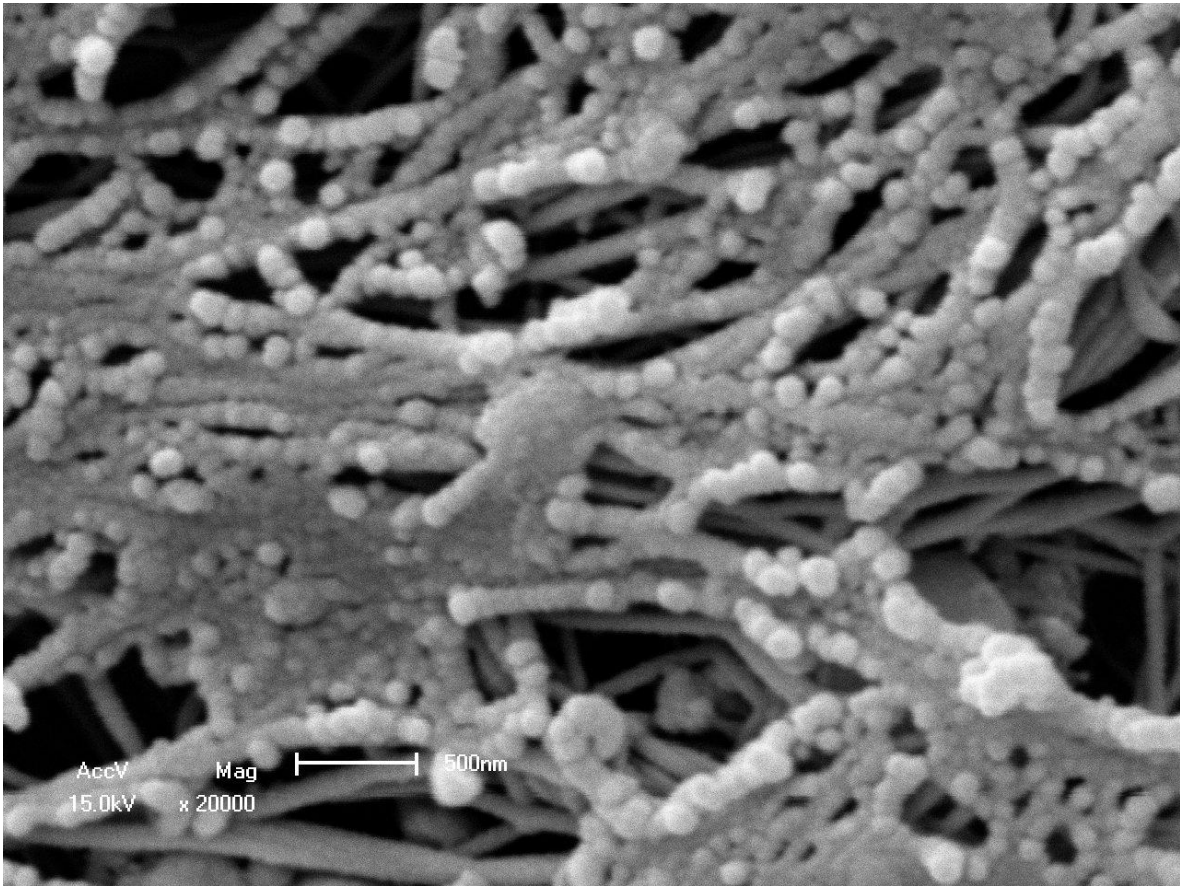


Figura 13 - Detalhe de região exibindo fibras colágenas degeneradas/hialinizadas, com padrão em colar de pérolas (MEV – 20.000x).

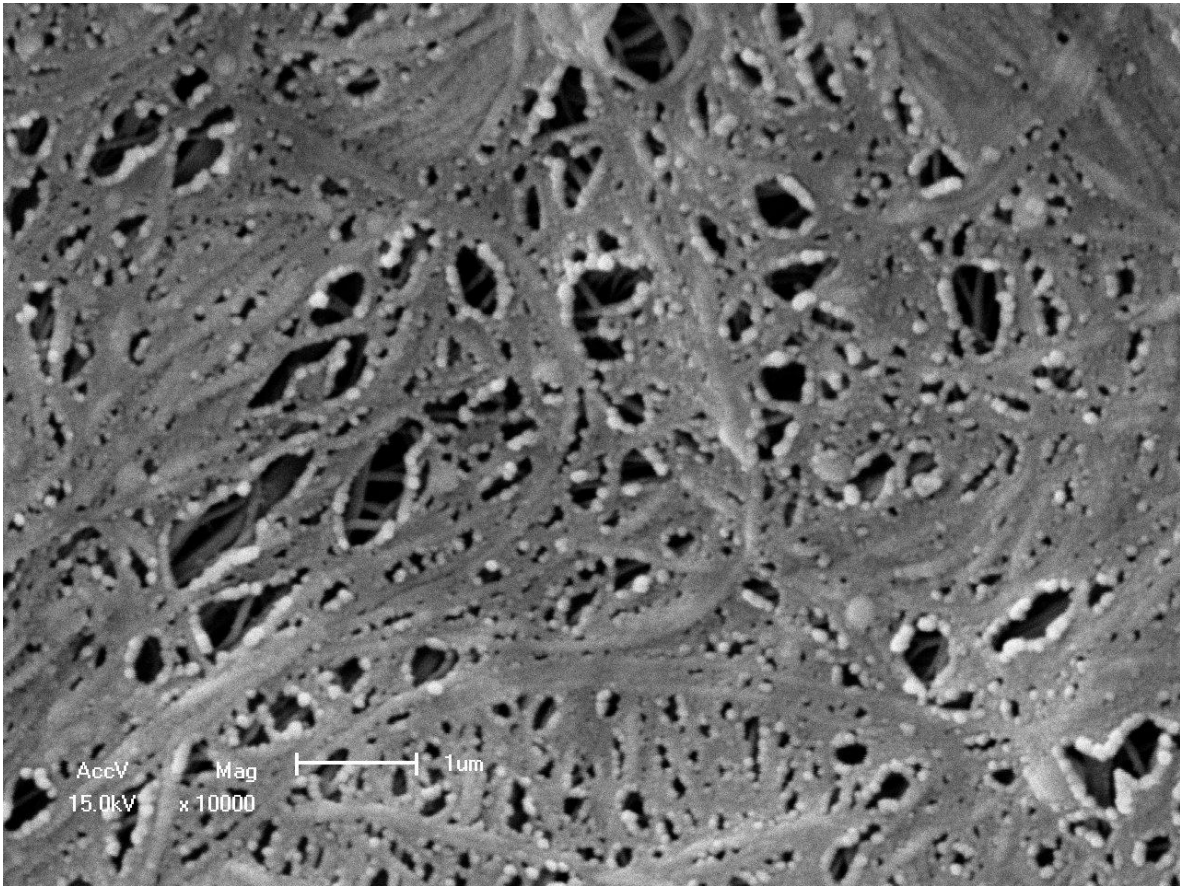


Figura 14 – Extensa área demonstrando fibras colágenas compactadas (MEV – 10.000x).

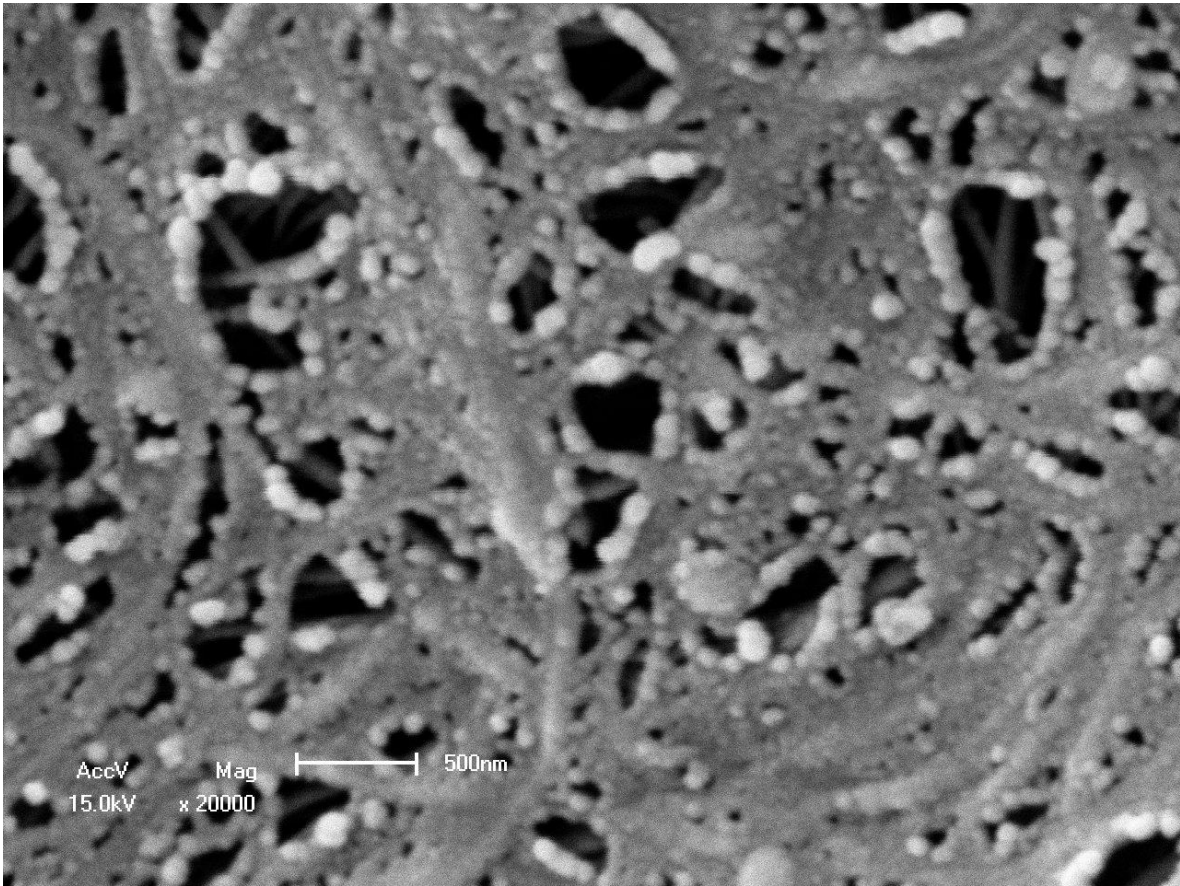


Figura 15 - Detalhe de área mostrando compactação das fibras colágenas ainda com o aspecto em colar de pérolas (MEV – 20.000x).

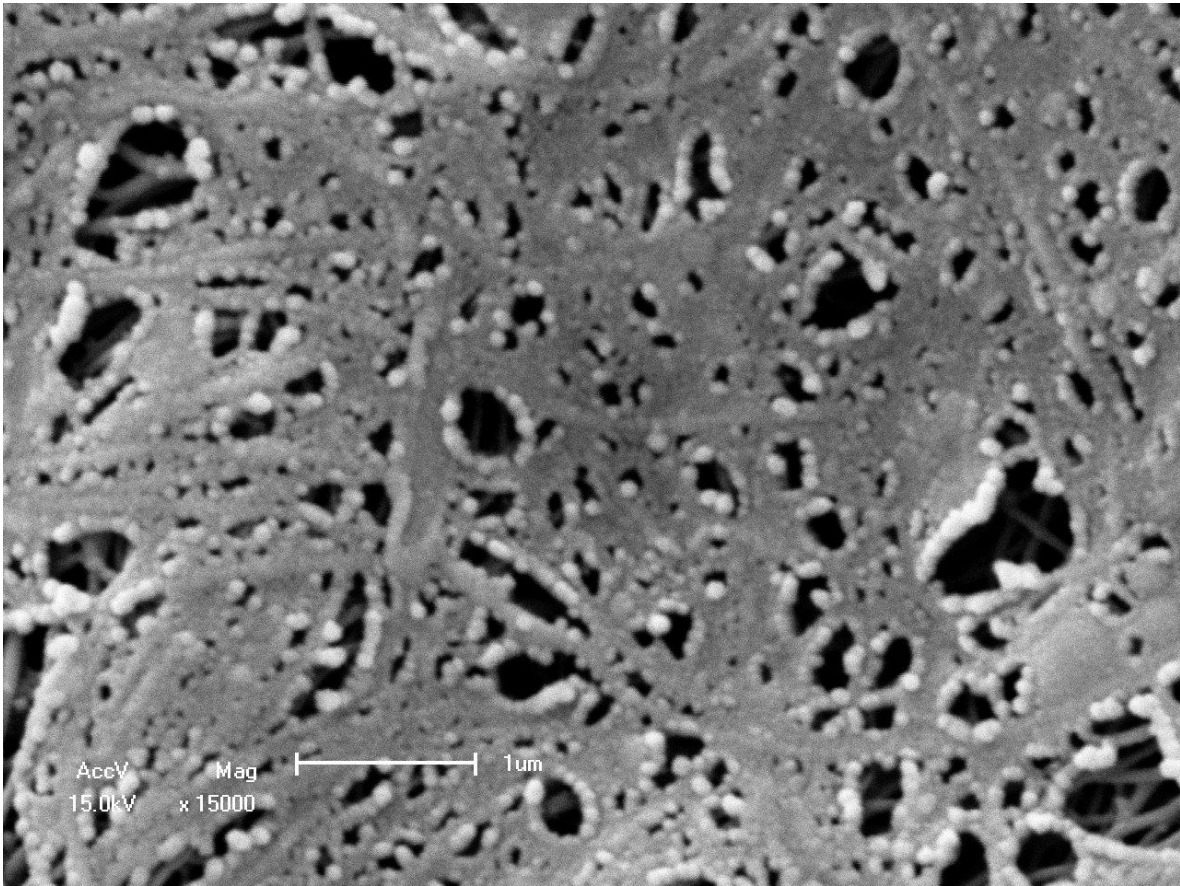


Figura 16 - Maior aumento de área mostrando fibras colágenas compactadas (MEV – 15.000x).

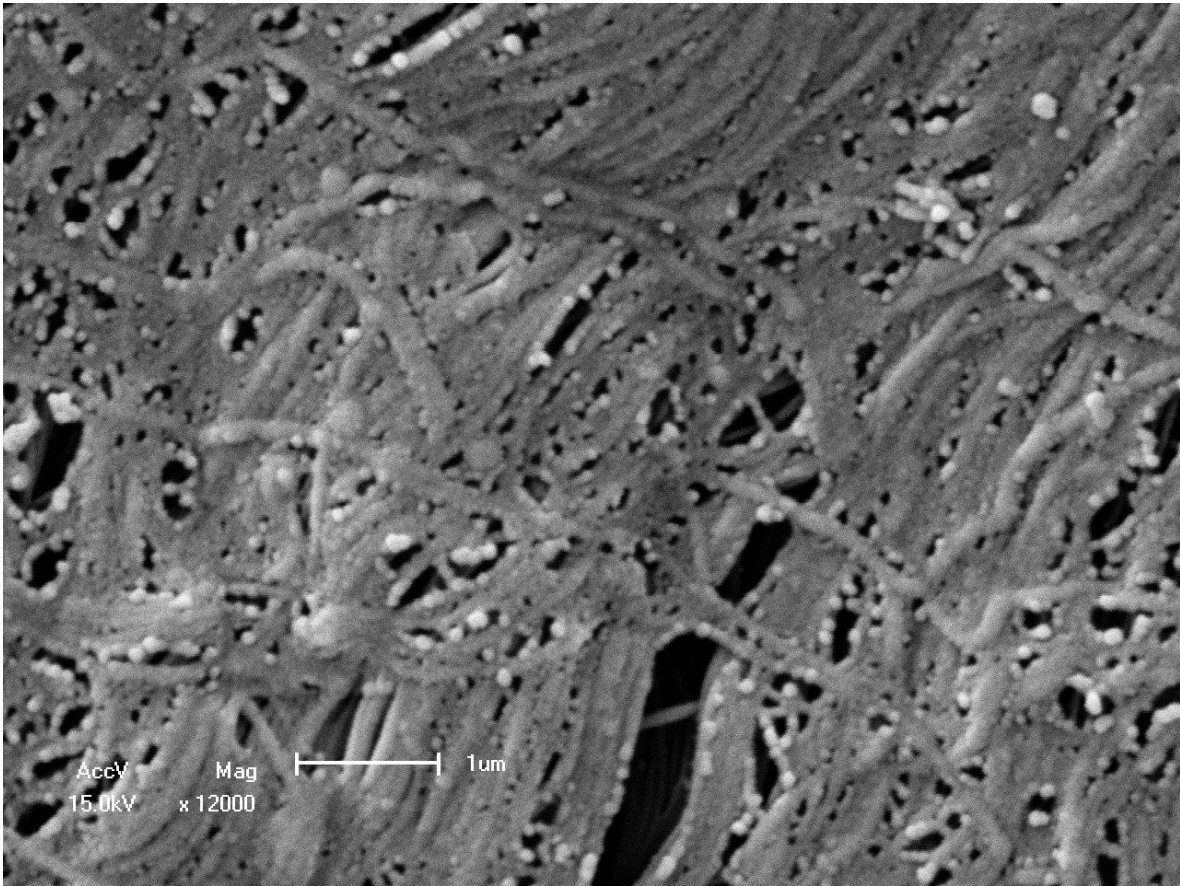


Figura 17 - Região mostrando ampla compactação de fibras colágenas, que se mostram aderidas (MEV- 12.000x).

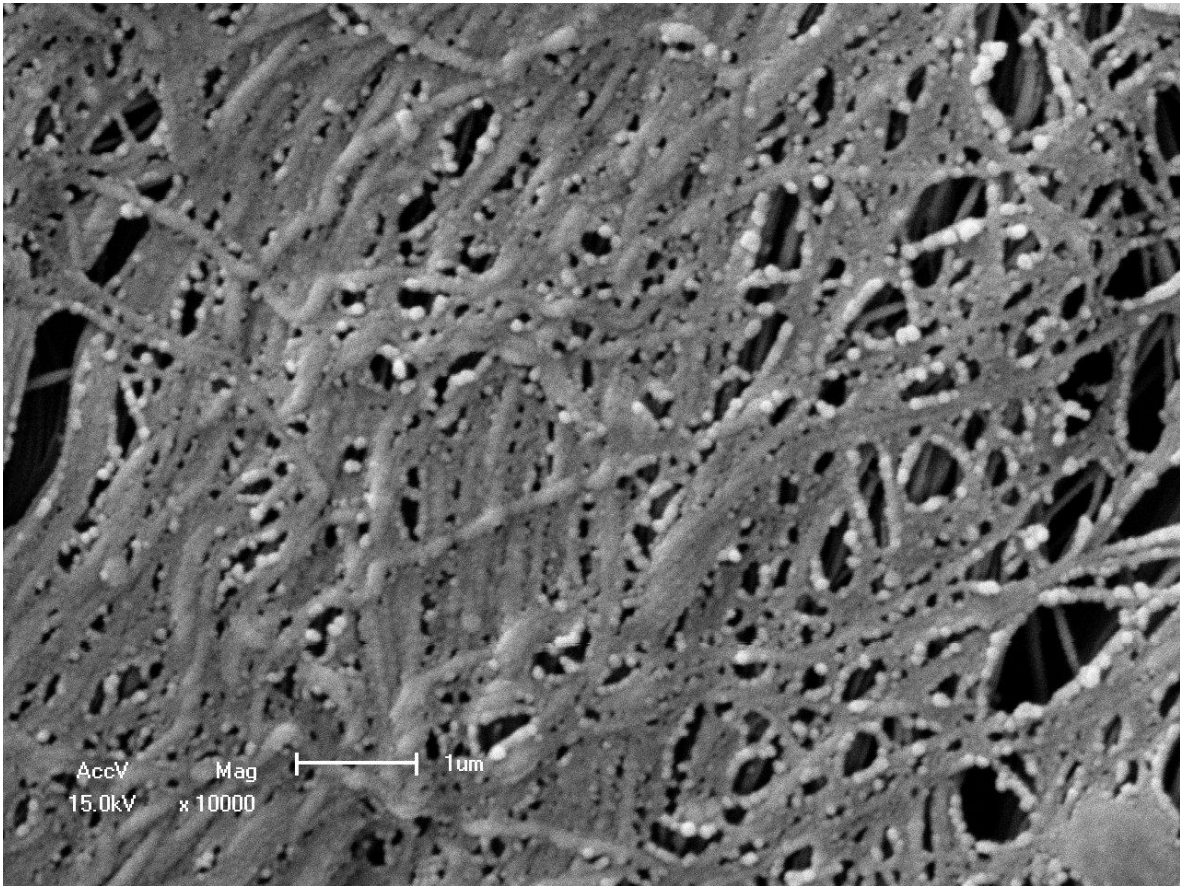


Figura 18 - Zona exibindo extensa degeneração de fibras colágenas (MEV – 10.000x).

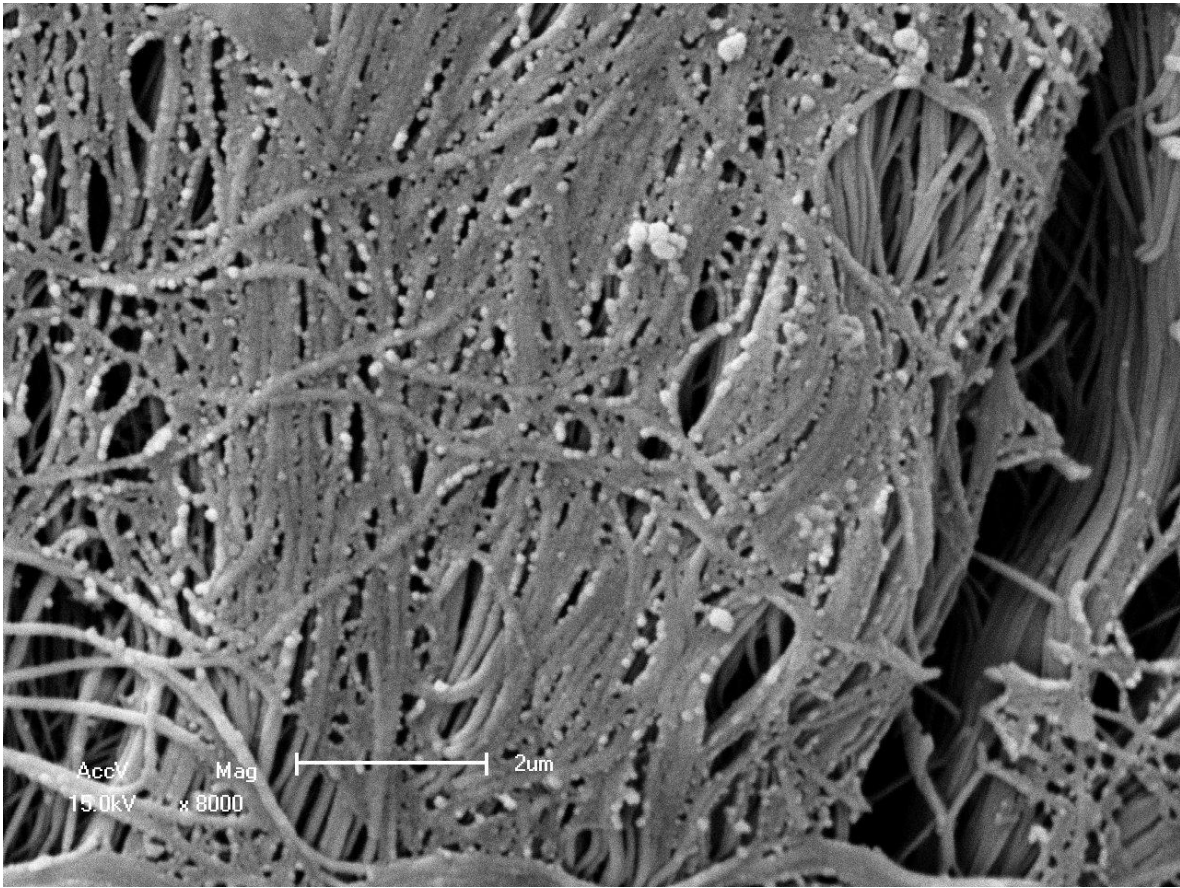


Figura 19 - Região com degeneração do colágeno, exibindo algumas fibras isoladas (MEV – 8.000x).

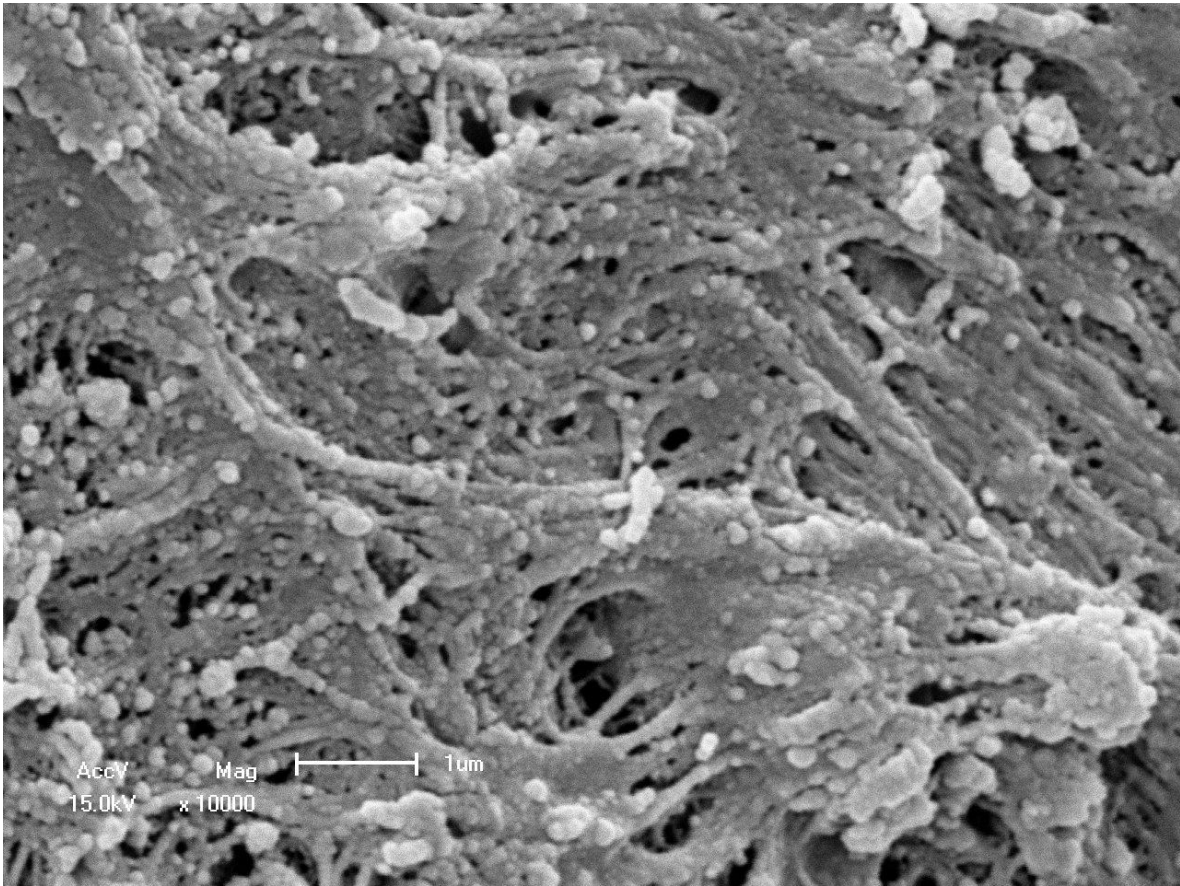


Figura 20 - Detalhe de área mais próxima da epiderme com extensa degeneração e compactação do colágeno (MEV- 10.000x).

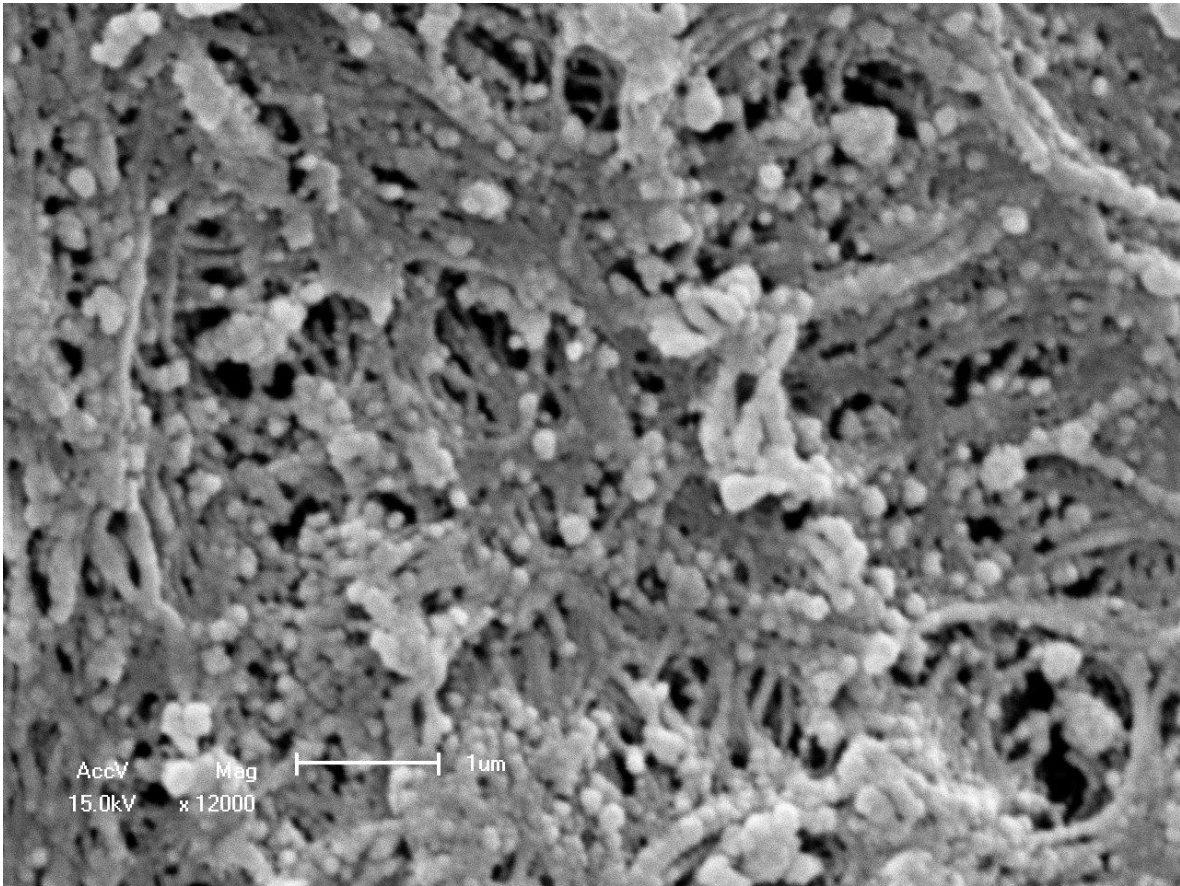


Figura 21 - Maior aumento da imagem anterior, com importante degeneração do colágeno (MEV – 12.000x).

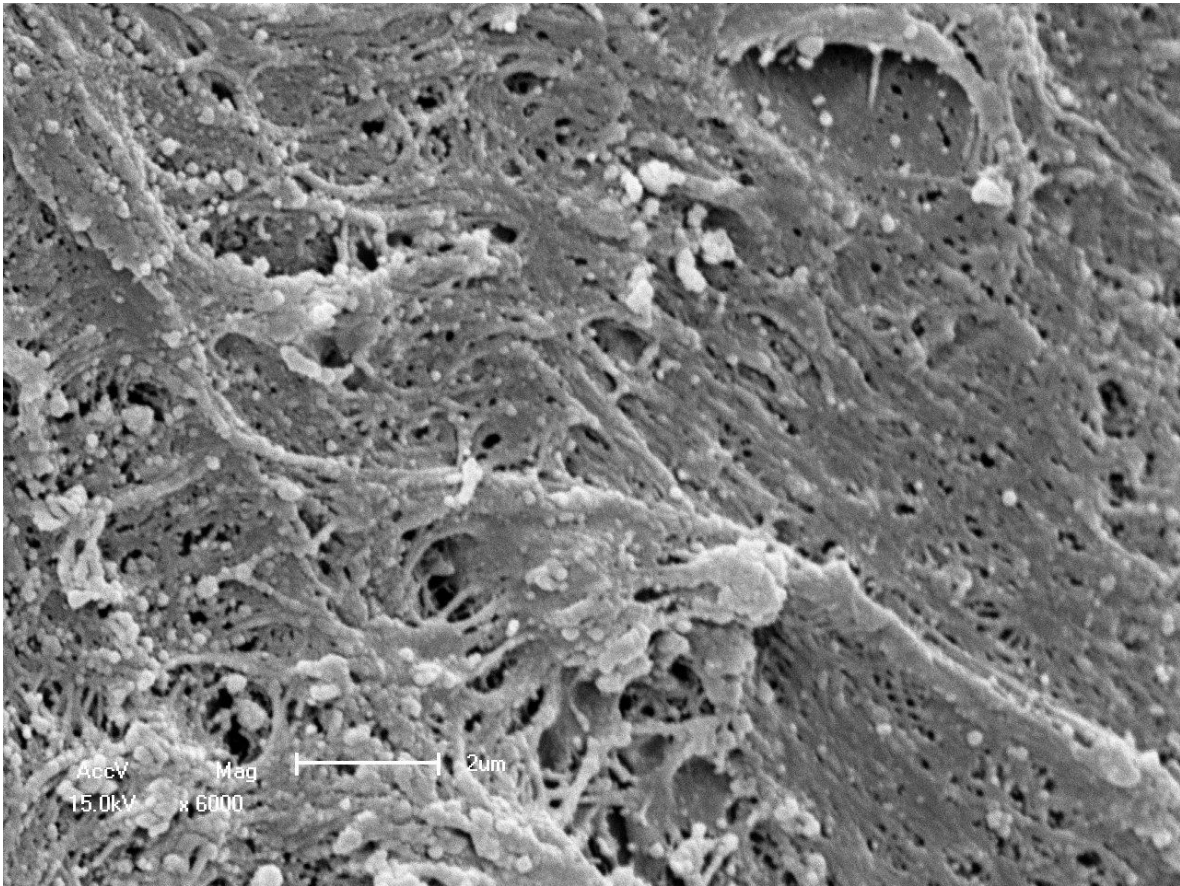


Figura 22 - Visão geral de extensa área com degeneração maciça do colágeno (MEV- 6.000x).

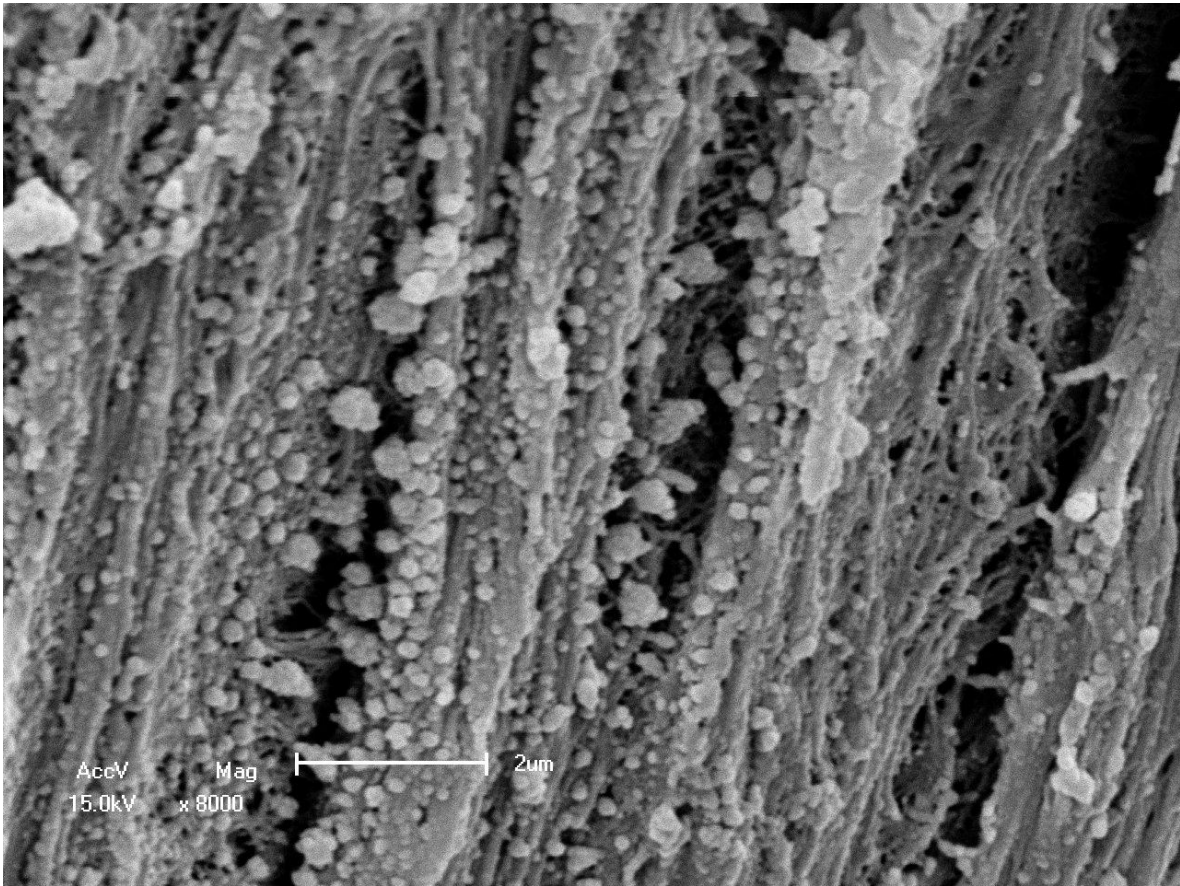


Figura 23 - Região mostrando importante compactação da derme superficial (MEV – 8.000x).

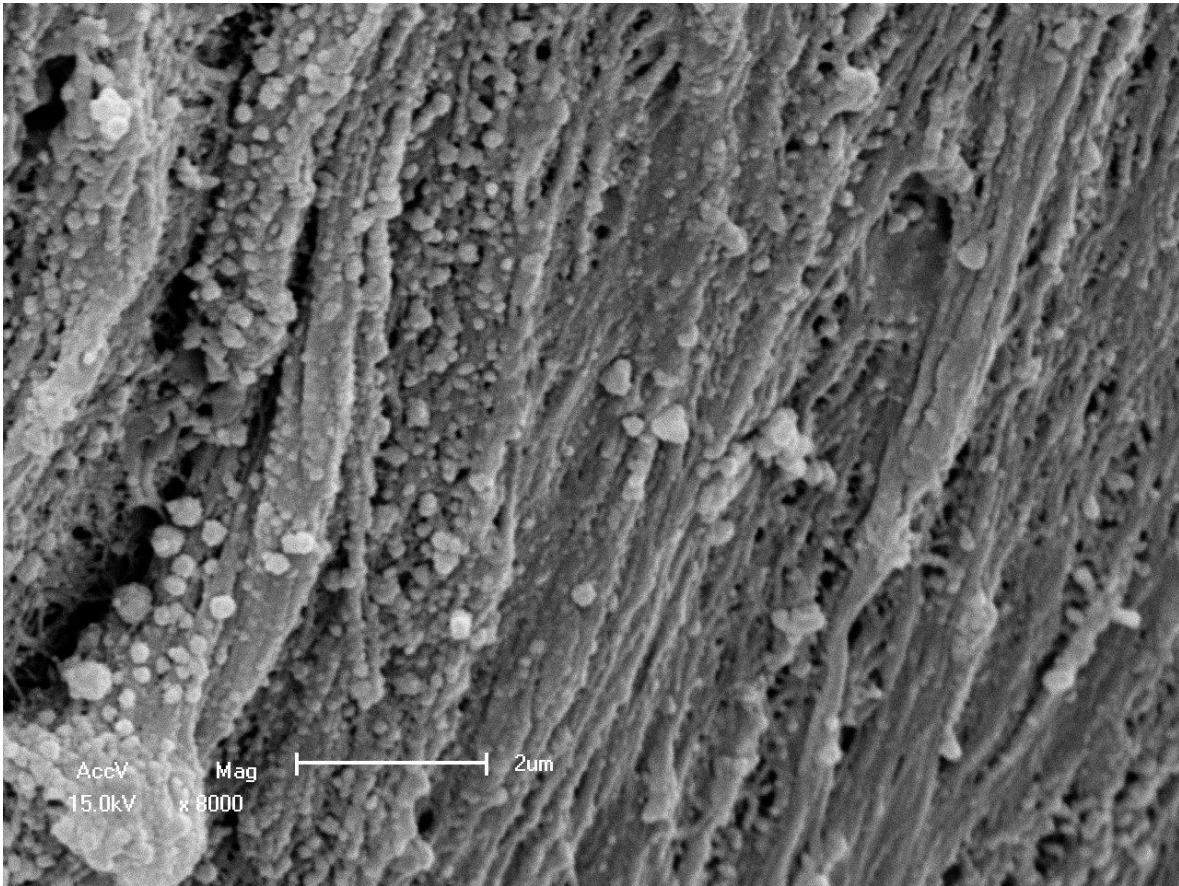


Figura 24 - Outra região mostrando extensa compactação da derme superficial com perda da individualidade das fibras colágenas (MEV – 8.000x).

9.2. Relato do caso 2 de Líquen Escleroso

Uma paciente feminina de 58 anos notou aparecimento de placa assintomática no flanco esquerdo há 2 meses.

Ao exame, apresentava uma placa brilhante, com 8 cm de diâmetro e presença de “plugs” córneos no seu interior.

9.2.1. Aspectos Clínicos

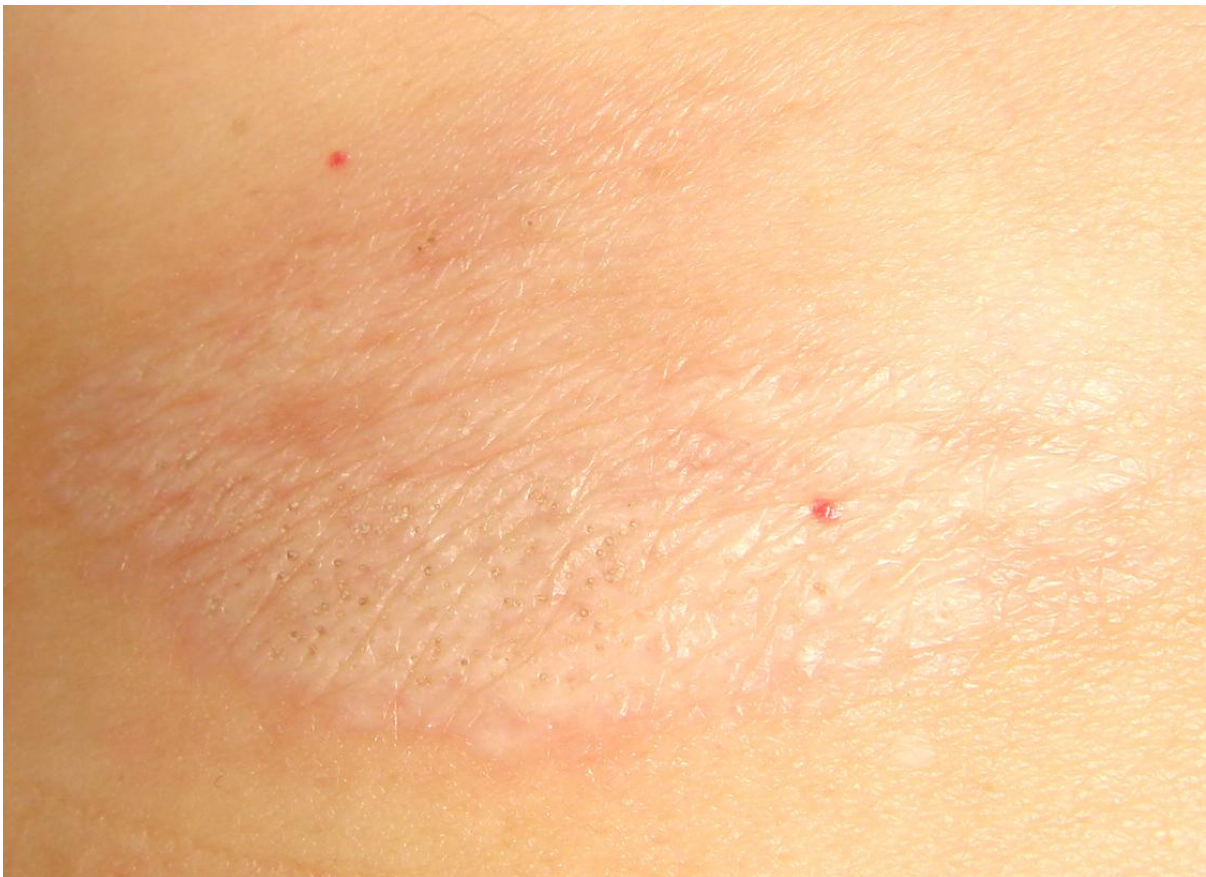


Figura 25 - Placa cutânea cinzento-esbranquiçada e brilhante com presença de pseudo-comedões (“plugs” córneos) e margens eritematosas.

9.2.2. Microscopia óptica

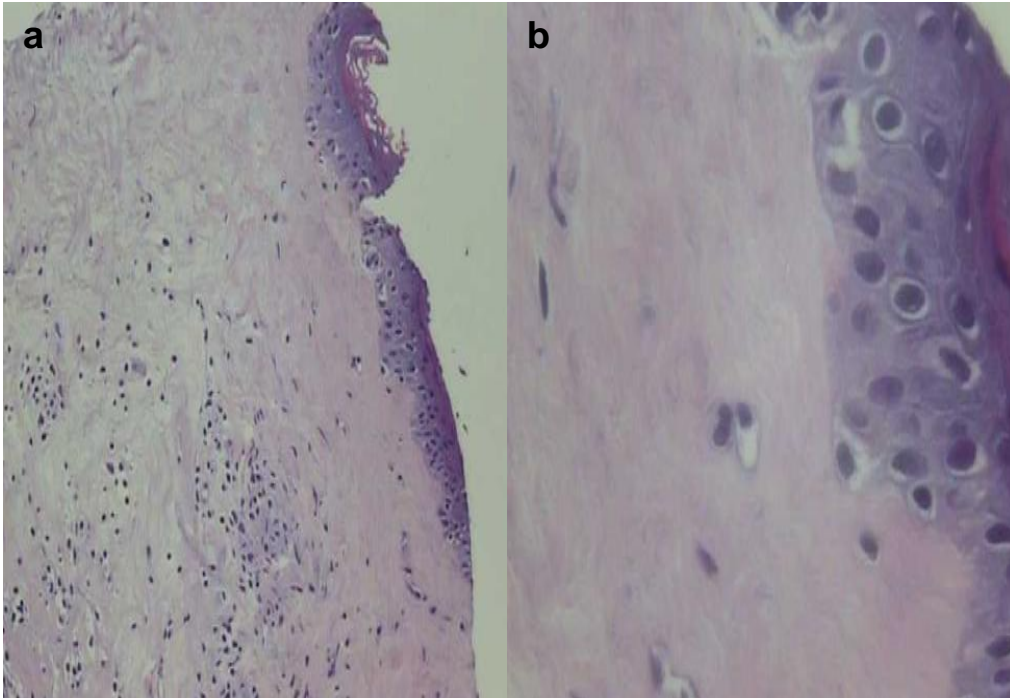


Figura 26 - a - Discreta hiperqueratose do epitélio, degeneração hidrópica das células basais, esclerose do colágeno subepitelial e presença de infiltrado linfocítico dérmico (HE – 100x). b - Detalhe da homogeneização do colágeno na derme papilar e reticular alta (HE – 400x).

9.2.3. Microscopia eletrônica de varredura

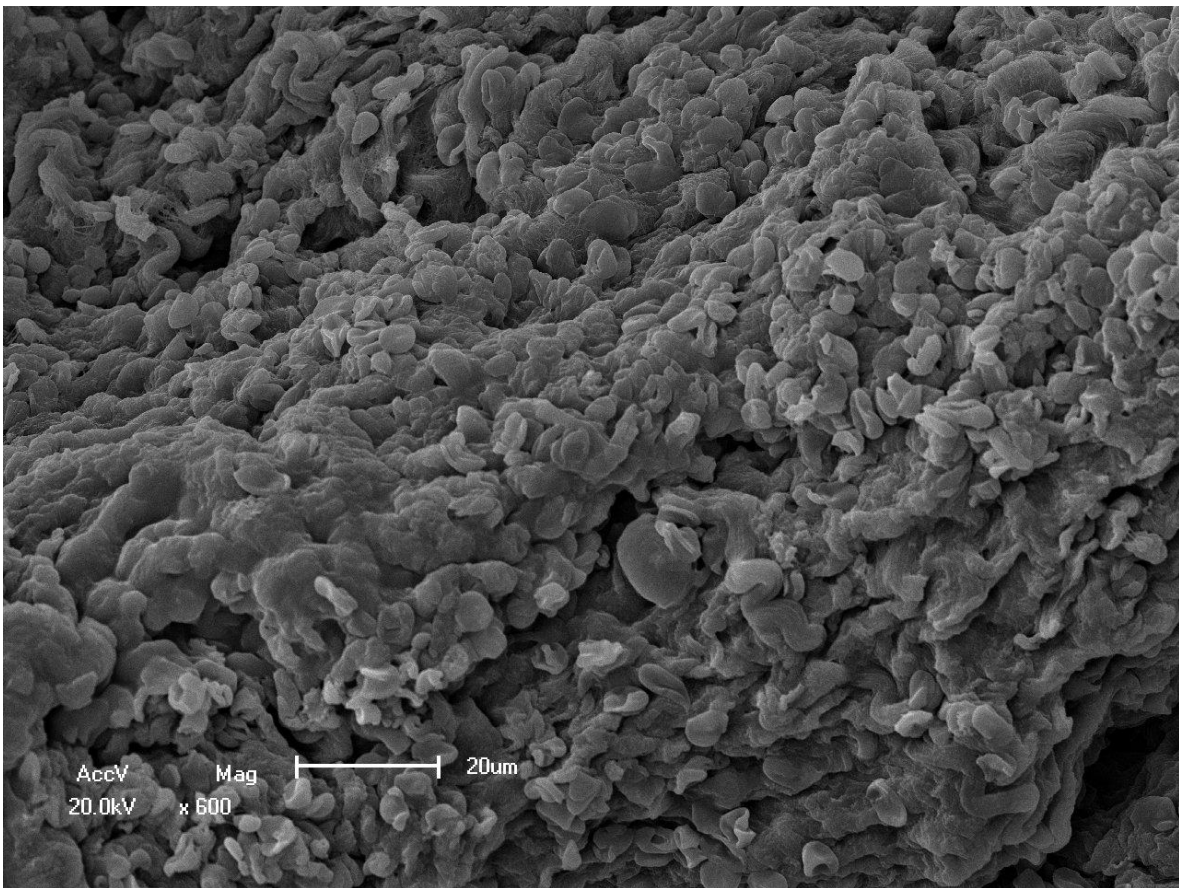


Figura 27 - Visão geral da derme, com feixes de colágeno com perda da sua arquitetura (MEV – 600x).

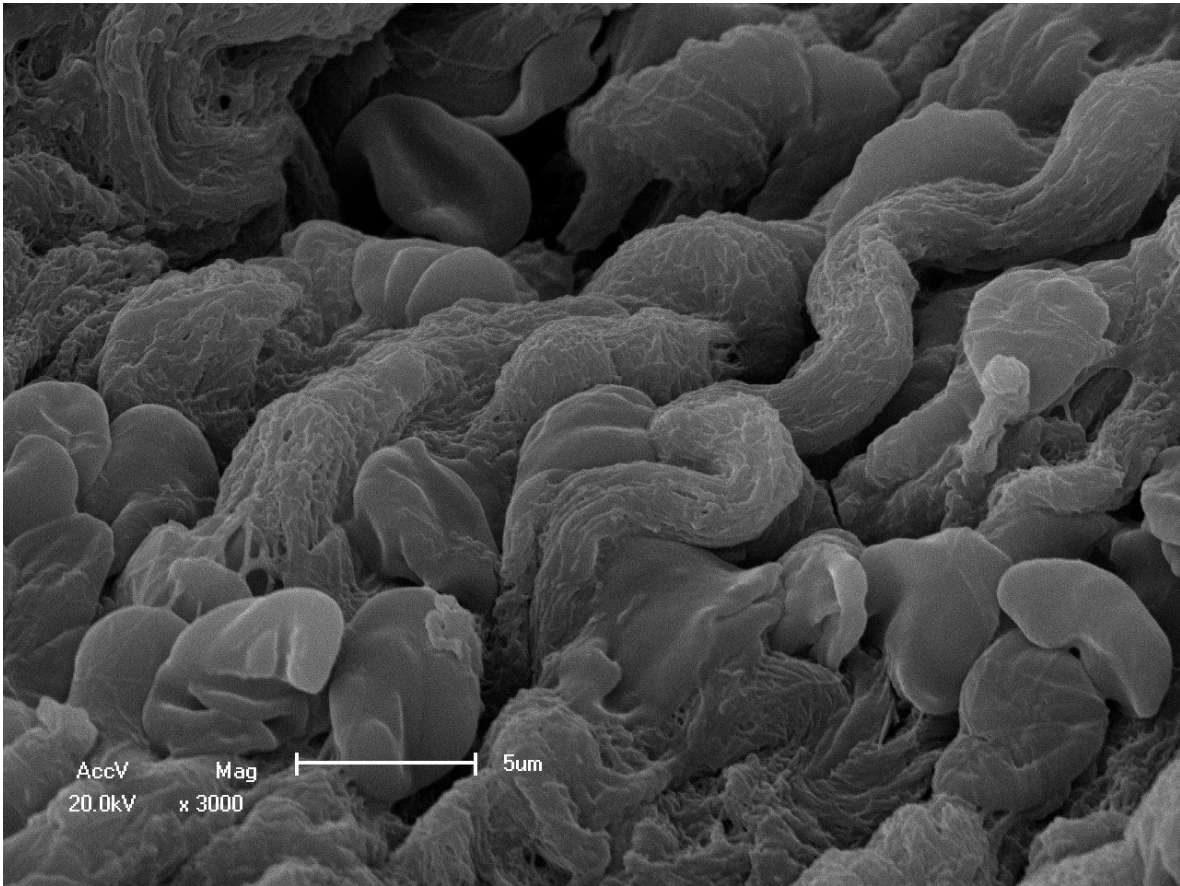


Figura 28 – Detalhe dos feixes de colágeno alterados e algumas células inflamatórias (MEV – 3.000x).

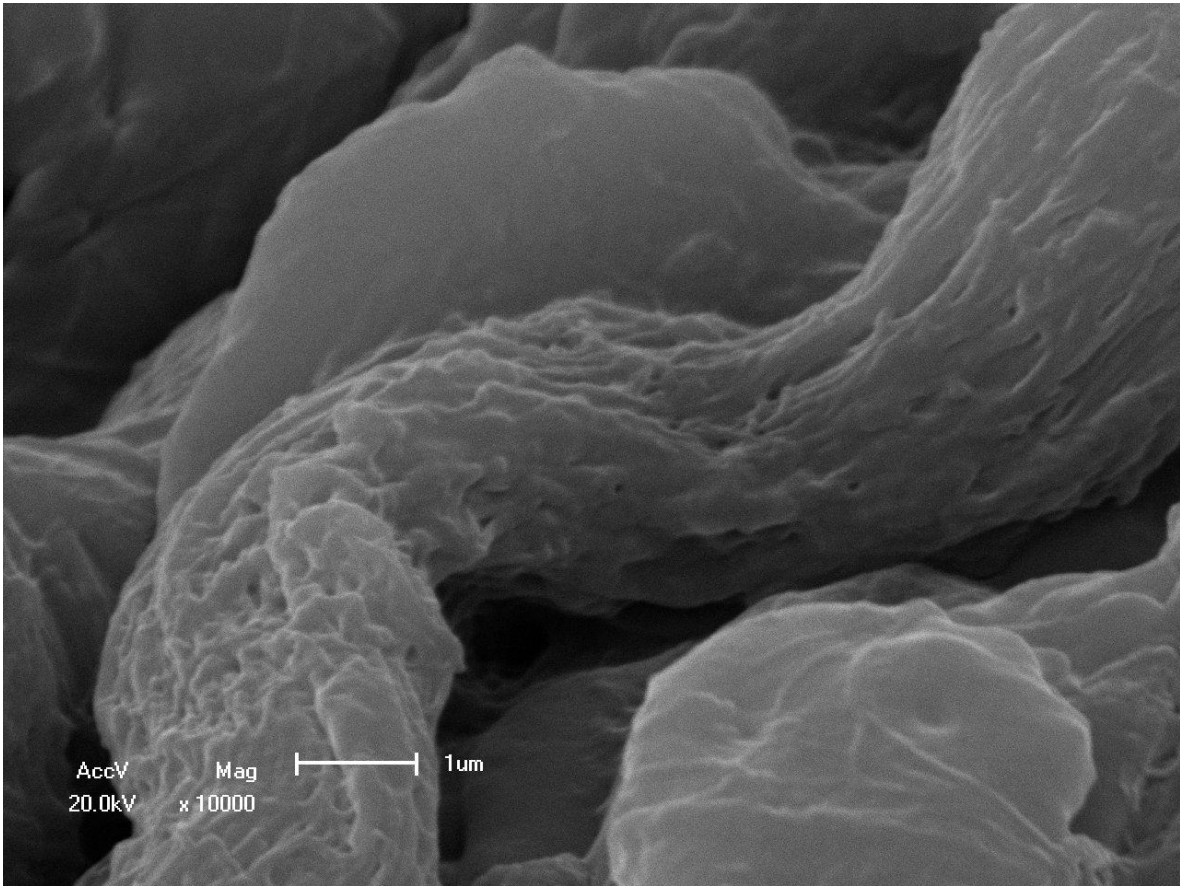


Figura 29 - Detalhe exibindo feixe com fibras francamente degeneradas/fusionadas (MEV – 10.000x).

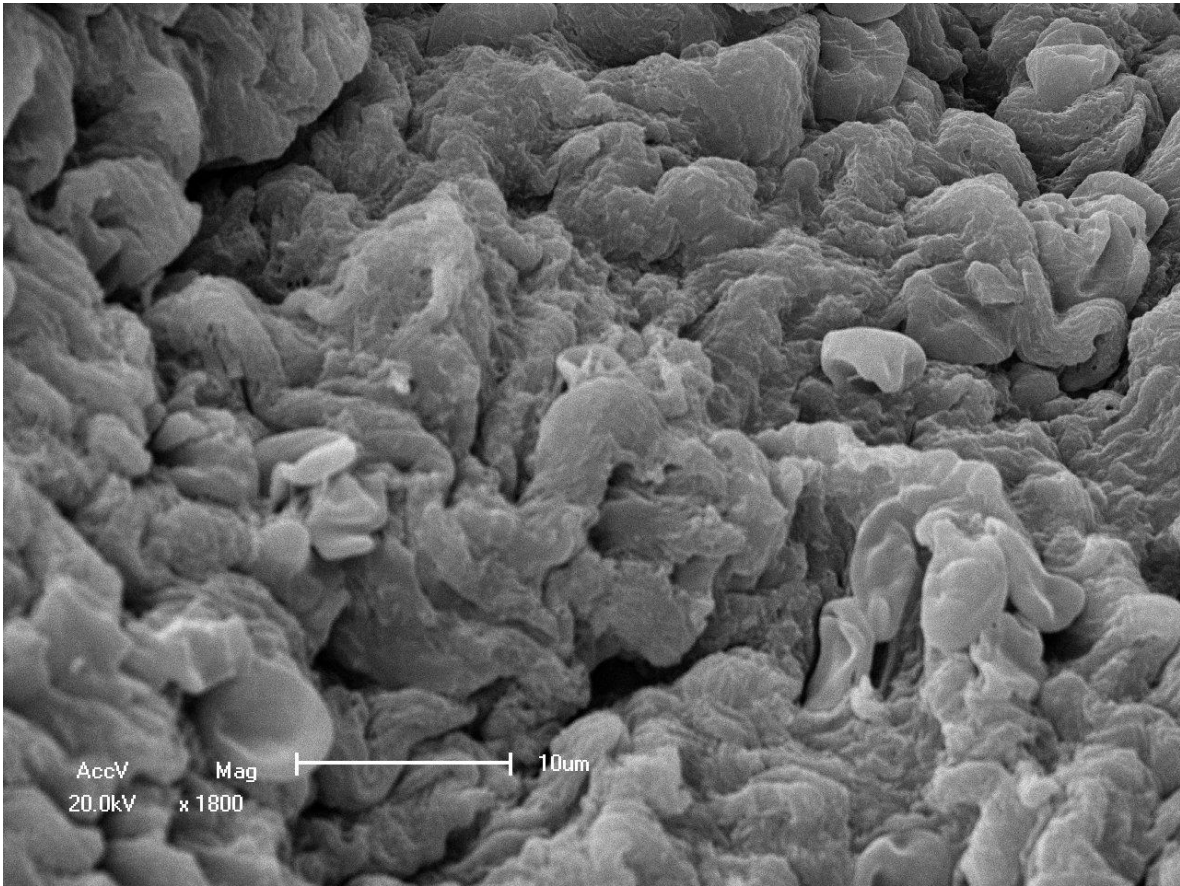


Figura 30 - Extensa área dérmica com feixes de colágeno degenerado e algumas células inflamatórias (MEV – 1.800x).

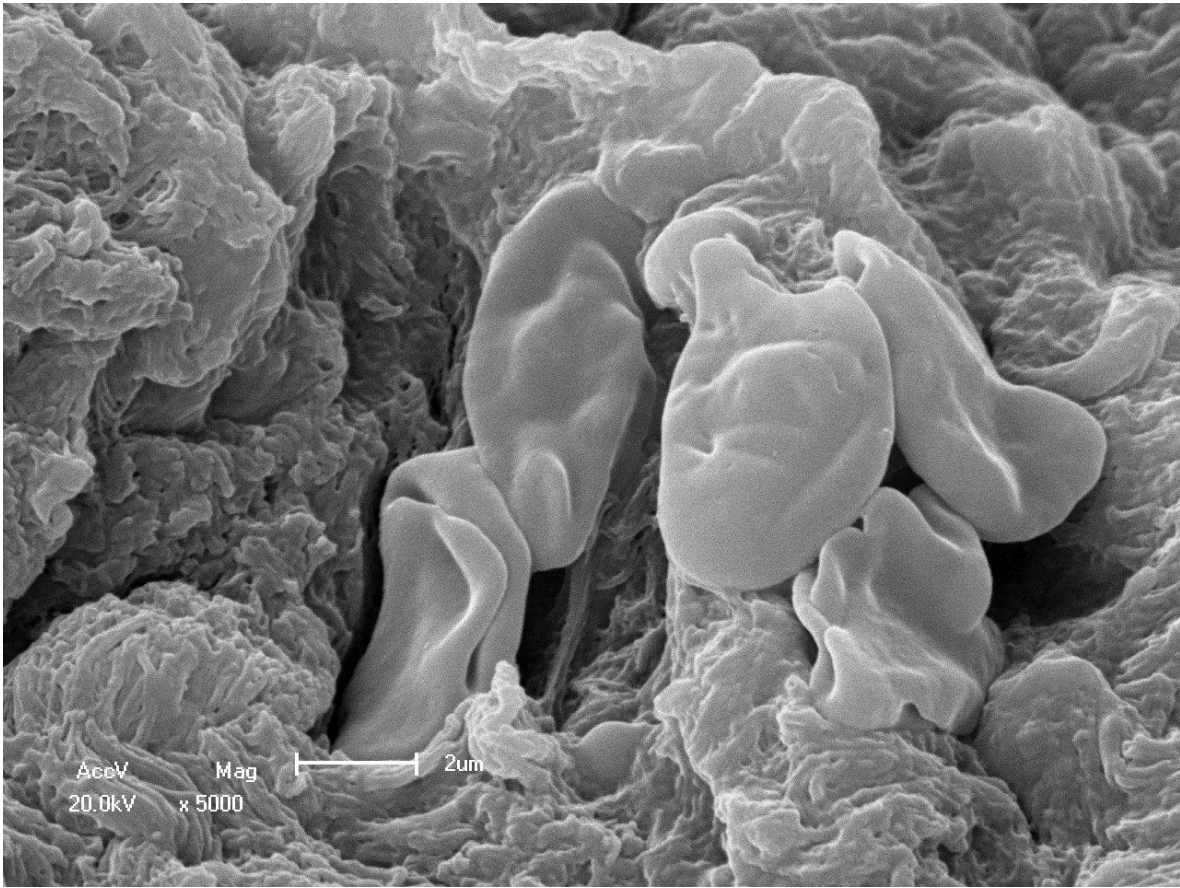


Figura 31 - Maior aumento da imagem anterior com destaque para células inflamatórias em meio a colágeno degenerado (MEV – 5.000x).

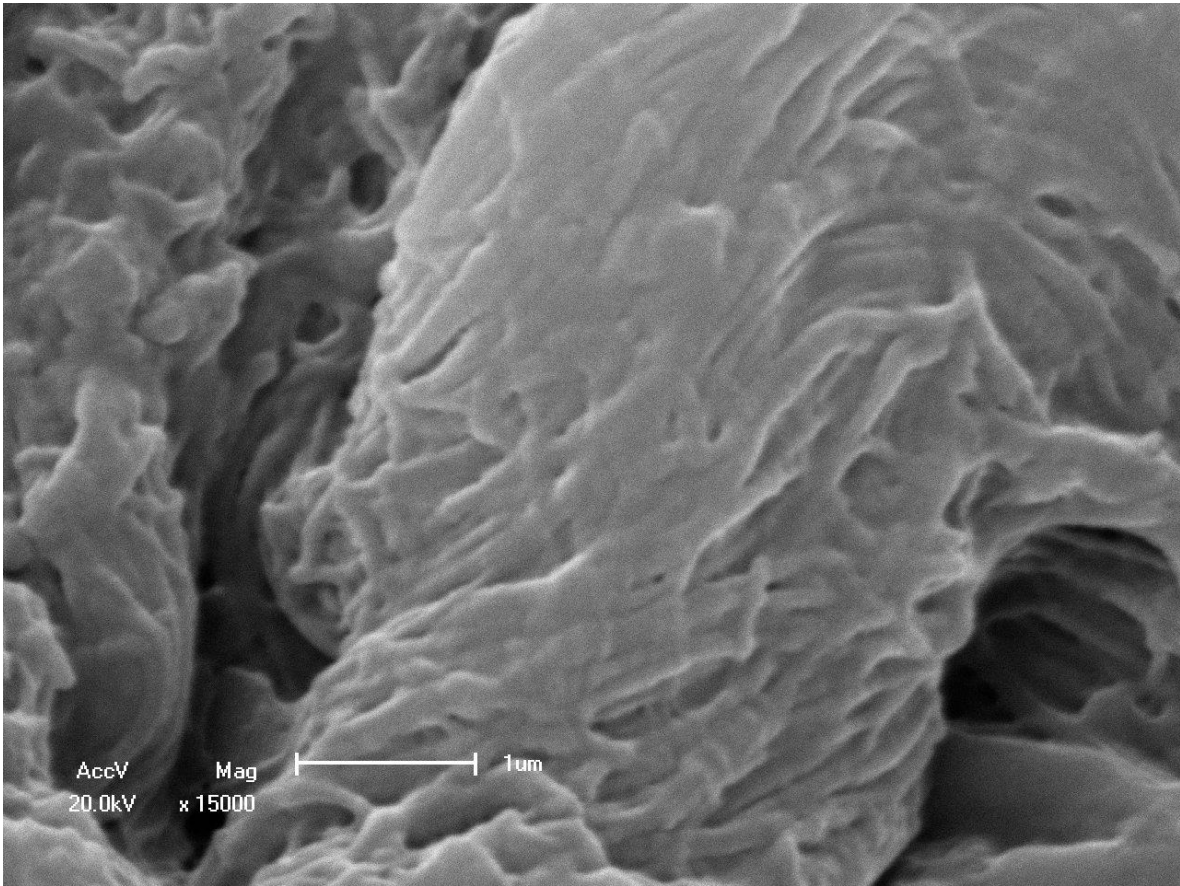


Figura 32 - Detalhe da imagem anterior destacando fibras colágenas intensamente degeneradas/fusionadas (MEV – 15.000x).

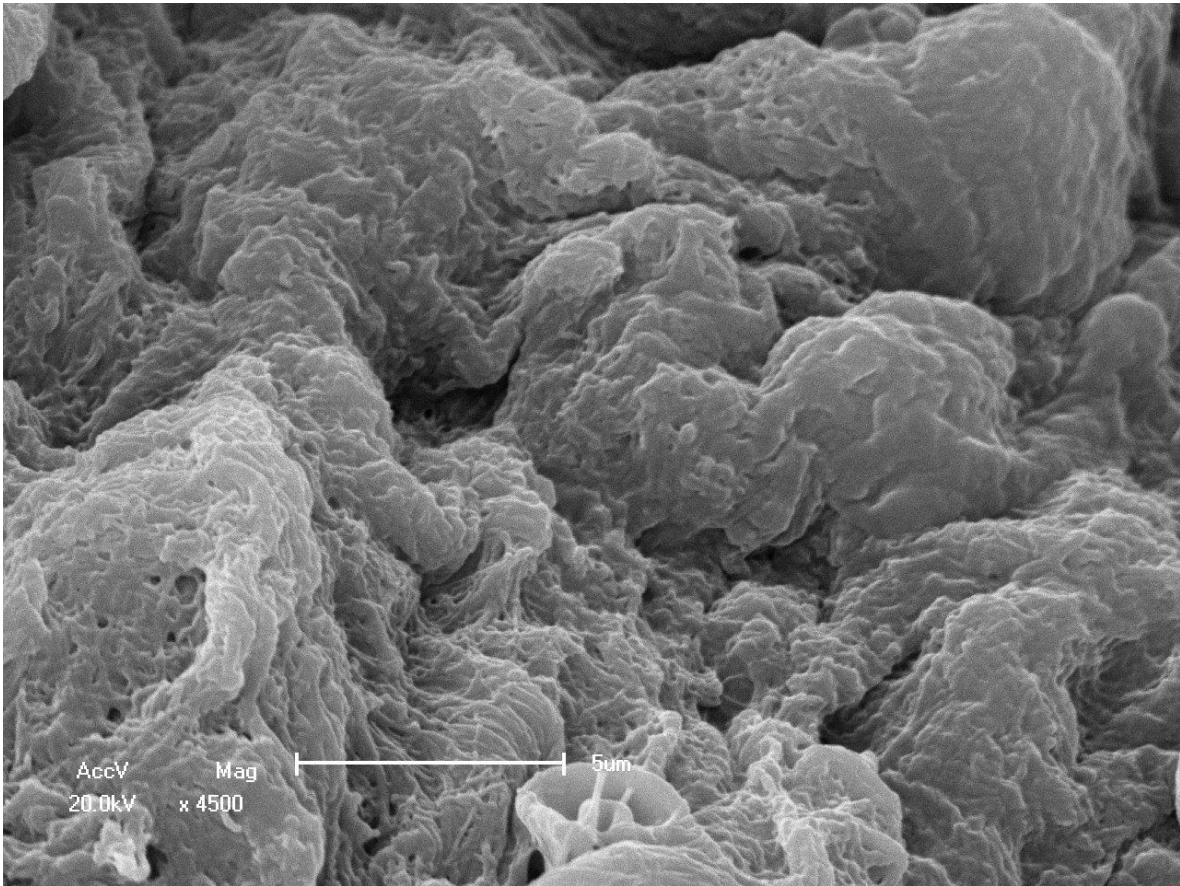


Figura 33 - Grande zona mostrando feixes de colágeno degenerado (MEV – 4.500x).

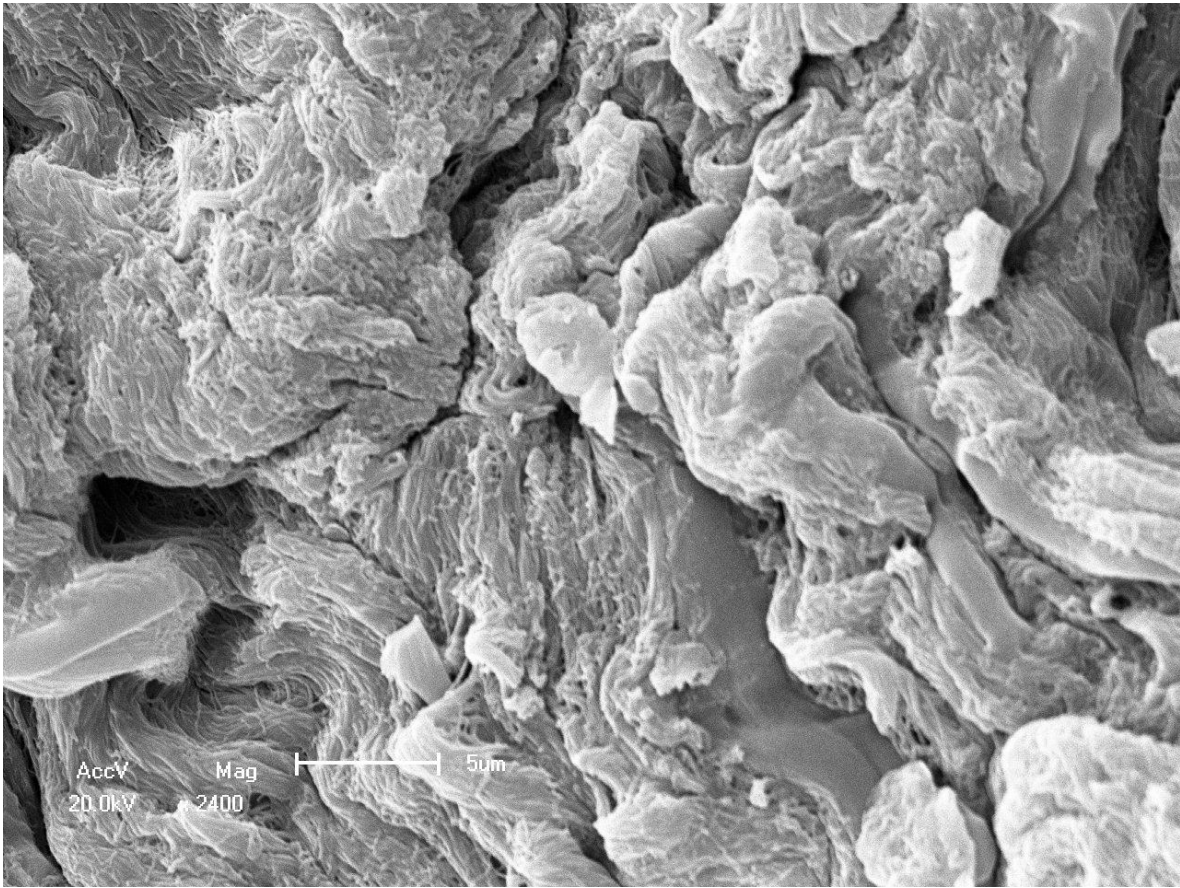


Figura 34 - Visão geral de grande área dérmica, com feixes de colágeno degenerado (MEV – 2.400x).

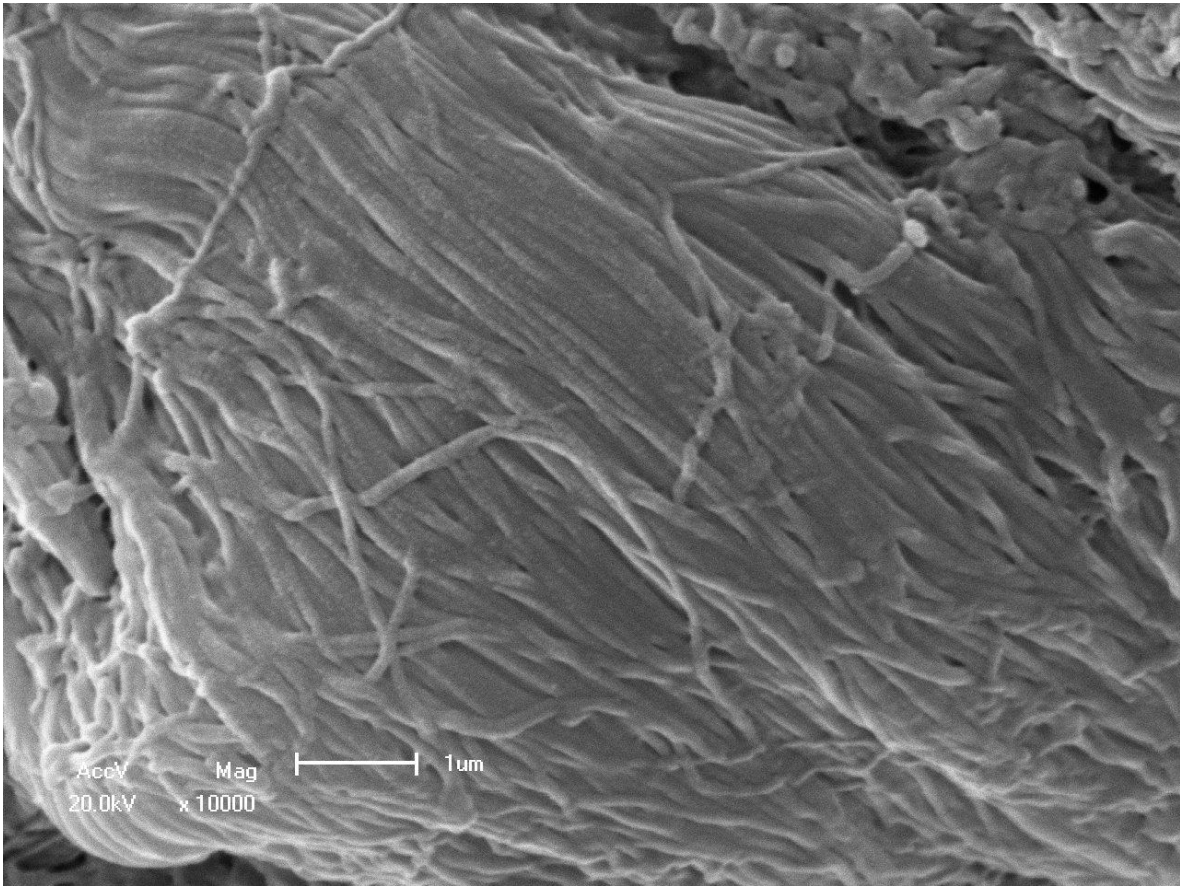


Figura 35 - Maior aumento da imagem anterior, destacando fibras colágenas fusionadas e algumas isoladas entrecruzadas (MEV – 10.000x).

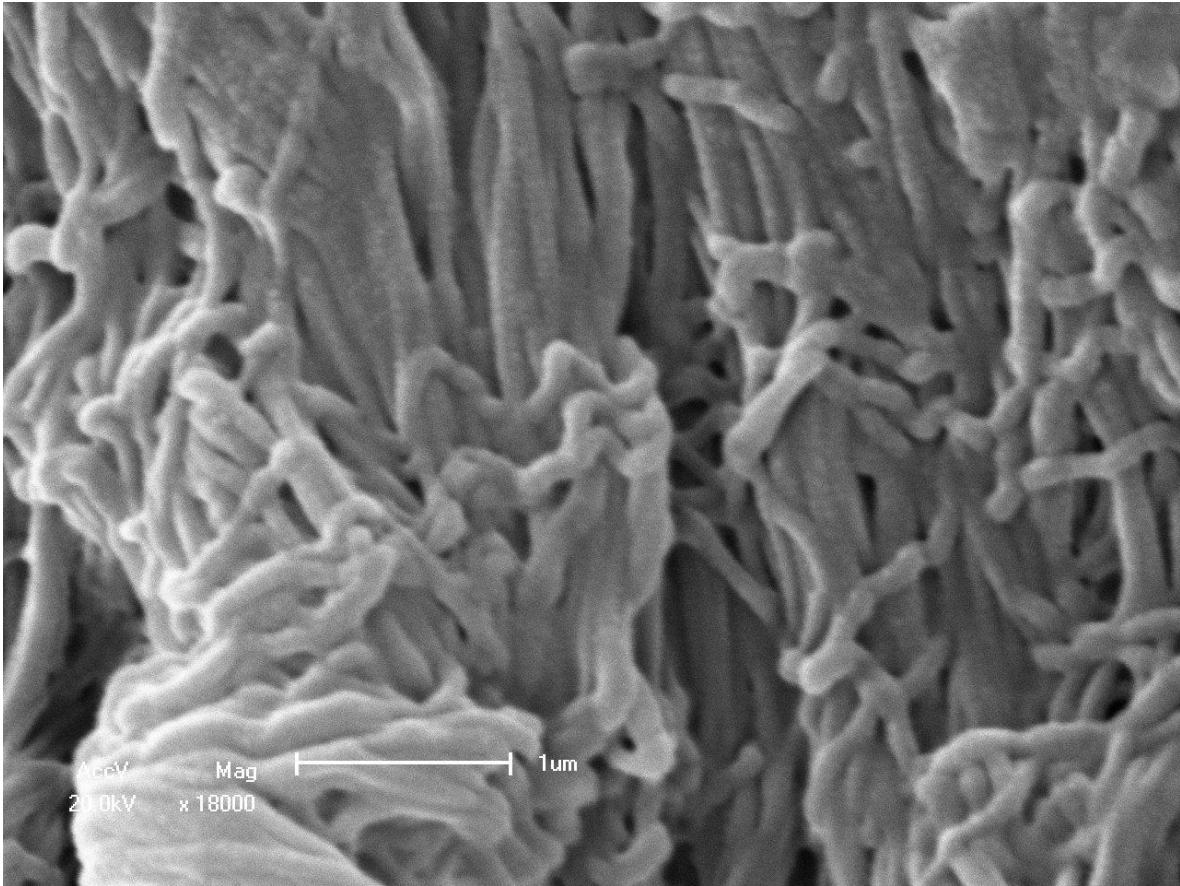


Figura 36 - Detalhe da imagem anterior, mostrando fibras colágenas em processo de fusão (MEV – 18.000x).

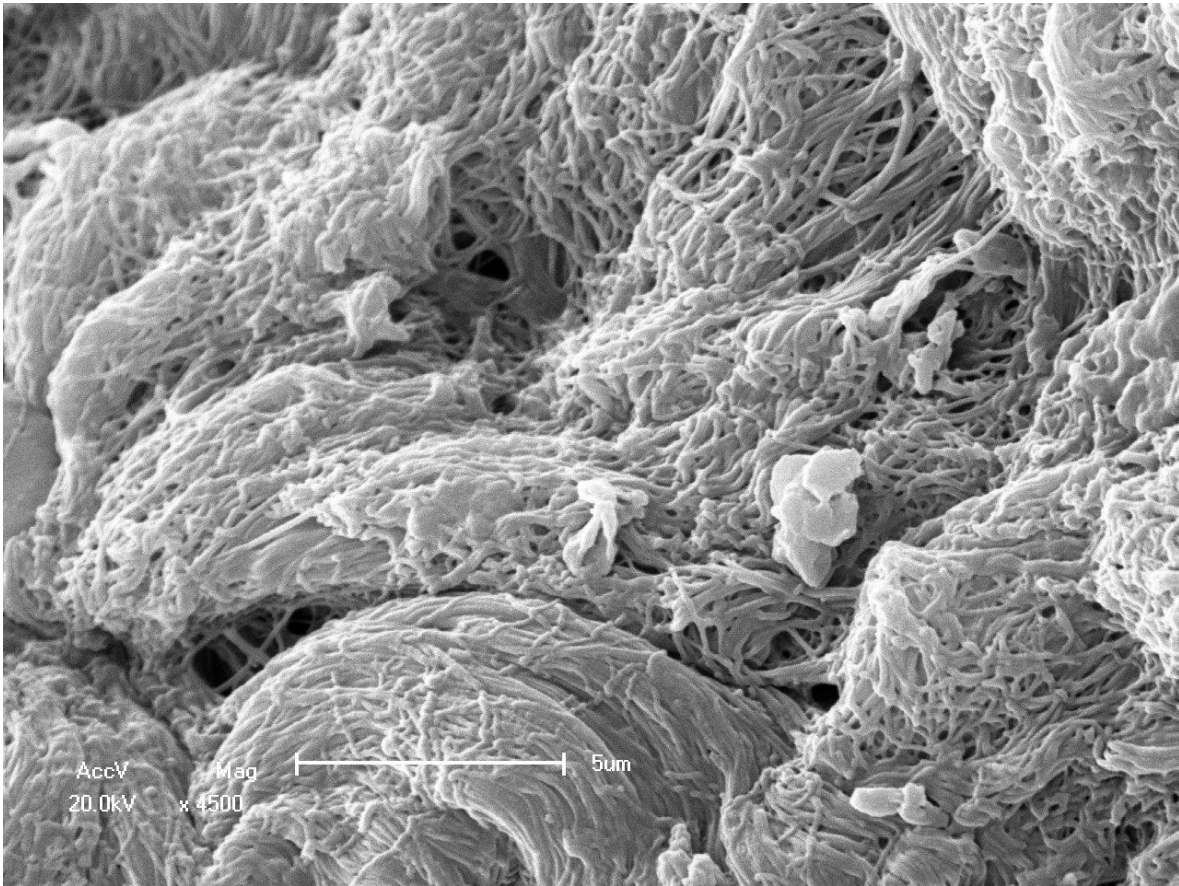


Figura 37 - Extensa área mostrando fibras colágenas degeneradas/espessadas com área menos afetada no quadrante superior direito (MEV – 4.500x).

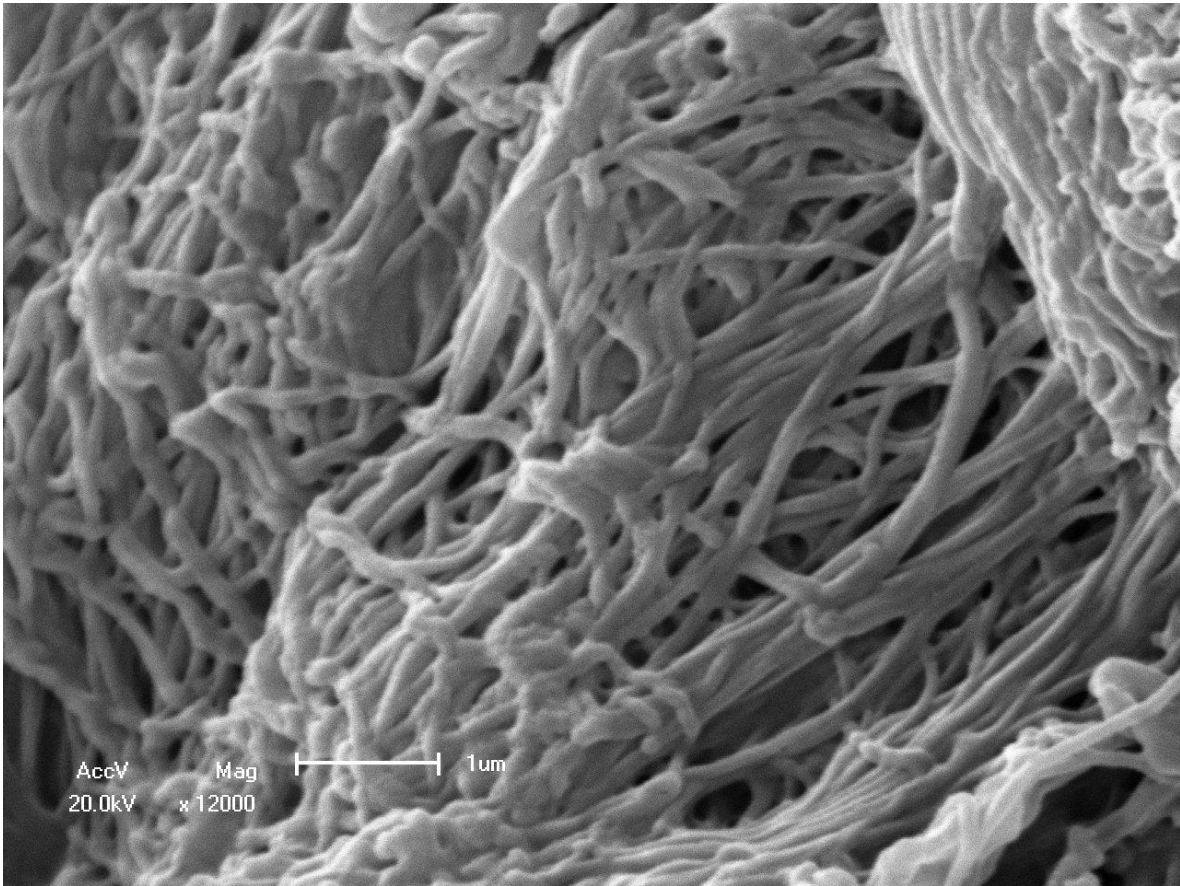


Figura 38 - Detalhe da imagem anterior, mostrando fibras colágenas menos afetadas (MEV – 12.000x).

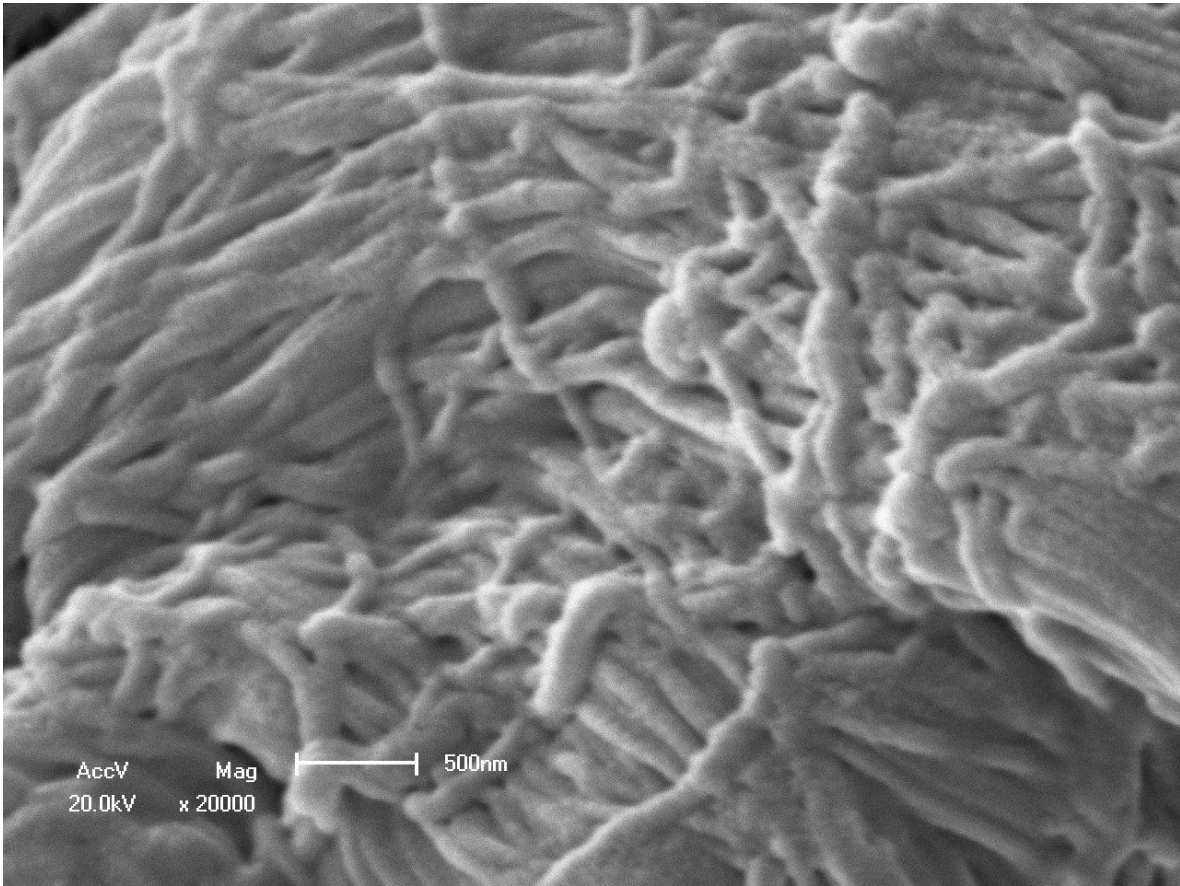


Figura 39 - Maior aumento da figura 37, exibindo fibras colágenas degeneradas/fusionadas (MEV – 20.000x).

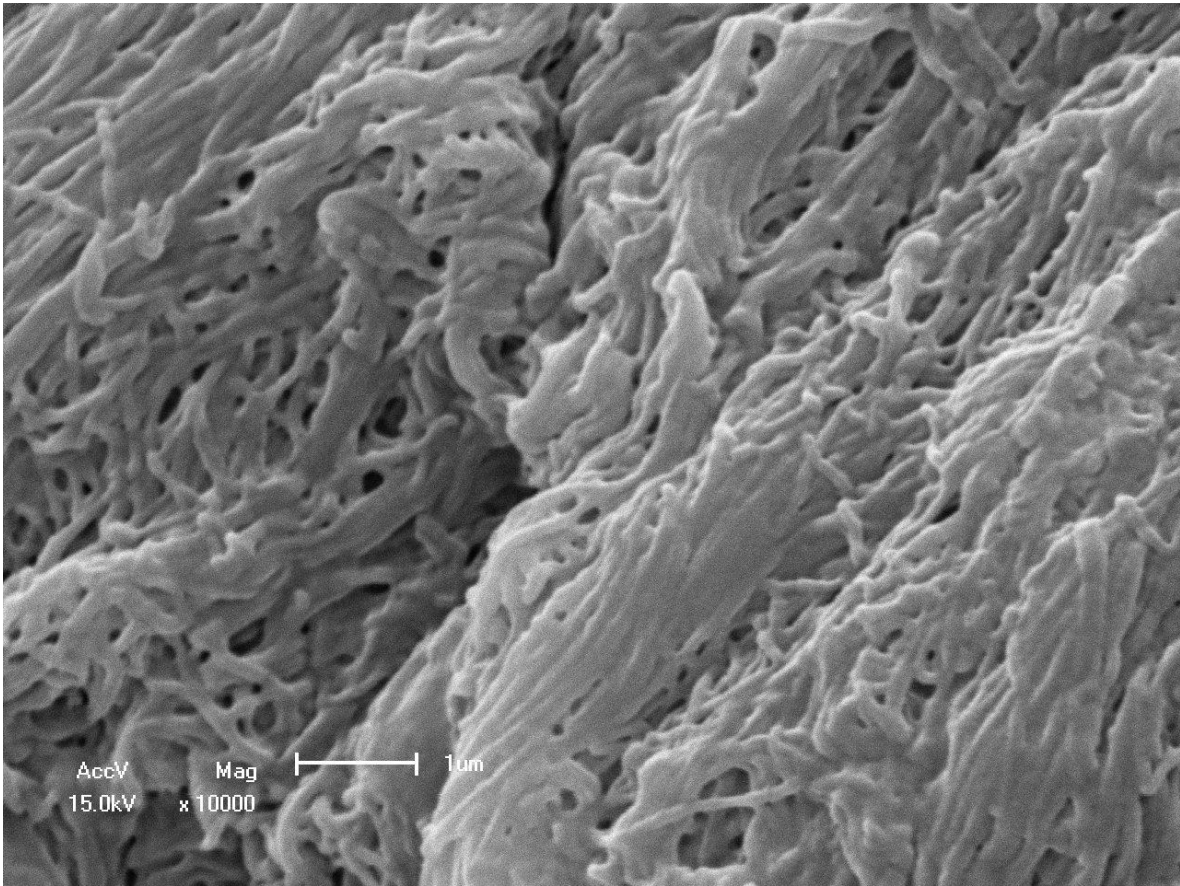


Figura 40 - Área exibindo marcada degeneração/fusão de fibras colágenas (MEV – 10.000x).

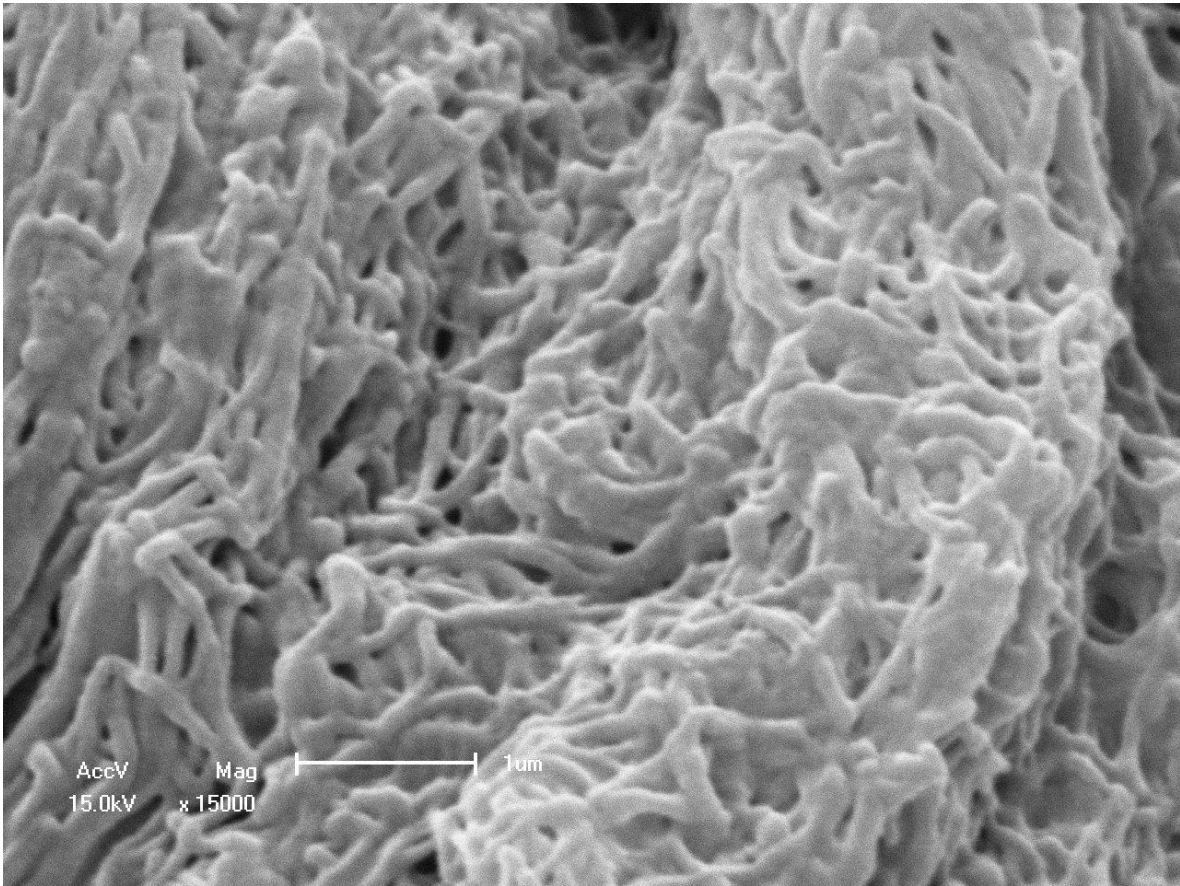


Figura 41 - Maior aumento evidenciando em detalhe a fusão das fibras colágenas (MEV – 15.000x).

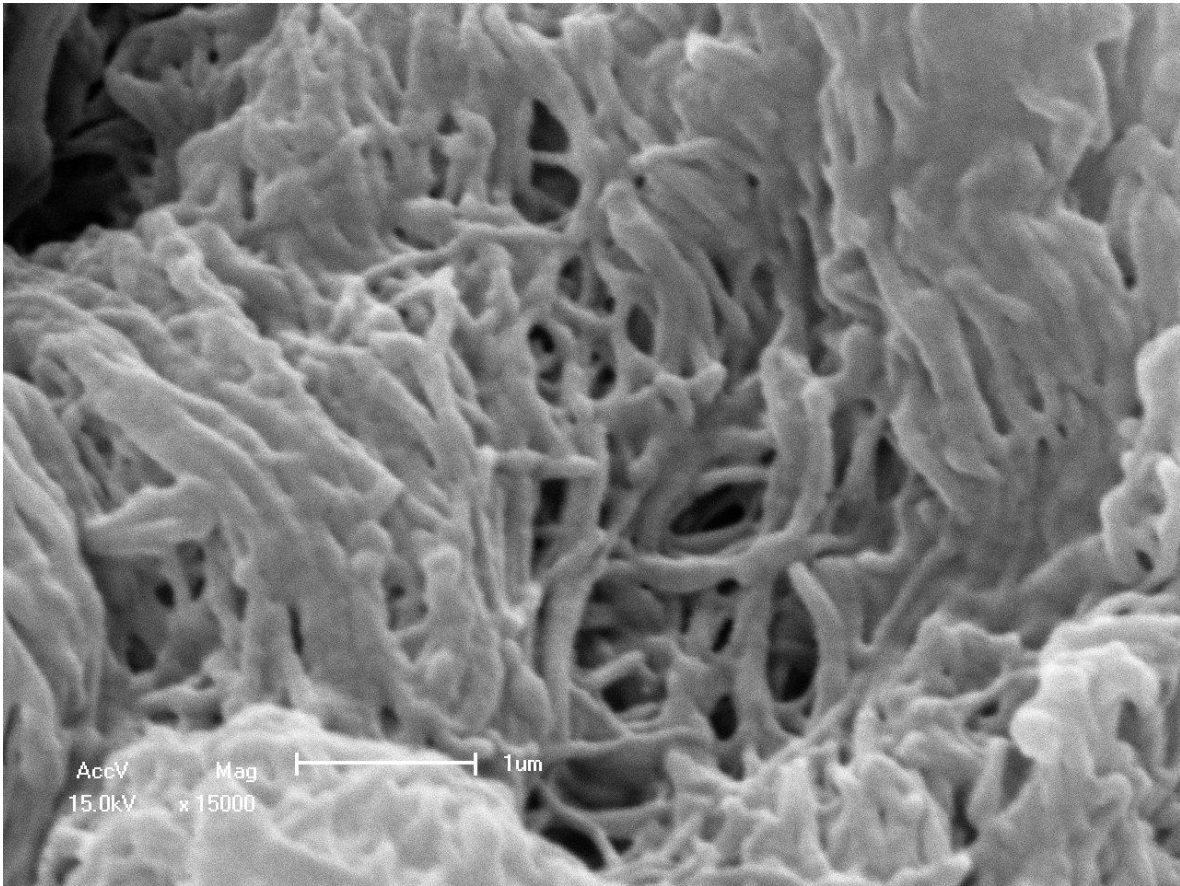


Figura 42 - Zona com intensa fusão de fibras colágenas (MEV – 15.000x).

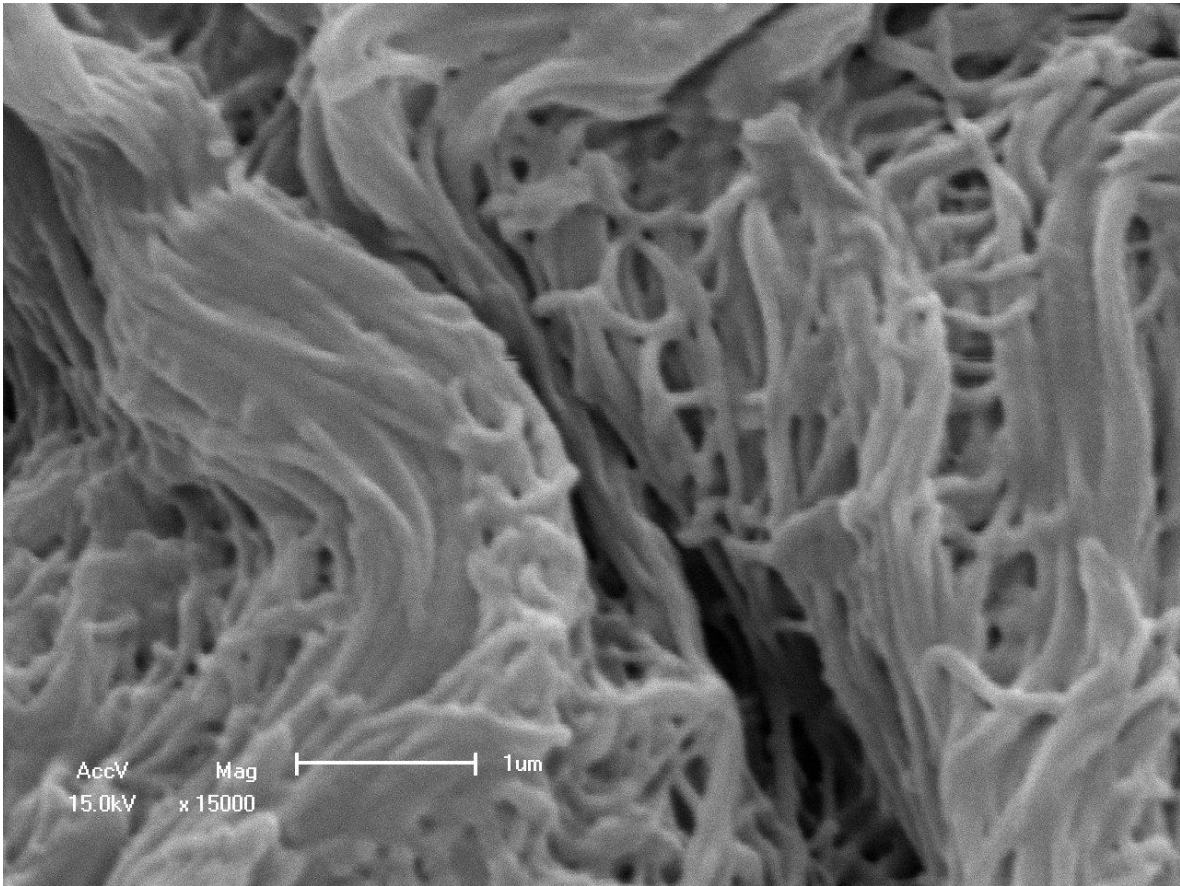


Figura 43 - Área mostrando fibras colágenas em processo de fusão/degeneração (MEV – 15.000x).

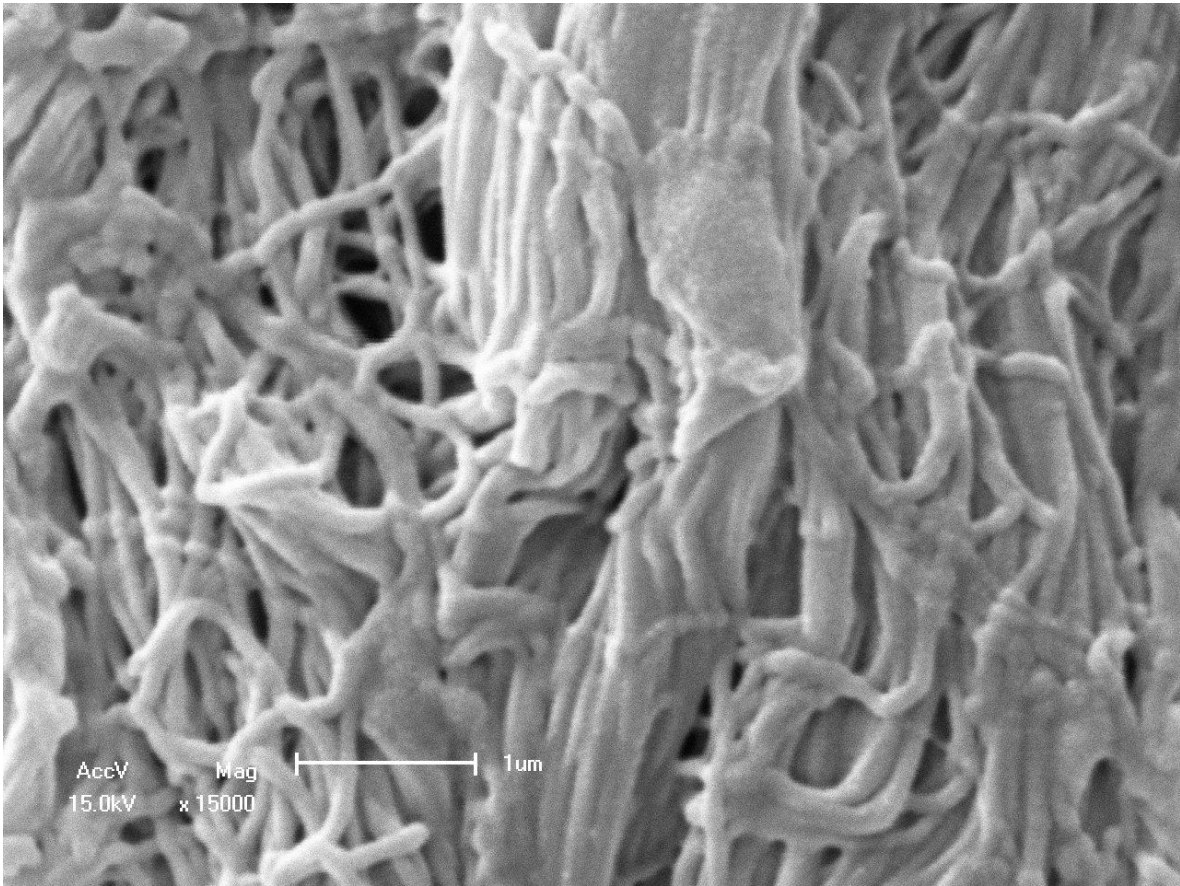


Figura 44 - Zona evidenciando degeneração de fibras colágenas e esboço de aspecto em colar de pérolas (MEV – 15.000x).

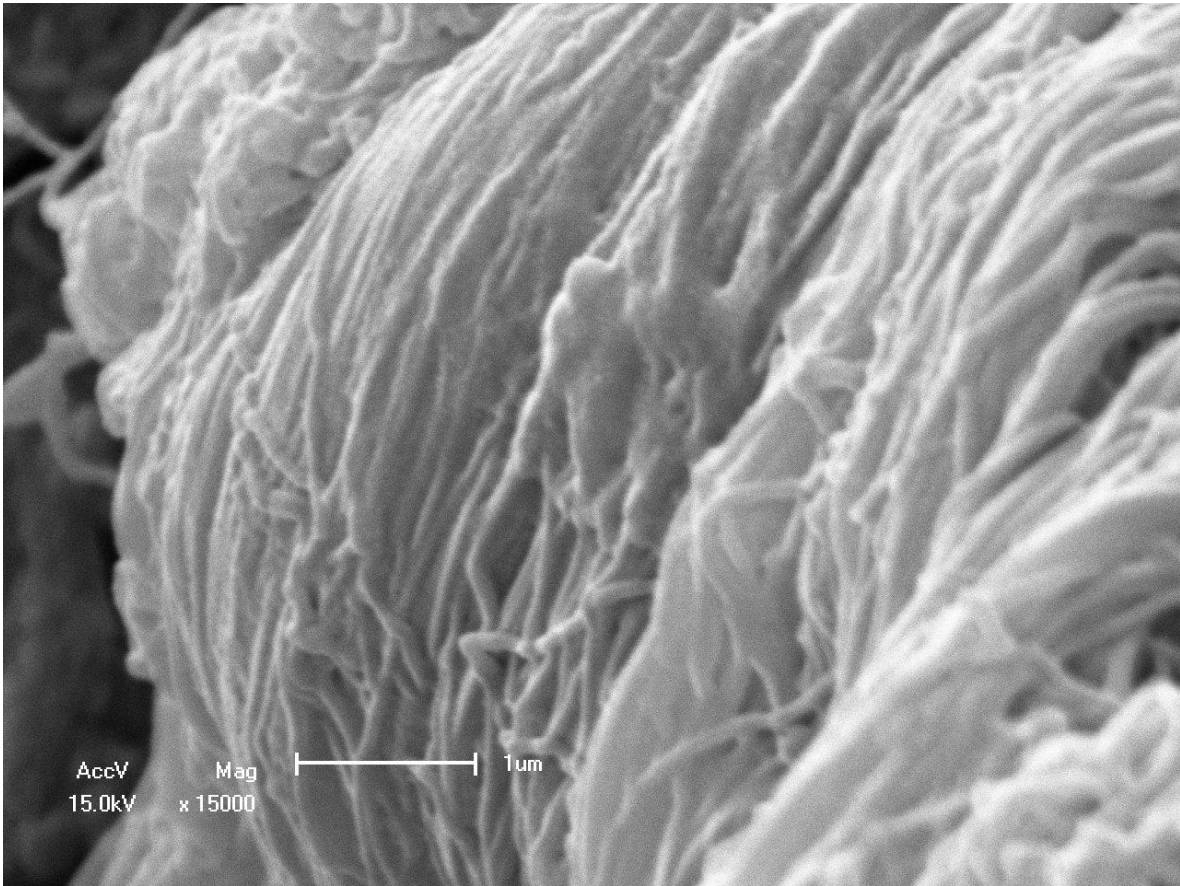


Figura 45 - Área mostrando degeneração/fusão de fibras colágenas (MEV – 15.000x).

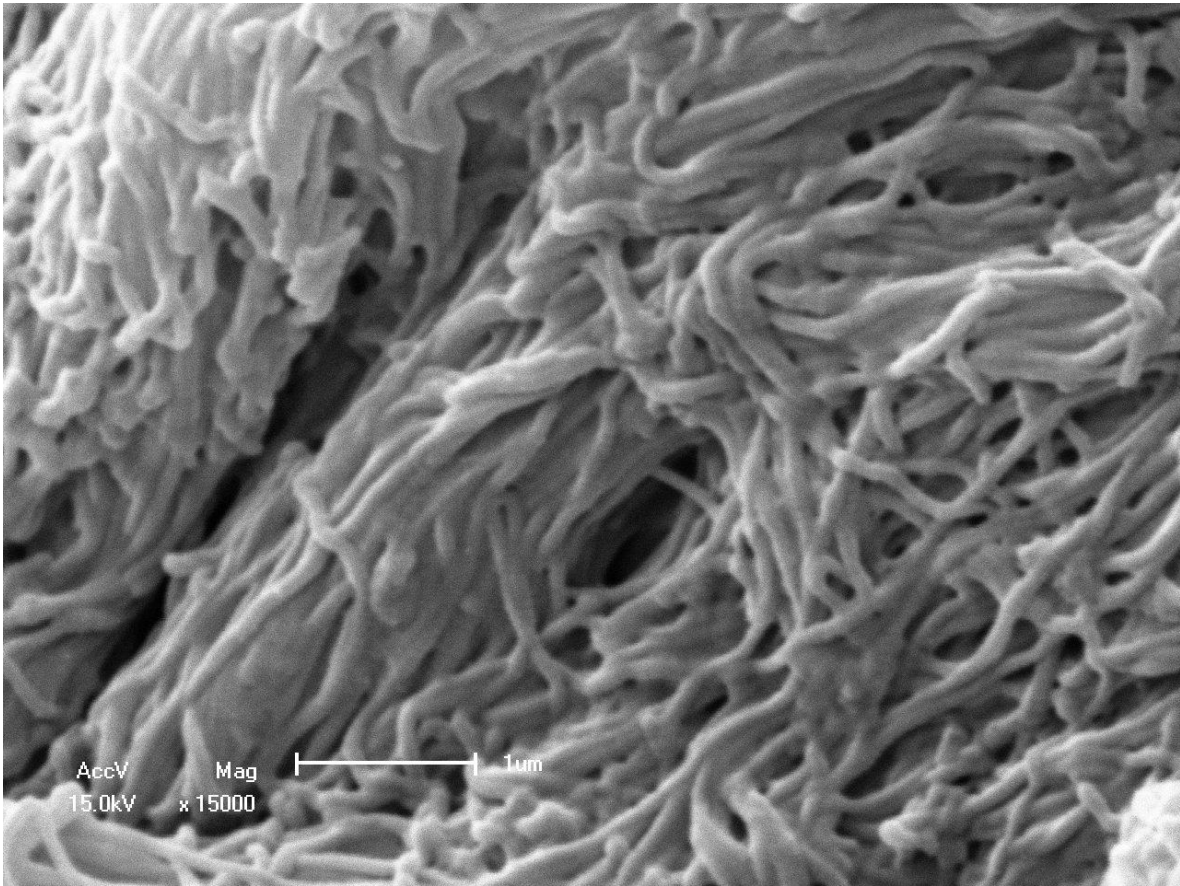


Figura 46 - Zona mostrando fibras colágenas espessadas e em processo de fusão (MEV – 15.000x).

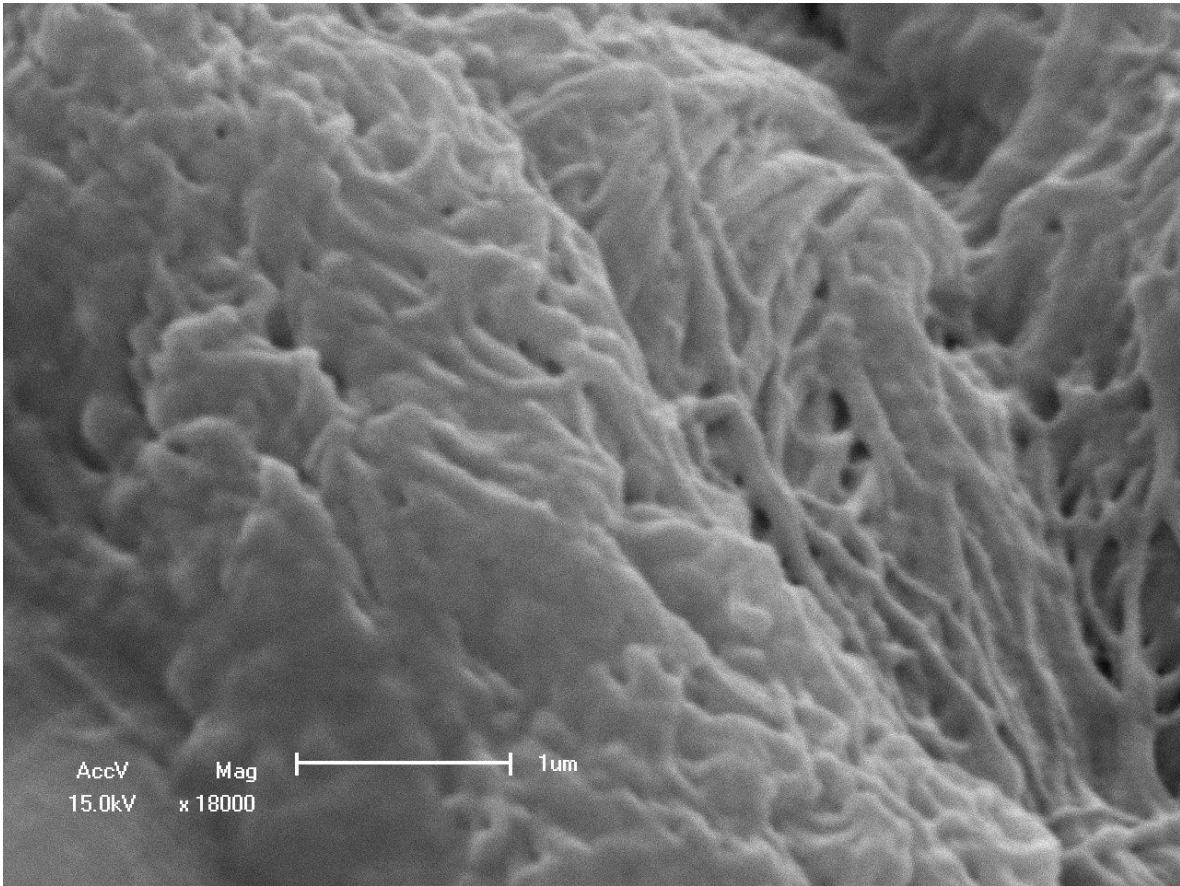


Figura 47 - Detalhe de área mostrando intensa degeneração de fibras colágenas com aspecto “rochoso” (MEV – 18.000x).

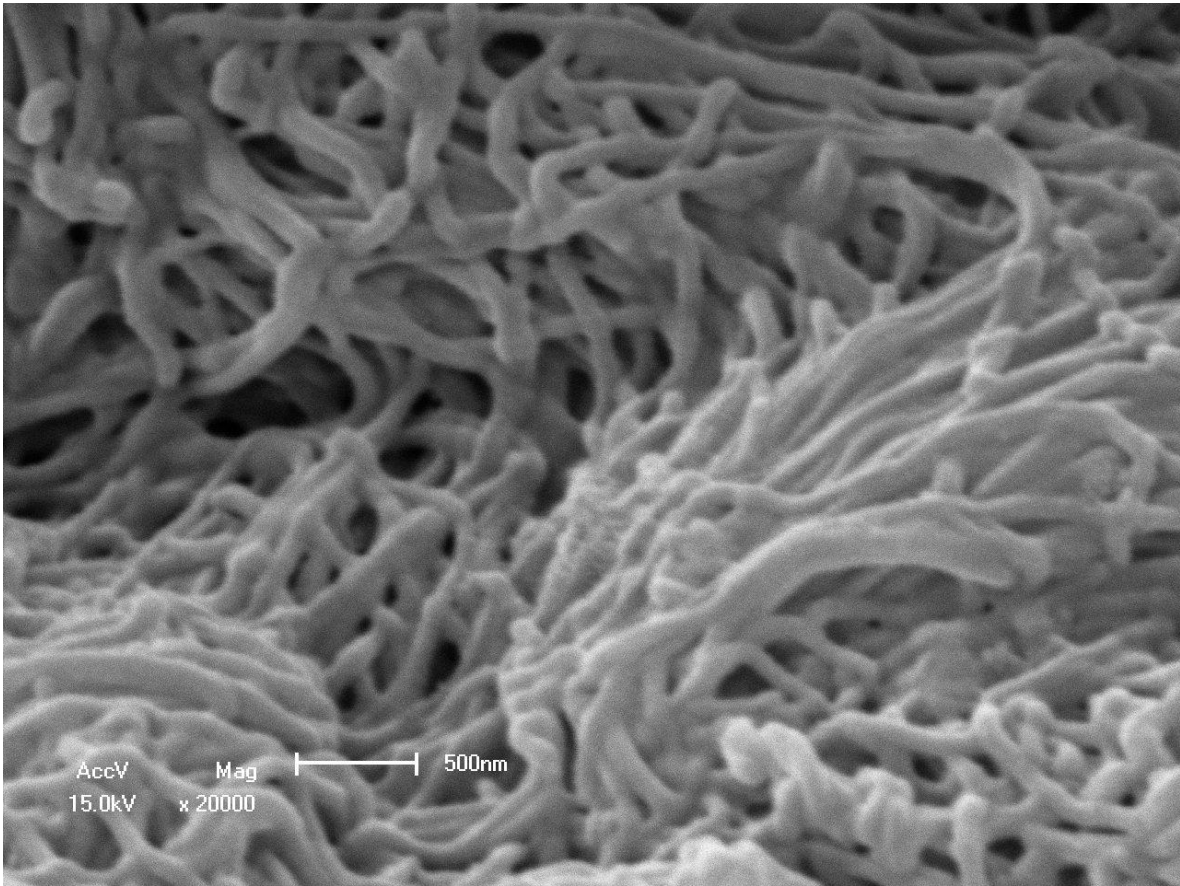


Figura 48 - Maior aumento mostrando fibras colágenas espessadas e outras se fusionando (MEV – 20.000x).

9.3. Relato do caso 1 de Granuloma Anular

Uma paciente feminina de 24 anos iniciou com placa assintomática de bordos bem definidos no dorso do pé direito.

9.3.1. Aspectos Clínicos



Figura 49 - Lesão anular avermelhada com involução central e borda perolada em dorso do pé direito.

9.3.2. Microscopia óptica

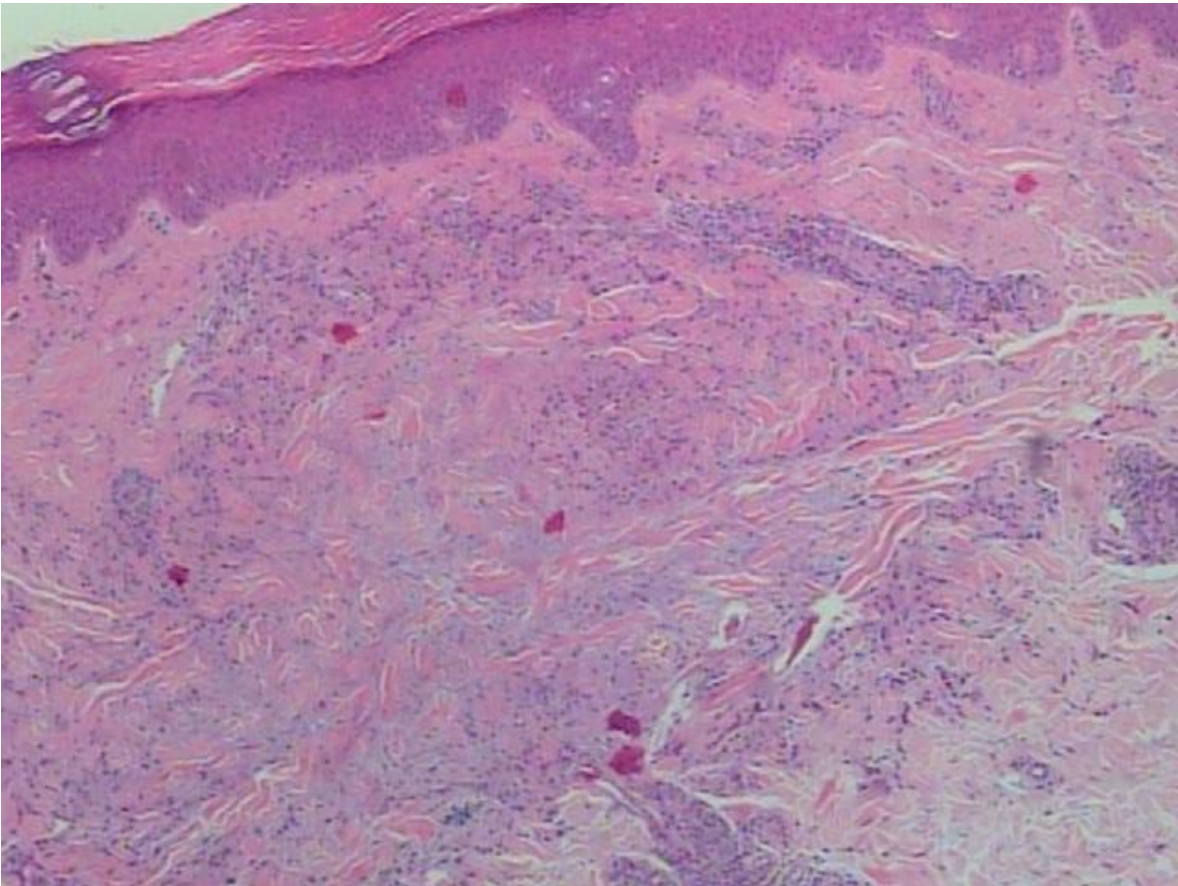


Figura 50 – Epiderme com hiperortoceratose e derme exibindo degeneração basofílica do colágeno com infiltrado inflamatório linfocitário e esboços de granulomas (HE – 100x).

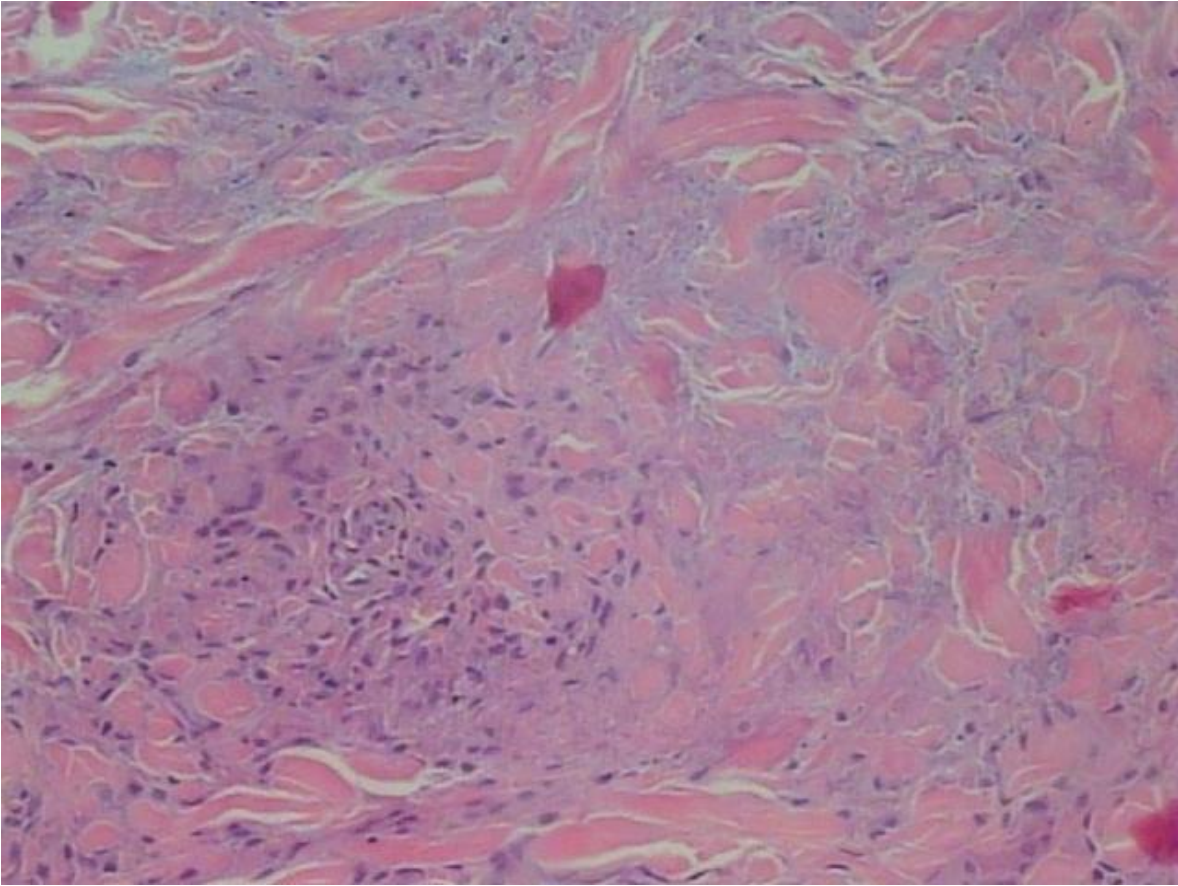


Figura 51 - Derme exibindo colágeno focalmente degenerado basofílico e inflamação crônica linfo-histiocitária com presença de gigantócitos, granuloma e, de permeio, preservação das fibras (HE 400x).

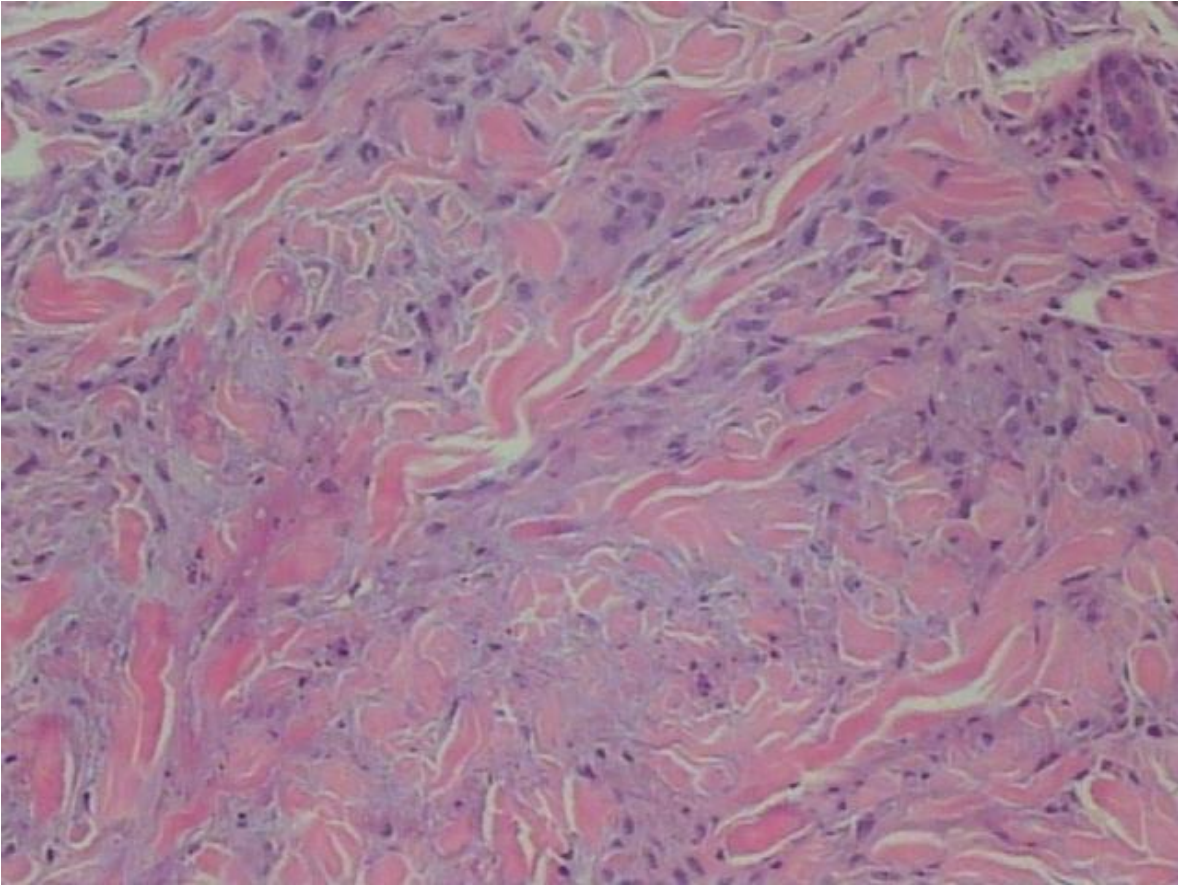


Figura 52 - Detalhe da degeneração focal da derme exibindo colágeno degenerado (basofílico) associado a infiltrado inflamatório crônico linfo-histiocitário (HE 400x).

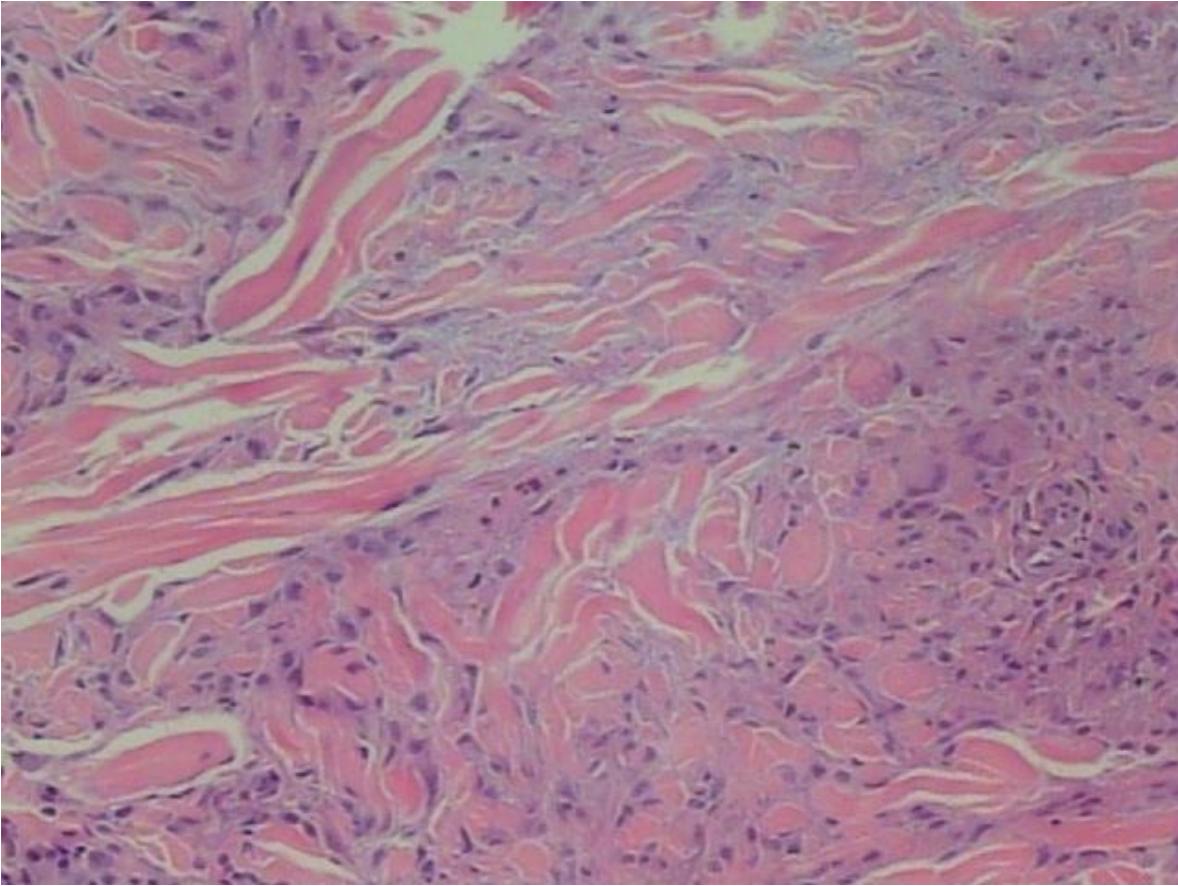


Figura 53 - Derme com esboço de granuloma e discreta degeneração basofílica (HE 400x).

9.3.3. Microscopia Eletrônica de Varredura

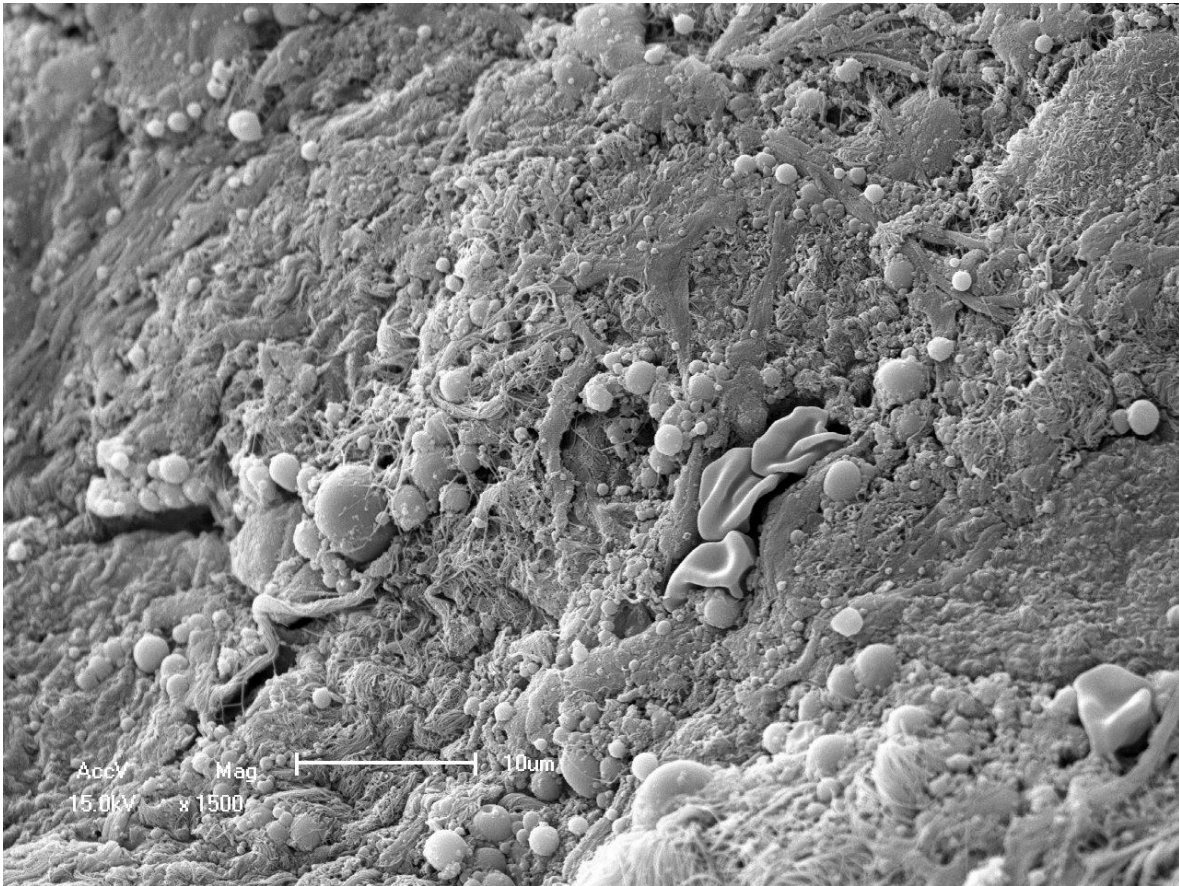


Figura 54 - Visão geral da degeneração do colágeno, com presença de linfócitos e macrófagos (MEV – 1.500x).

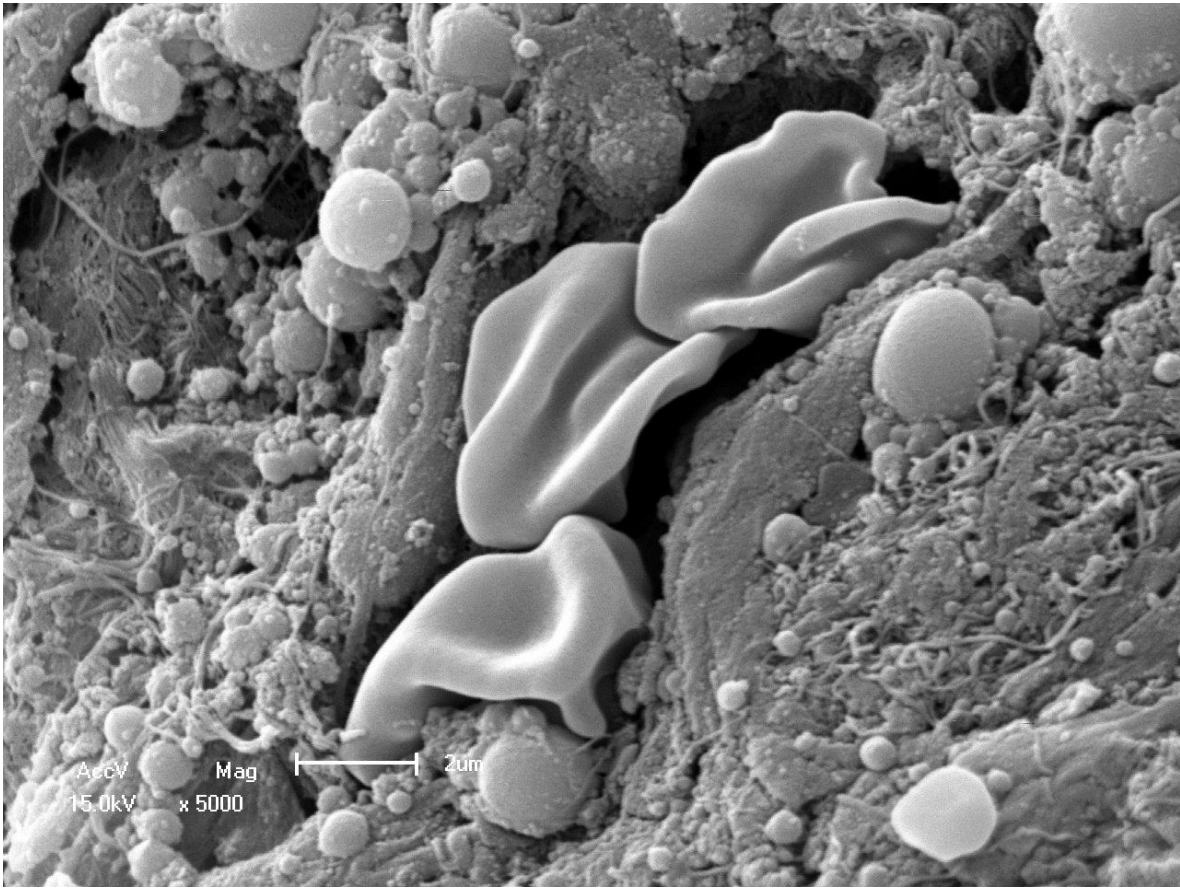


Figura 55 - Detalhe da foto anterior mostrando macrófagos formando paliçada e linfócitos em meio a colágeno degenerado (MEV – 5.000x).

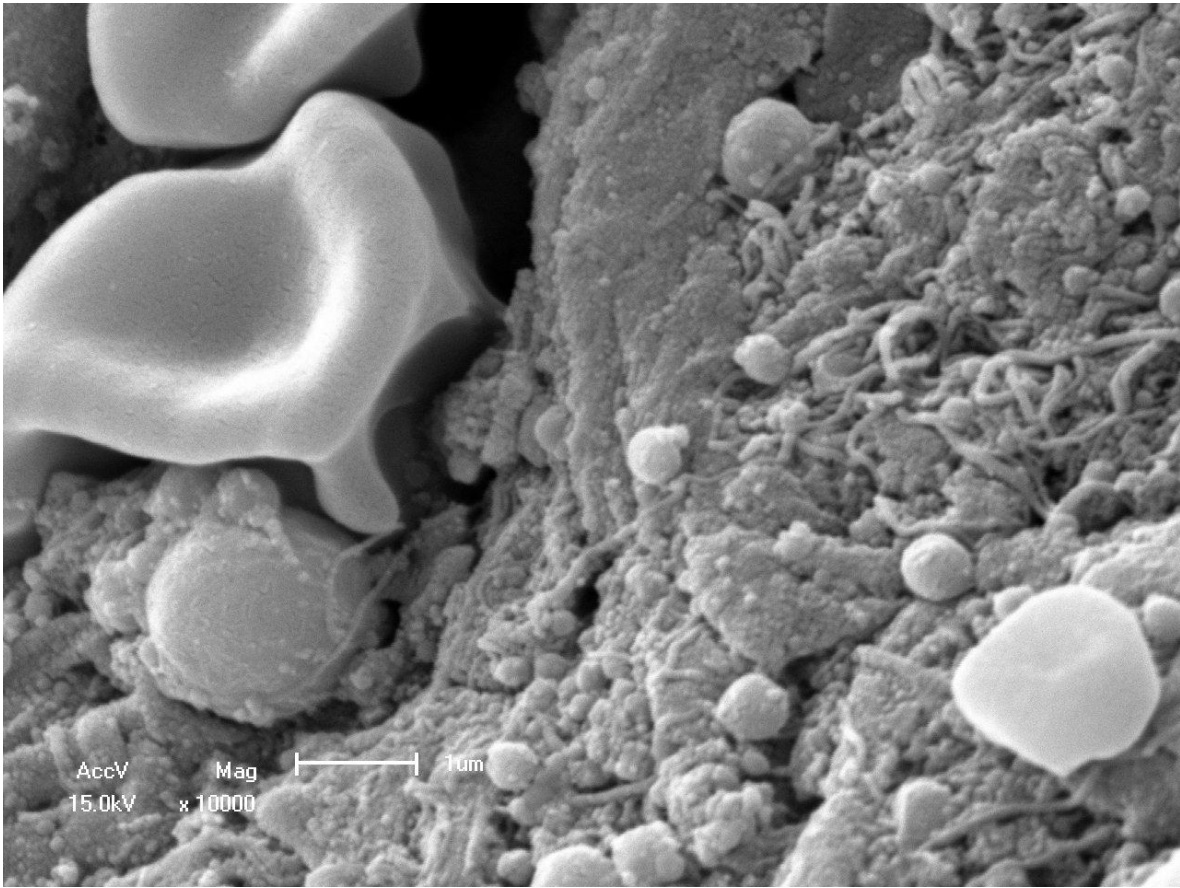


Figura 56 - Maior aumento do campo anterior mostrando macrófagos e linfócitos em meio a colágeno degenerado (MEV – 10.000x).

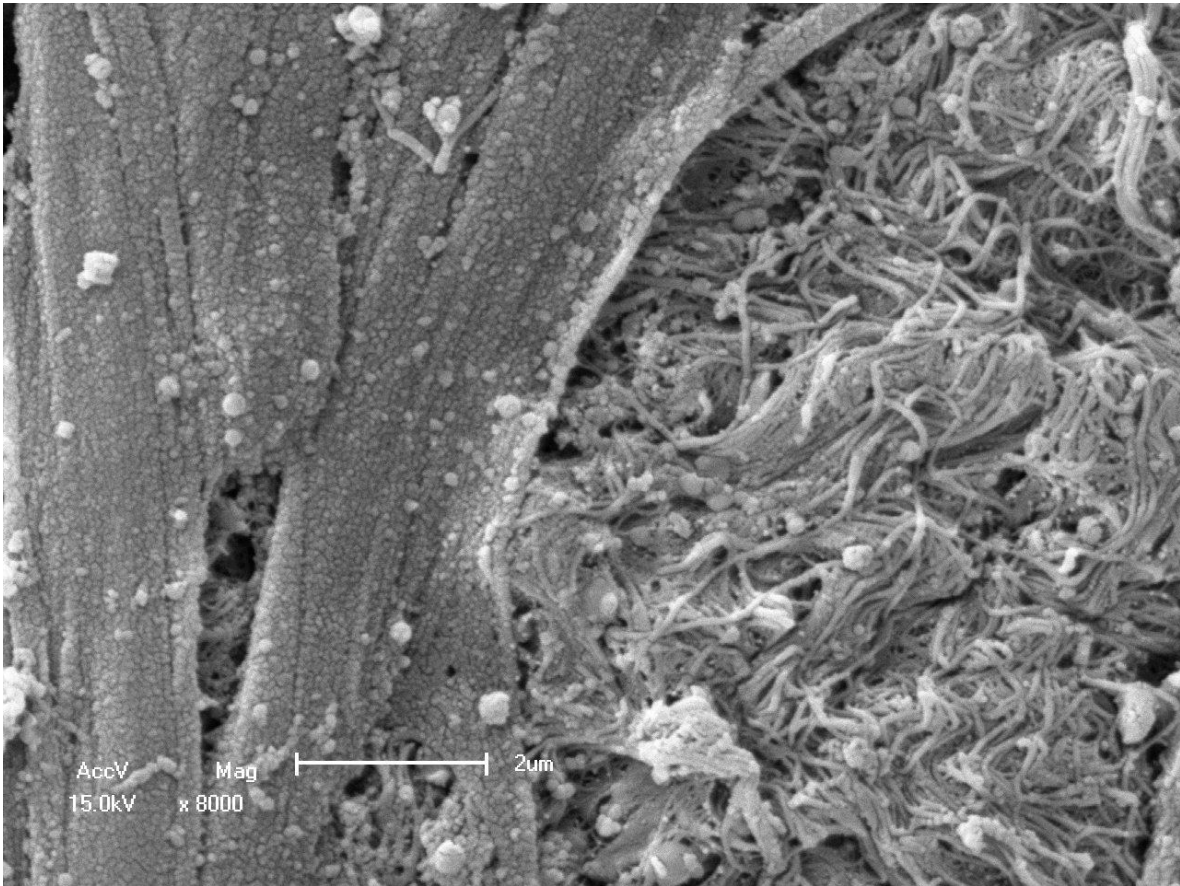


Figura 57 - Área exibindo colágeno degenerado à esquerda, com células inflamatórias e zona menos afetada à direita (MEV 8.000x).

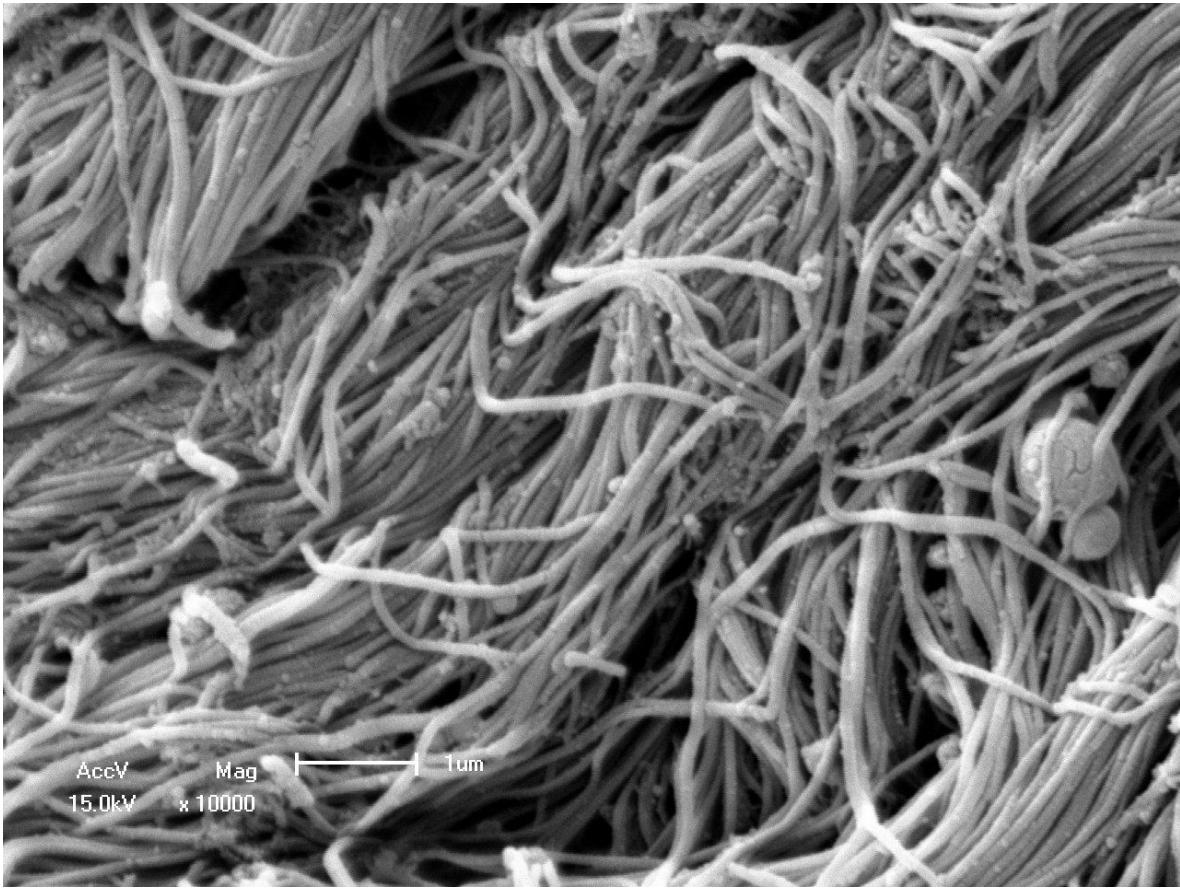


Figura 58 - Área mostrando fibras colágenas preservadas (MEV-10.000x).

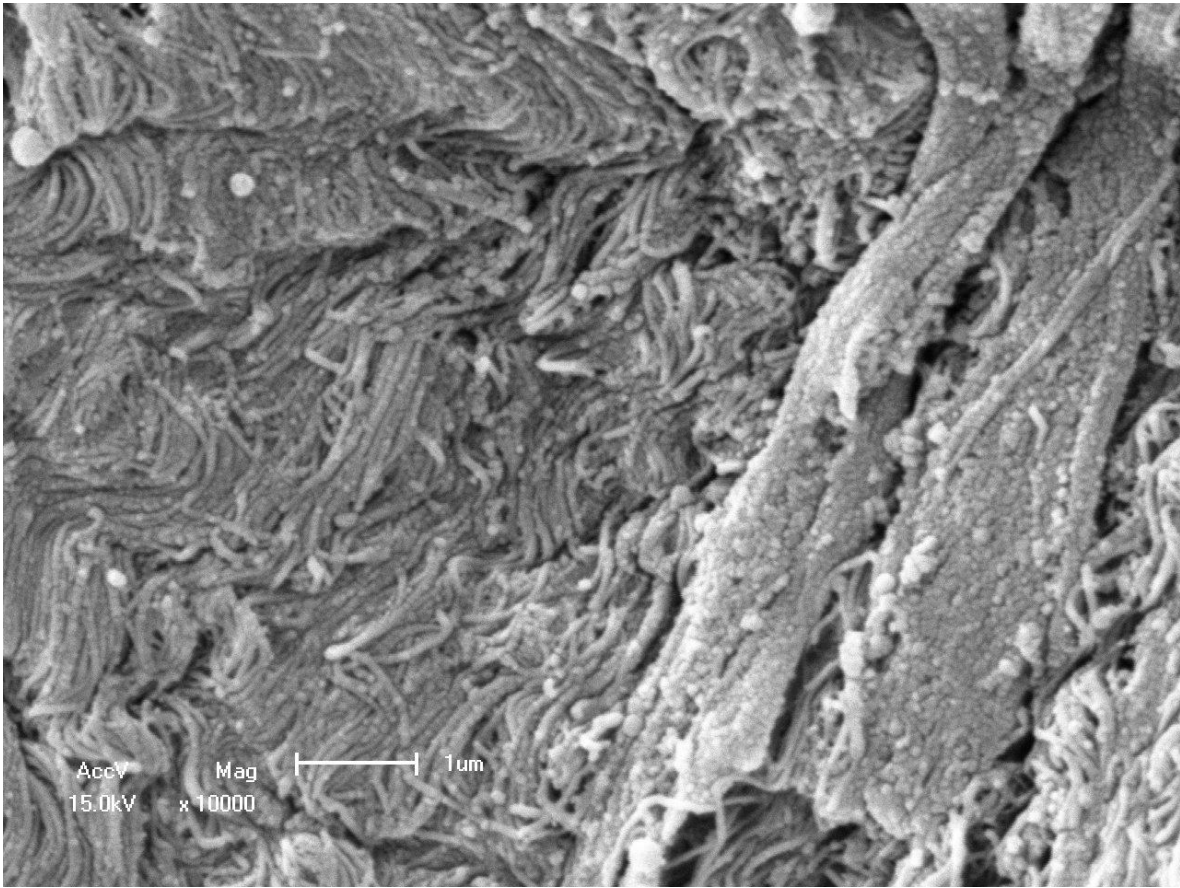


Figura 59 - Colágeno menos afetado à esquerda e zona degenerada à direita (MEV – 10.000x).

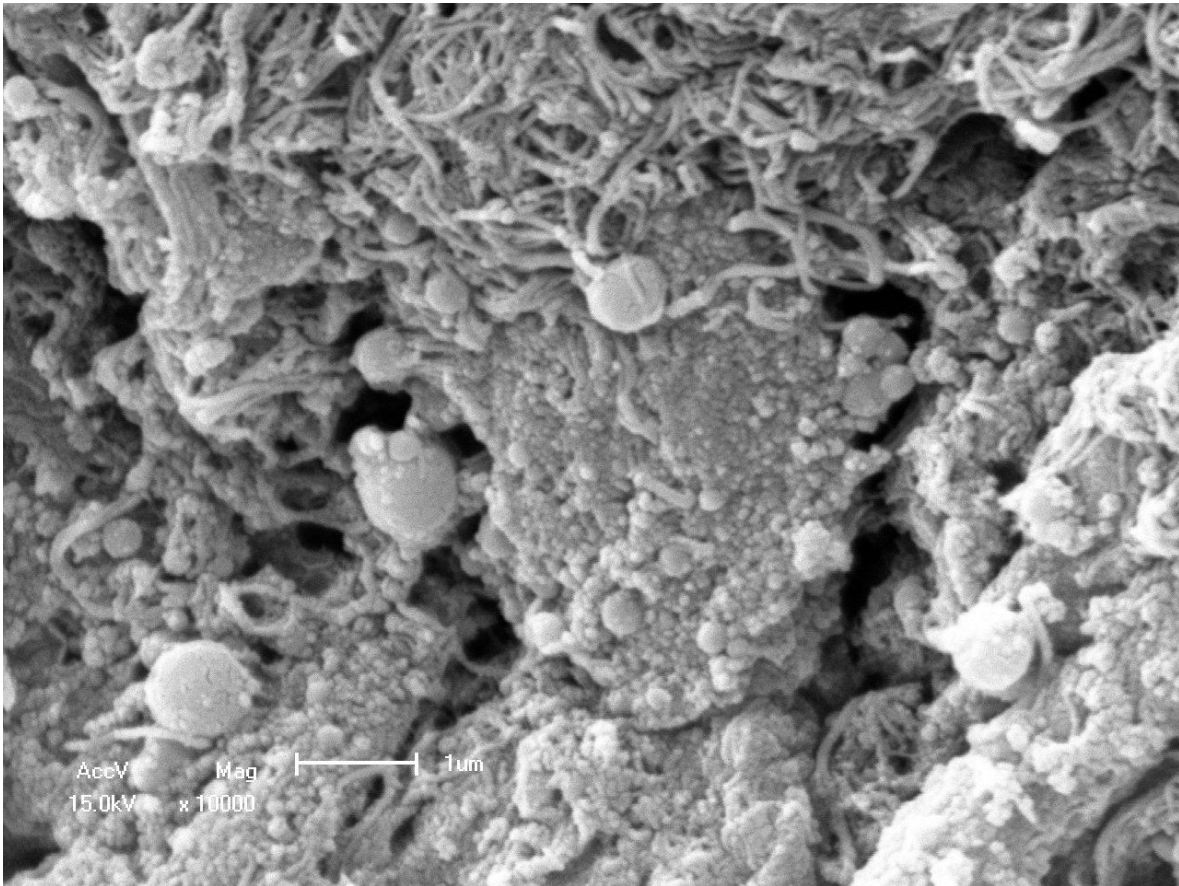


Figura 60 - Intensa degeneração focal do colágeno, com presença de células inflamatórias (MEV – 10.000x).

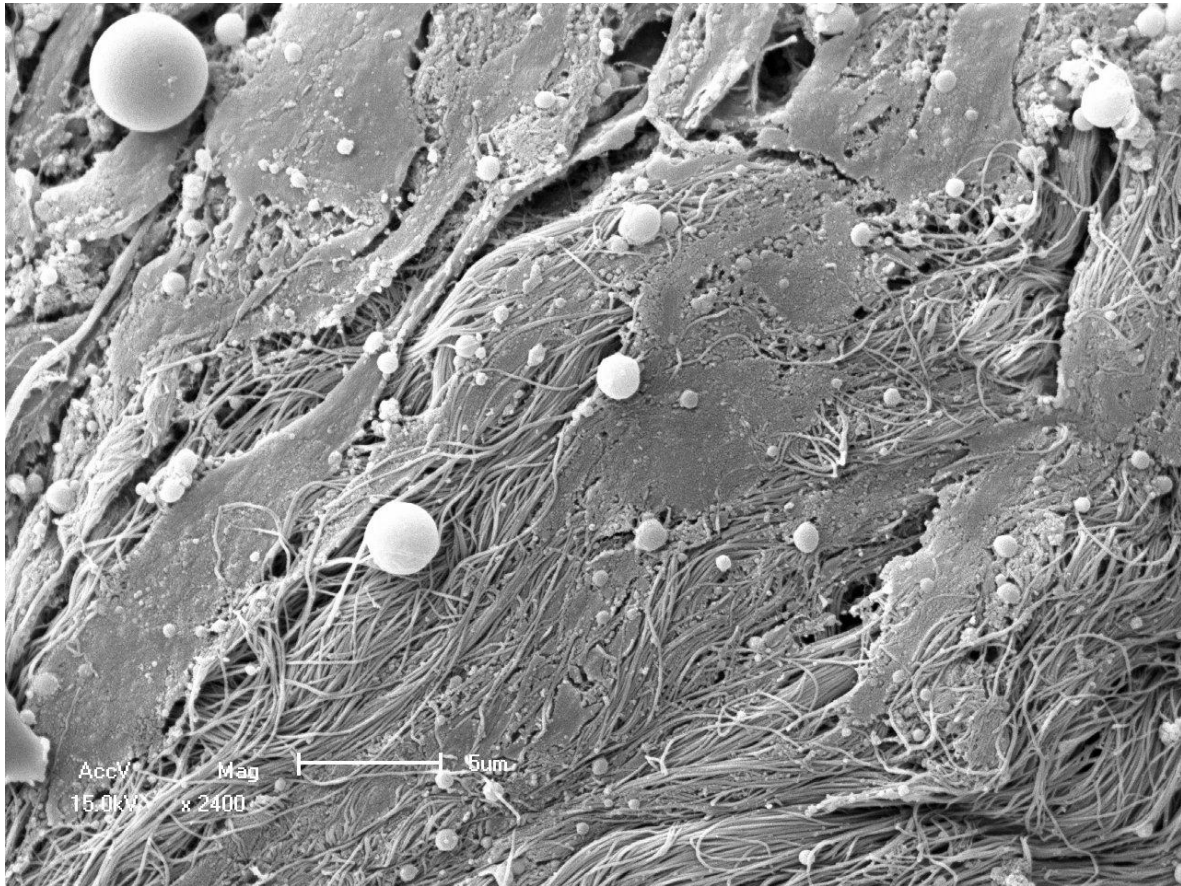


Figura 61 - Visão geral da degeneração focal do colágeno, com presença de células inflamatórias e áreas com fibras preservadas (MEV – 2.400x).

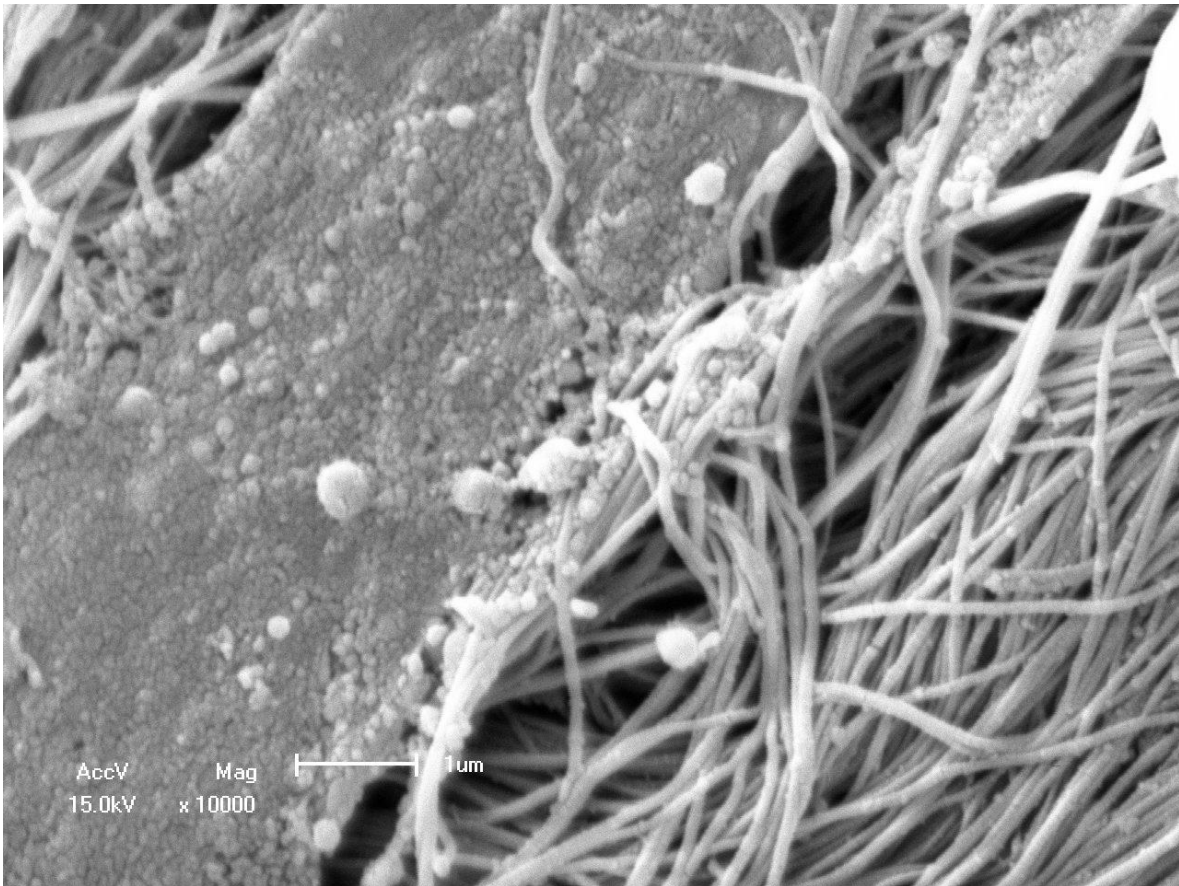


Figura 62 - Zona mostrando transição de colágeno degenerado (à esquerda) com fibras preservadas (à direita) (MEV – 10.000x).

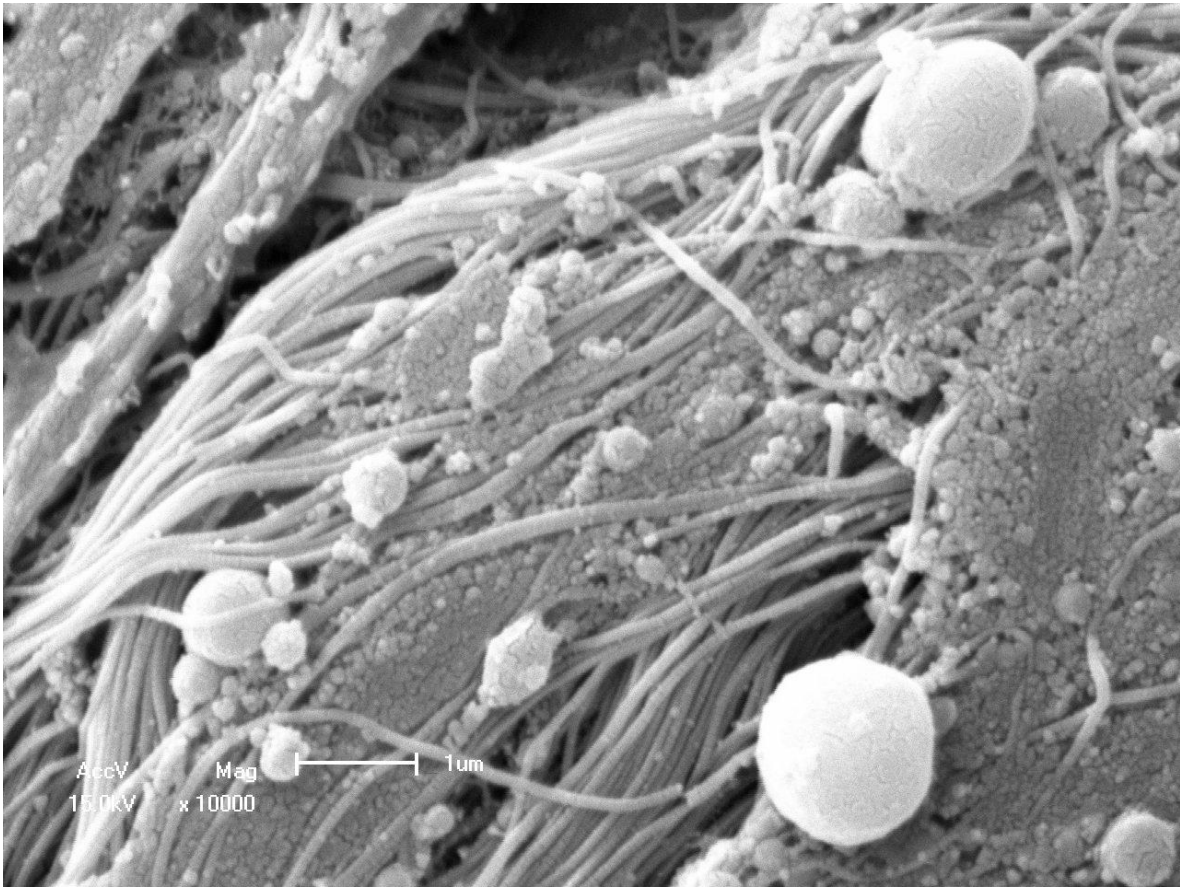


Figura 63 - Área demonstrando degeneração focal do colágeno, com presença de células inflamatórias e fibras colágenas isoladas (MEV – 10.000x).

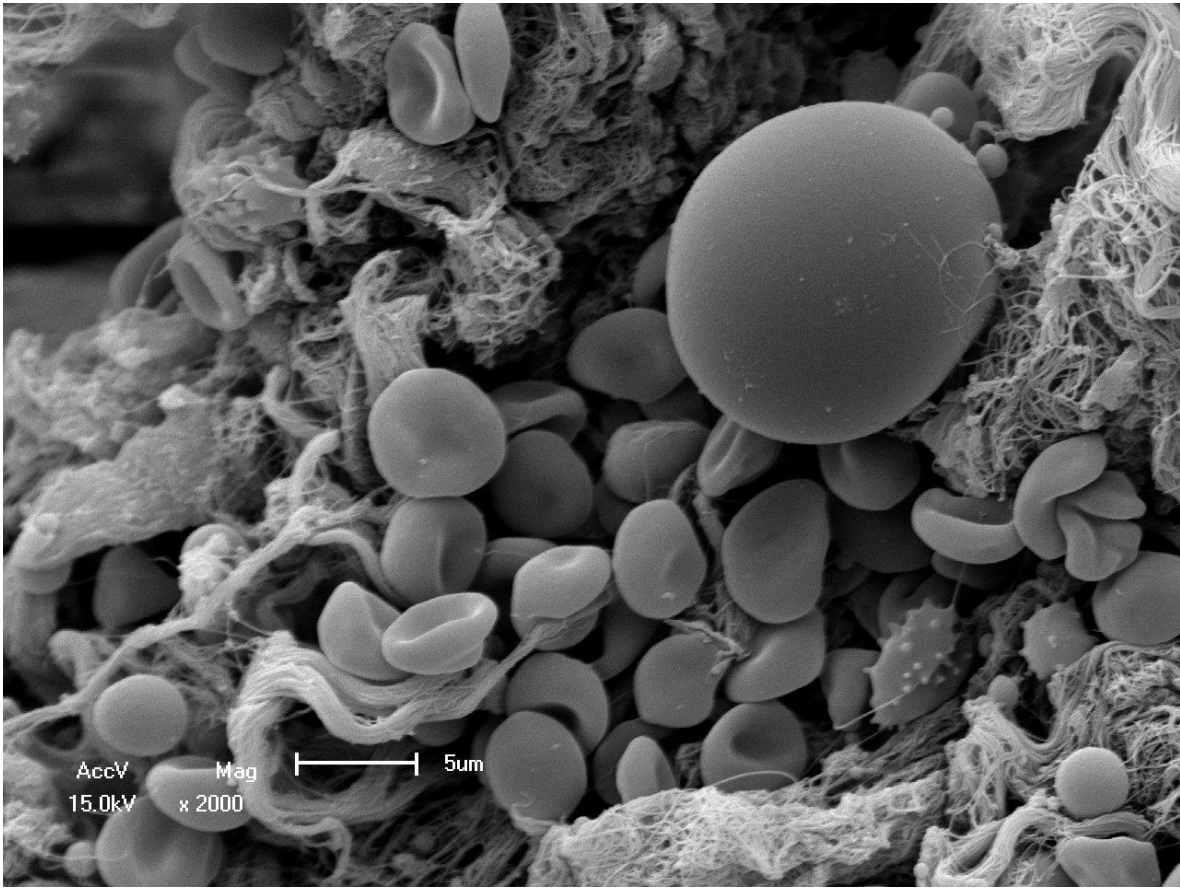


Figura 64 - Zona comparando o tamanho das hemácias e linfócito (MEV – 2.000x).

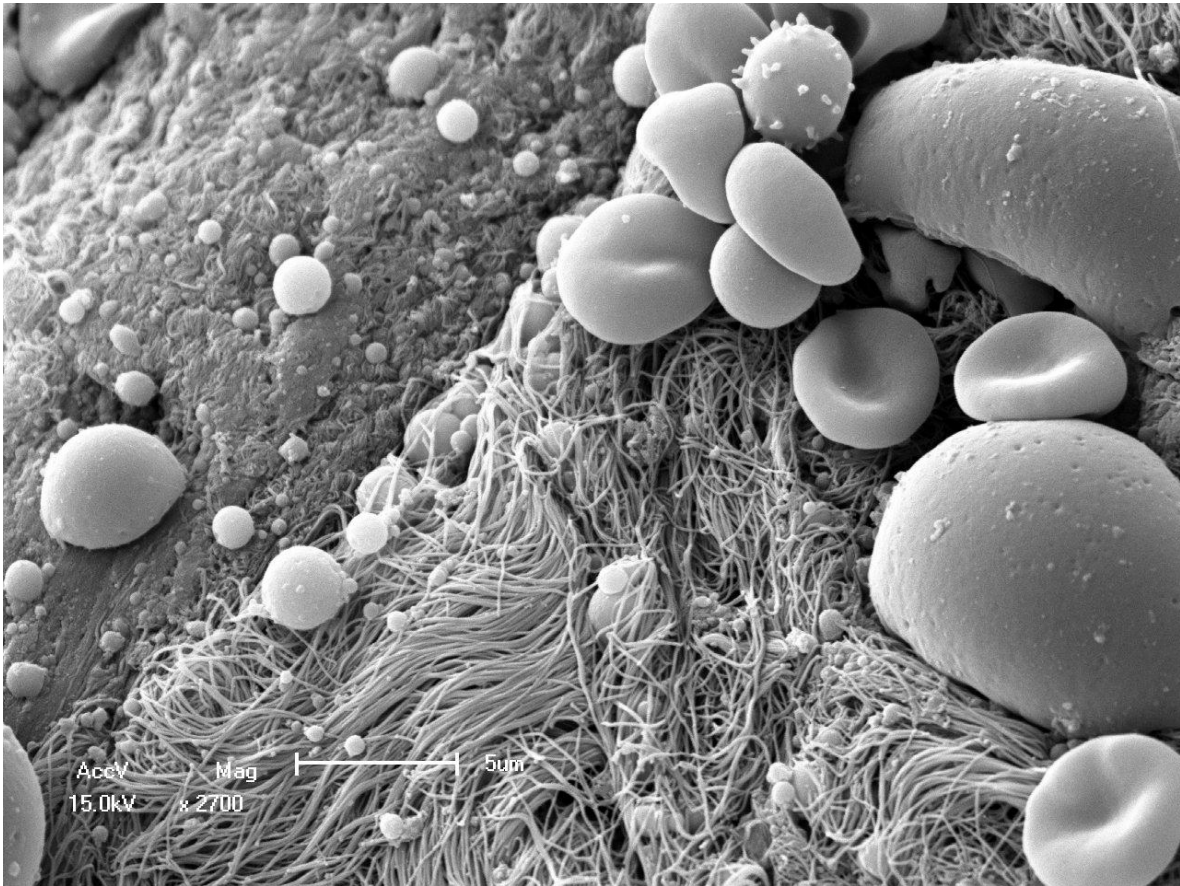


Figura 65 - Zona mostrando degeneração do colágeno com presença de células inflamatórias e fibras preservadas com algumas hemácias (MEV – 2.700x).

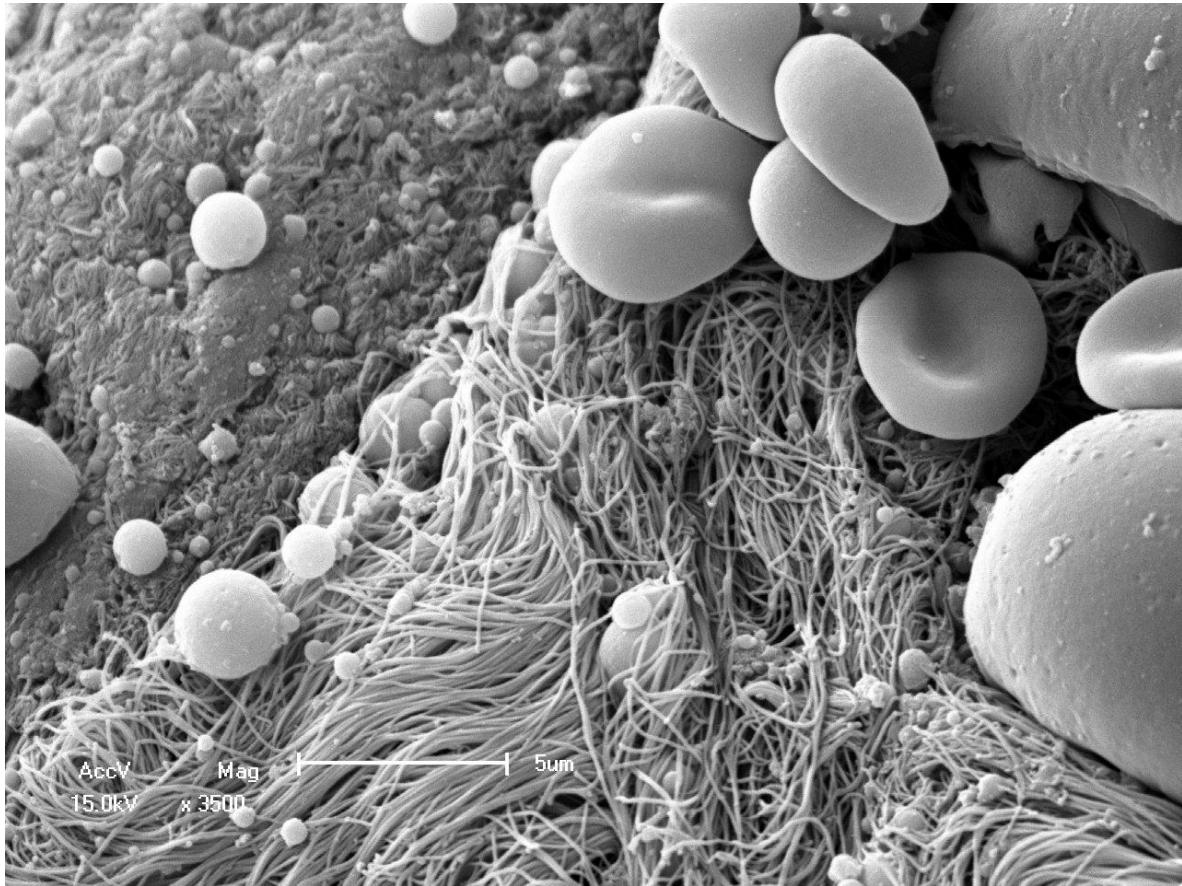


Figura 66 - Detalhe da figura anterior com degeneração focal do colágeno (canto superior esquerdo) e células inflamatórias (MEV – 3.500x).

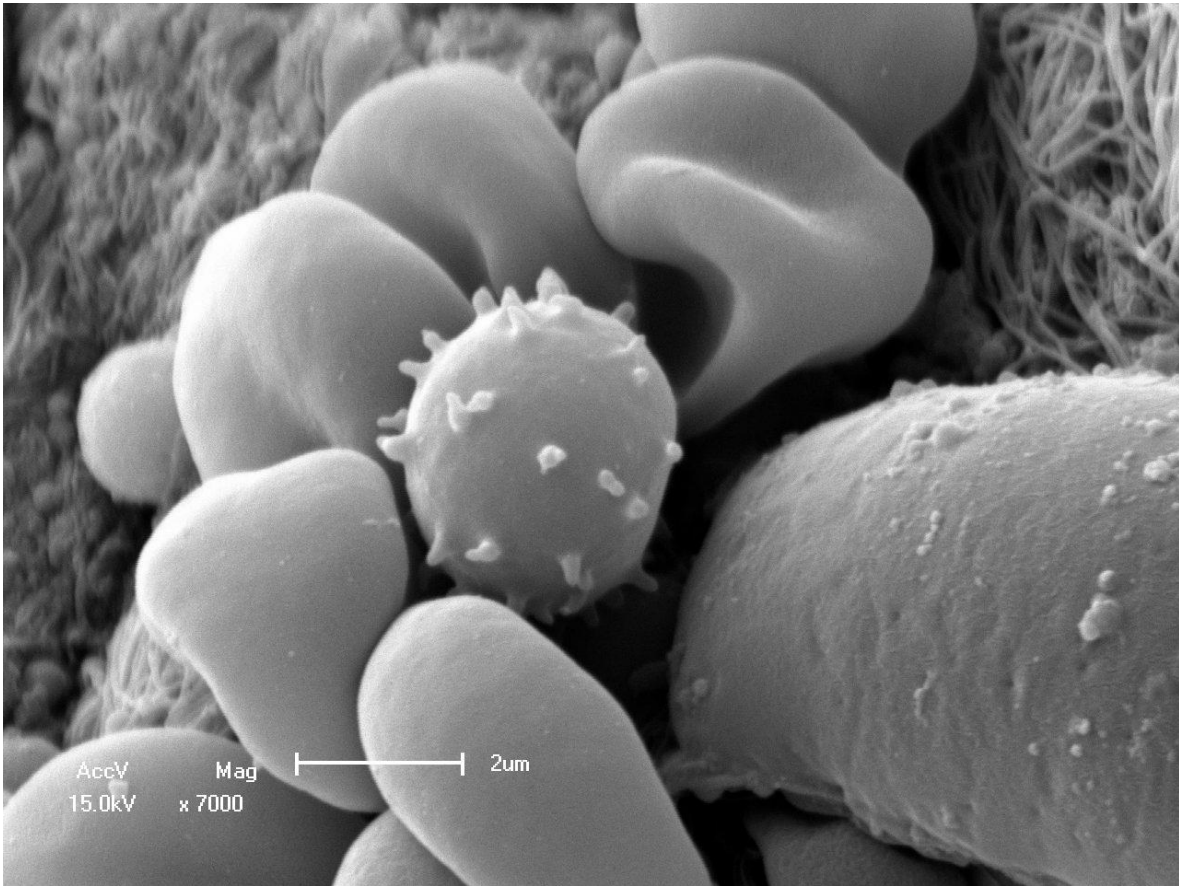


Figura 67 - Detalhe da figura anterior demonstrando célula com prováveis vesículas de secreção (MEV – 7.000x).

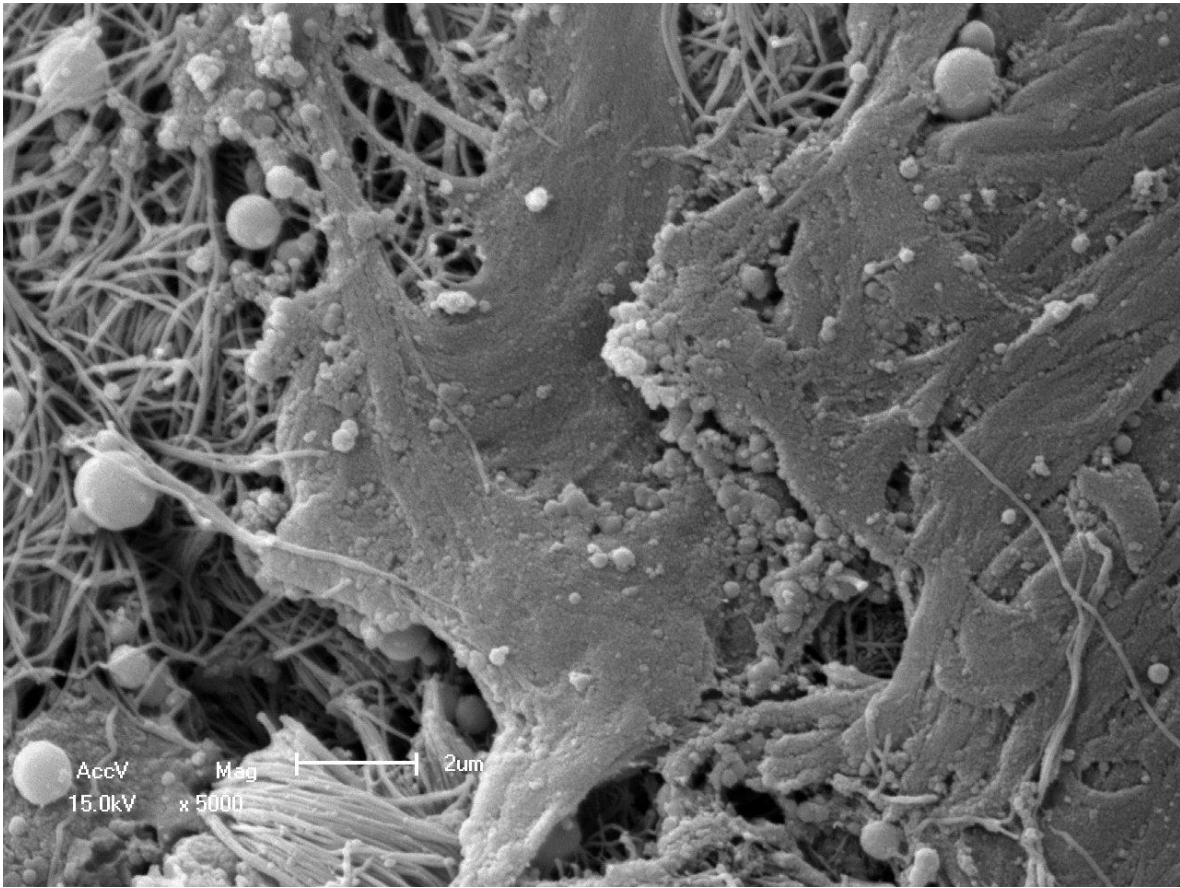


Figura 68 - Degeneração focal importante do colágeno com algumas fibras isoladas e células inflamatórias (MEV – 5.000x).

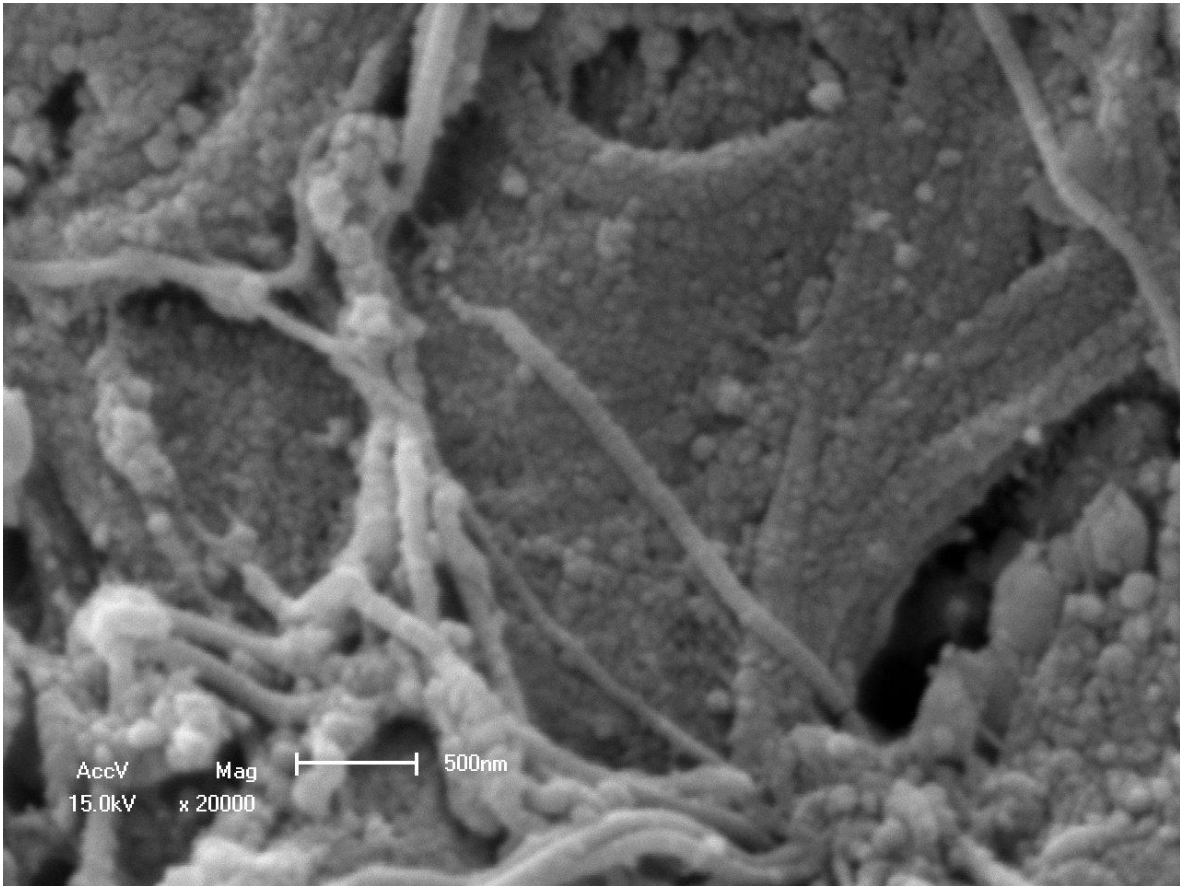


Figura 69 - Maior aumento exibindo degeneração do colágeno com algumas fibras isoladas interpostas (MEV – 20.000x).

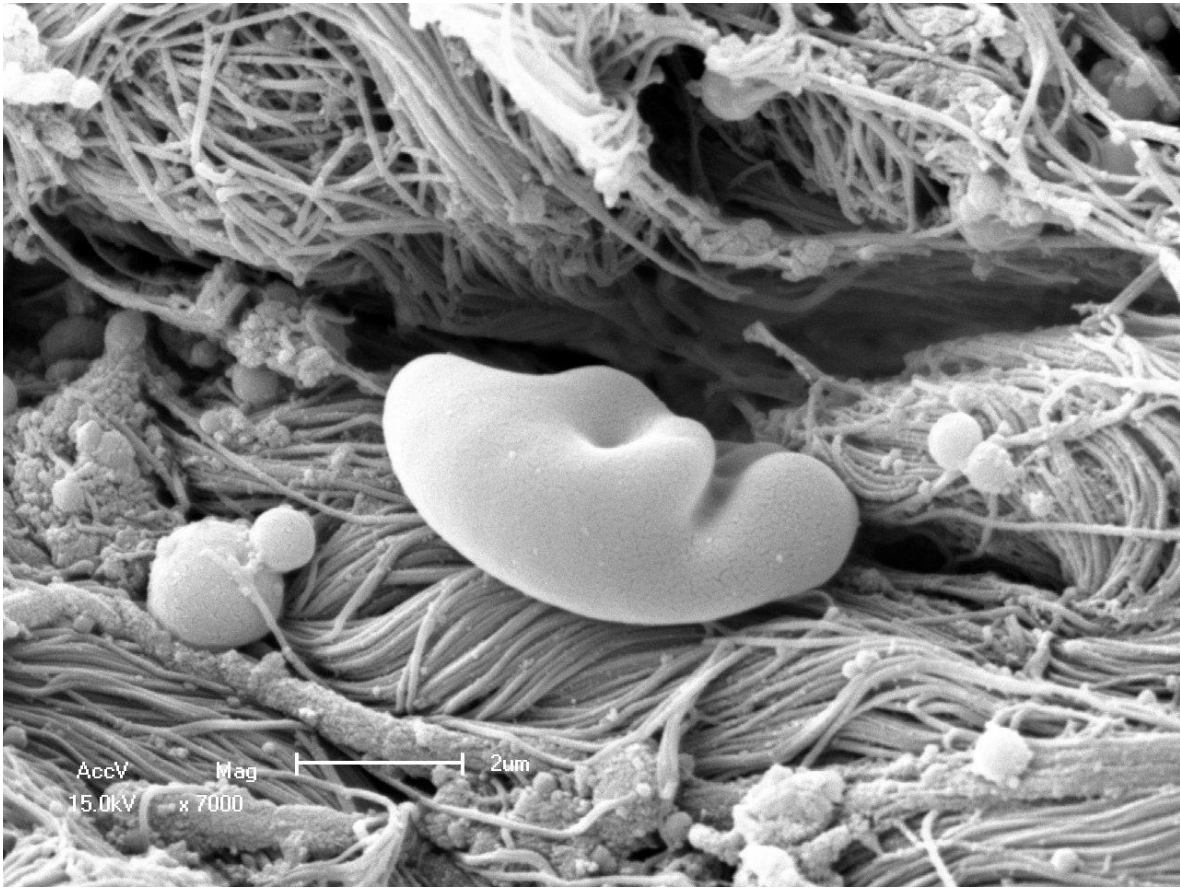


Figura 70 - Imagem demonstrando fibras colágenas em geral preservadas, com células inflamatórias e destaque para macrófago central (MEV – 7.000x).

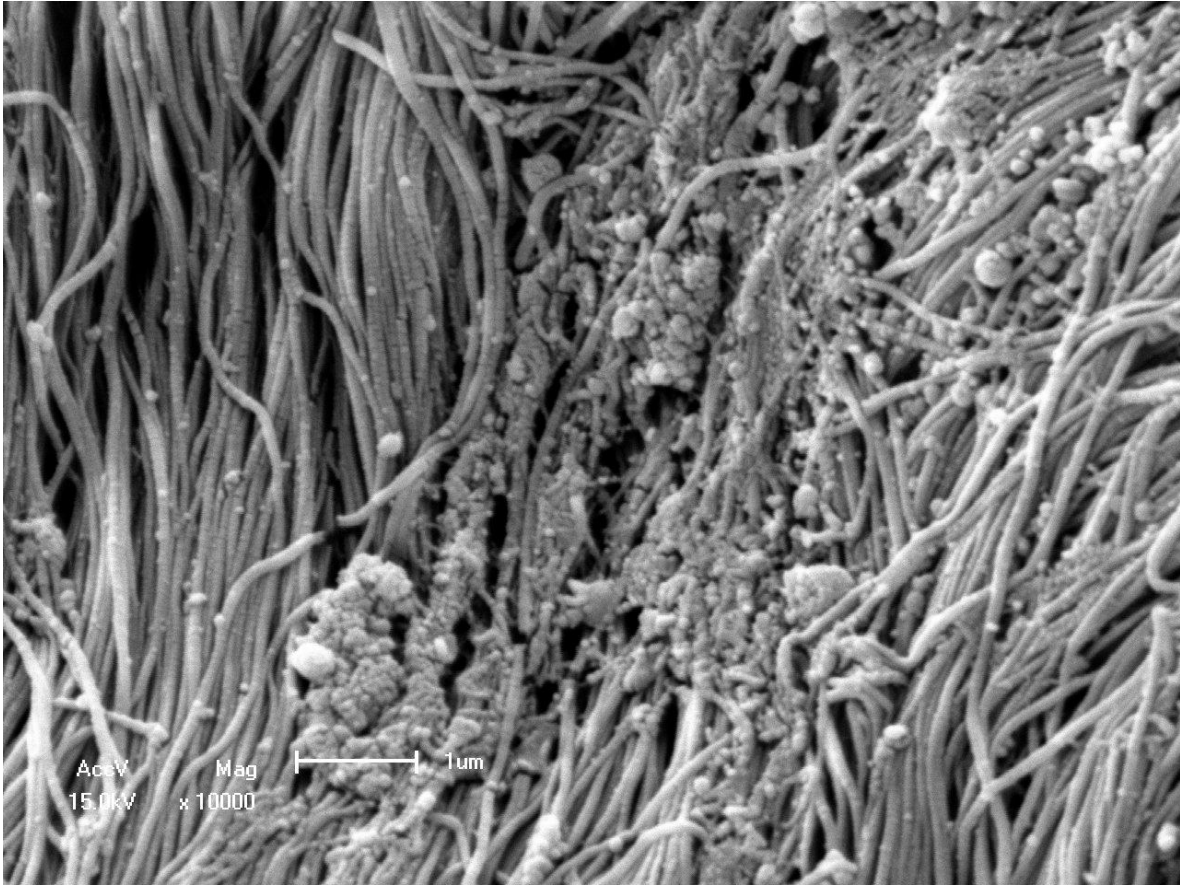


Figura 71 - Área mostrando alternância de fibras colágenas preservadas com zona degenerada central (MEV – 10.000x).

9.4. Relato do caso de Granuloma Anular 2

Uma paciente feminina de 48 anos refere que há seis meses apresenta placa assintomática no dorso da mão direita, a qual tem os bordos eritematosos e bem demarcados.

9.4.1. Aspectos Clínicos

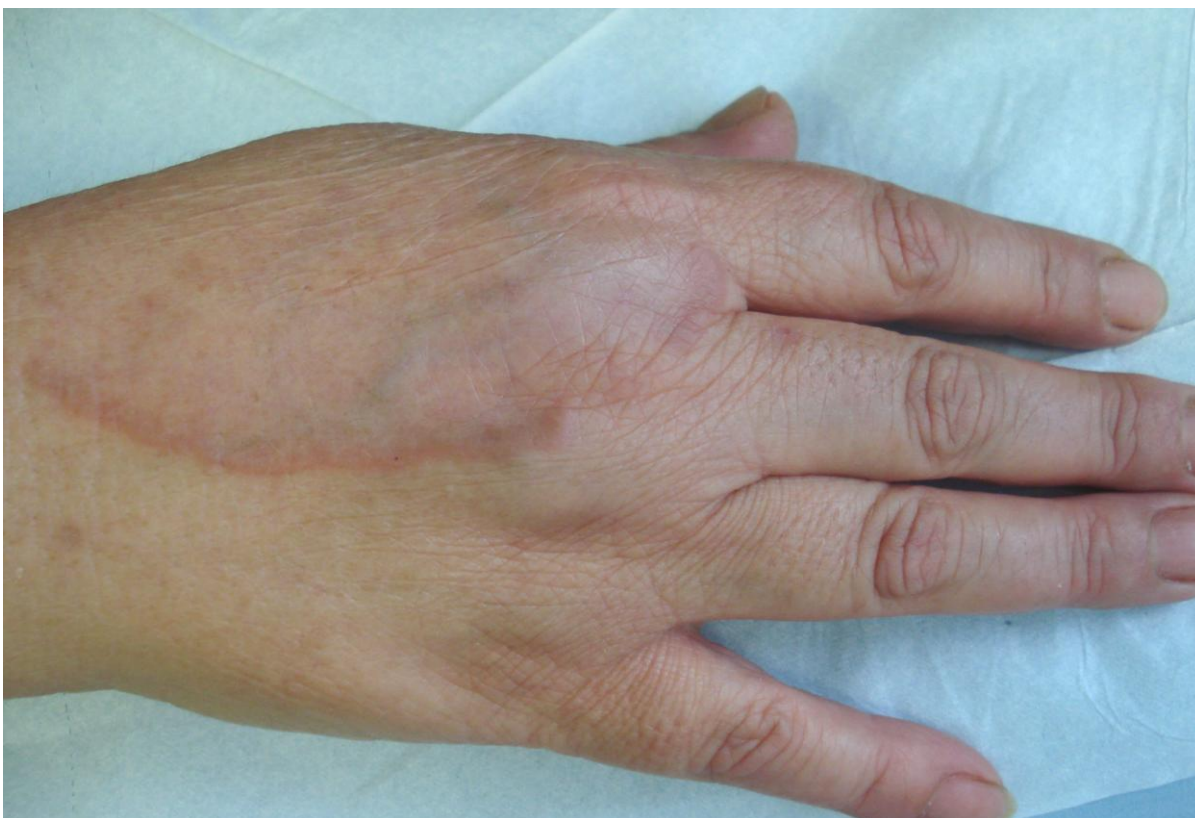


Figura 72 – Lesão anular eritematosa em dorso da mão direita.

9.4.2. Microscopia óptica

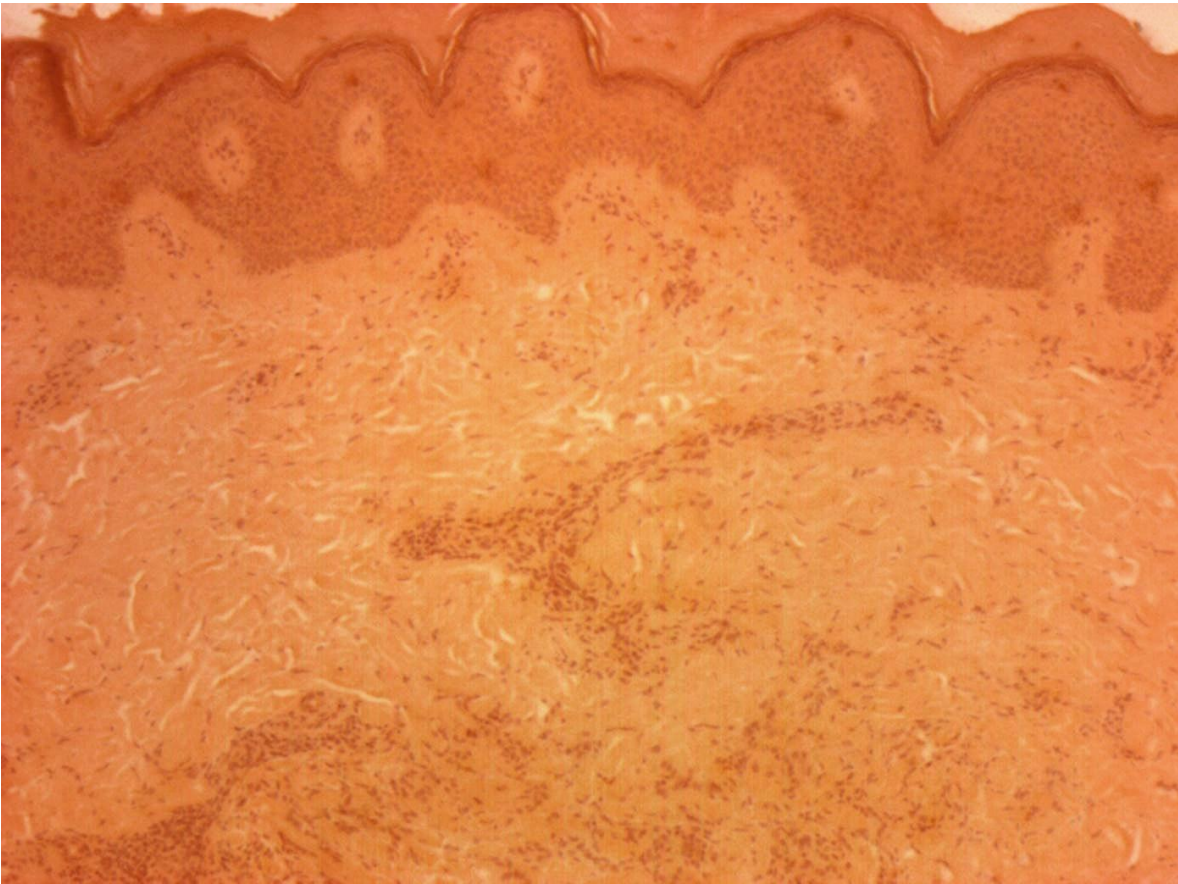


Figura 73 - Infiltrado inflamatório linfo-histiocitário dérmico (HE – 100x).

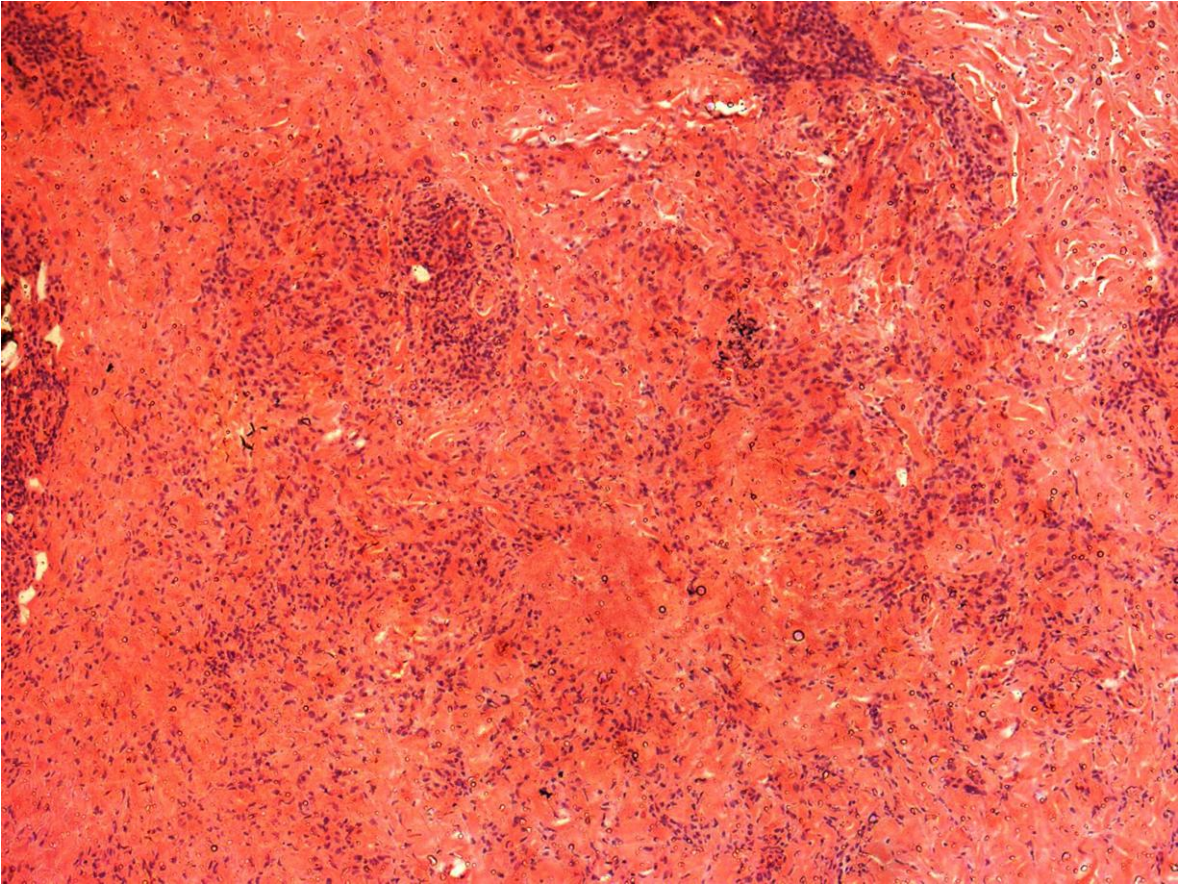


Figura 74 - Infiltrado inflamatório dérmico associado a homogeneização de fibras colágenas (HE – 100x).

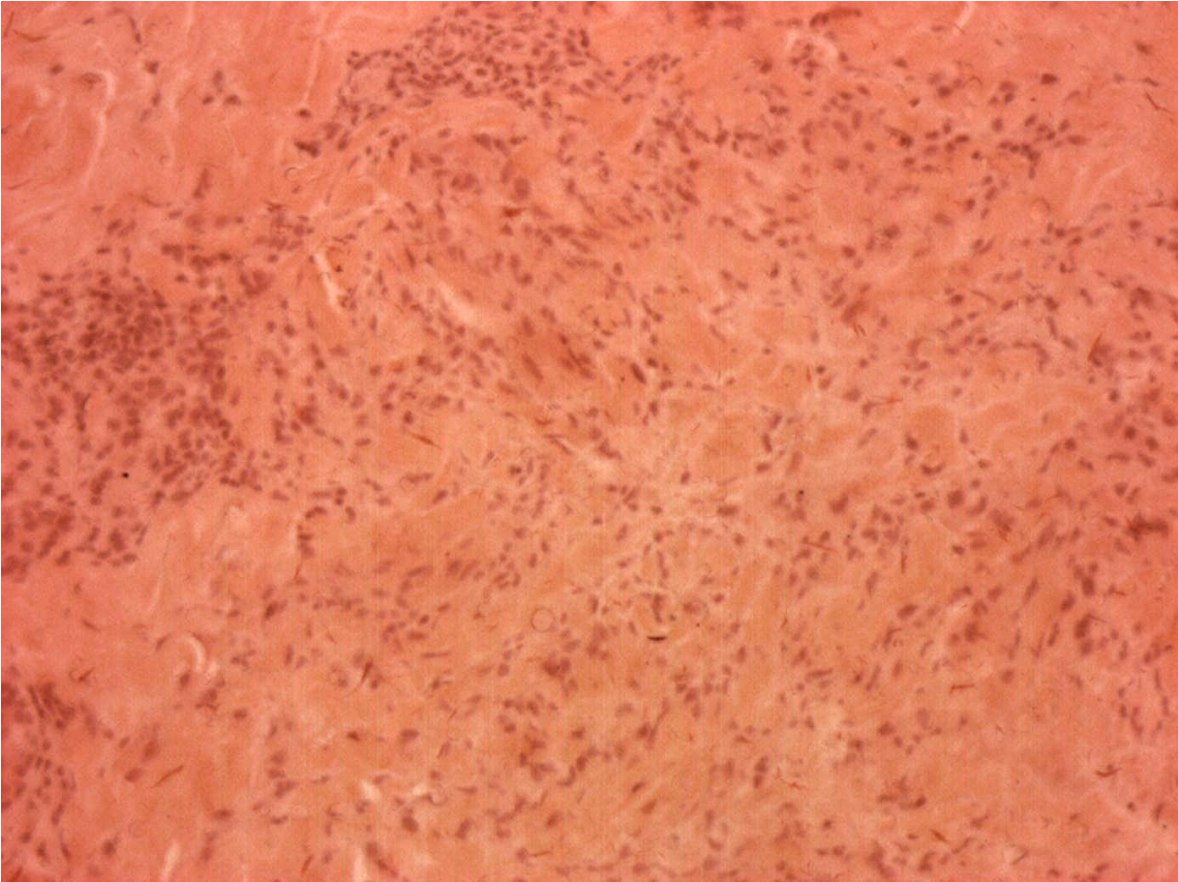


Figura 75 - Maior aumento mostrando infiltrado inflamatório linfocitário em zona com fibras colágenas degeneradas (HE – 400x).

9.4.3. Microscopia Eletrônica de Varredura

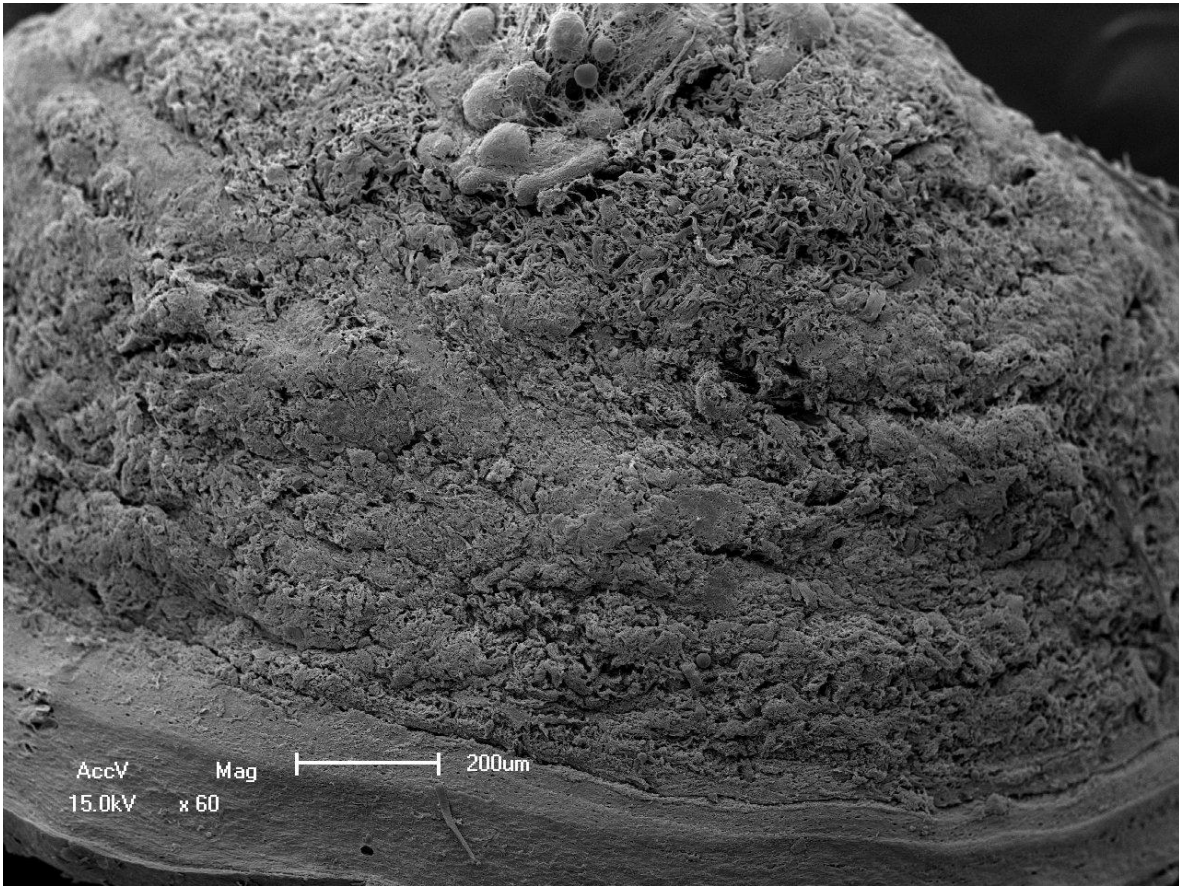


Figura 76 - Visão panorâmica do fragmento analisado (MEV – 60x).



Figura 77 - Visão geral de área exibindo colágeno com boa preservação de fibras e feixes (MEV – 1.500x).

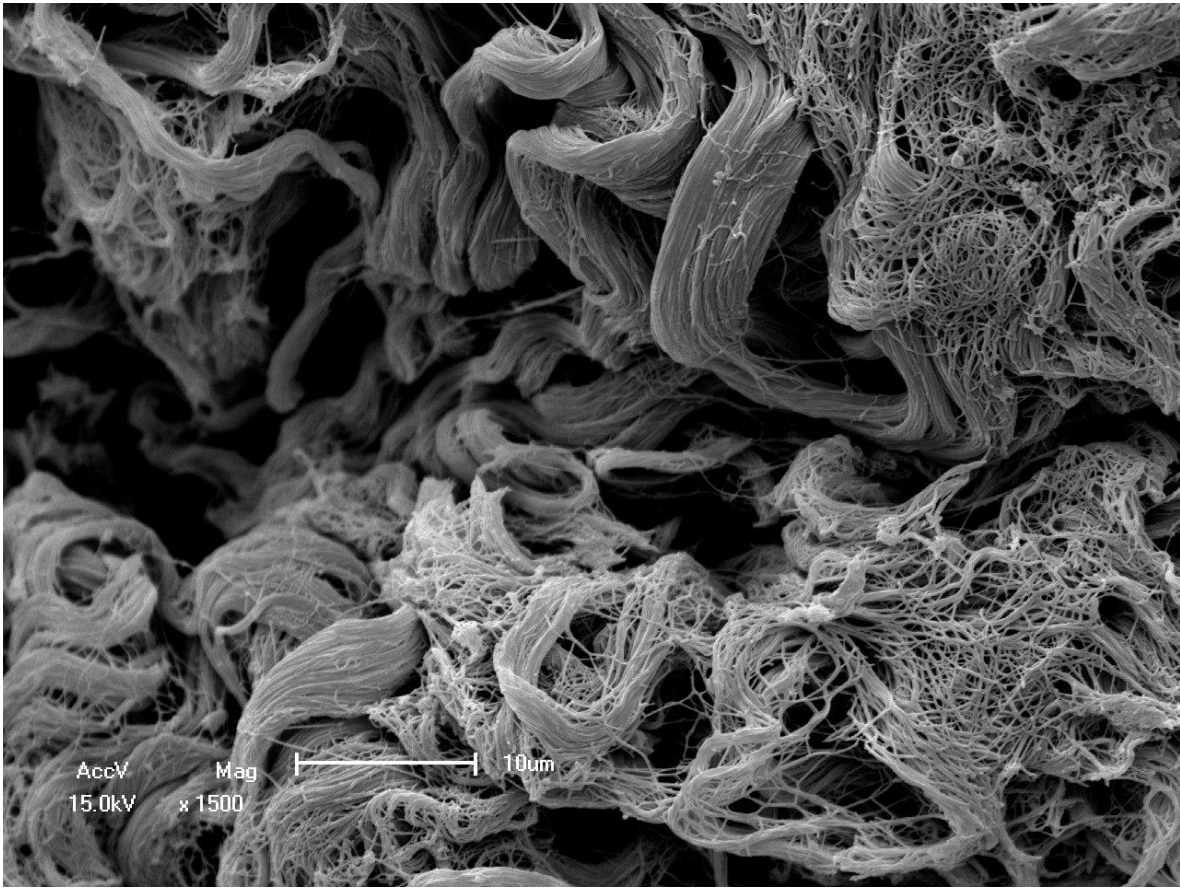


Figura 78 - Visão geral de área exibindo colágeno com boa preservação de fibras (MEV – 1.500x).

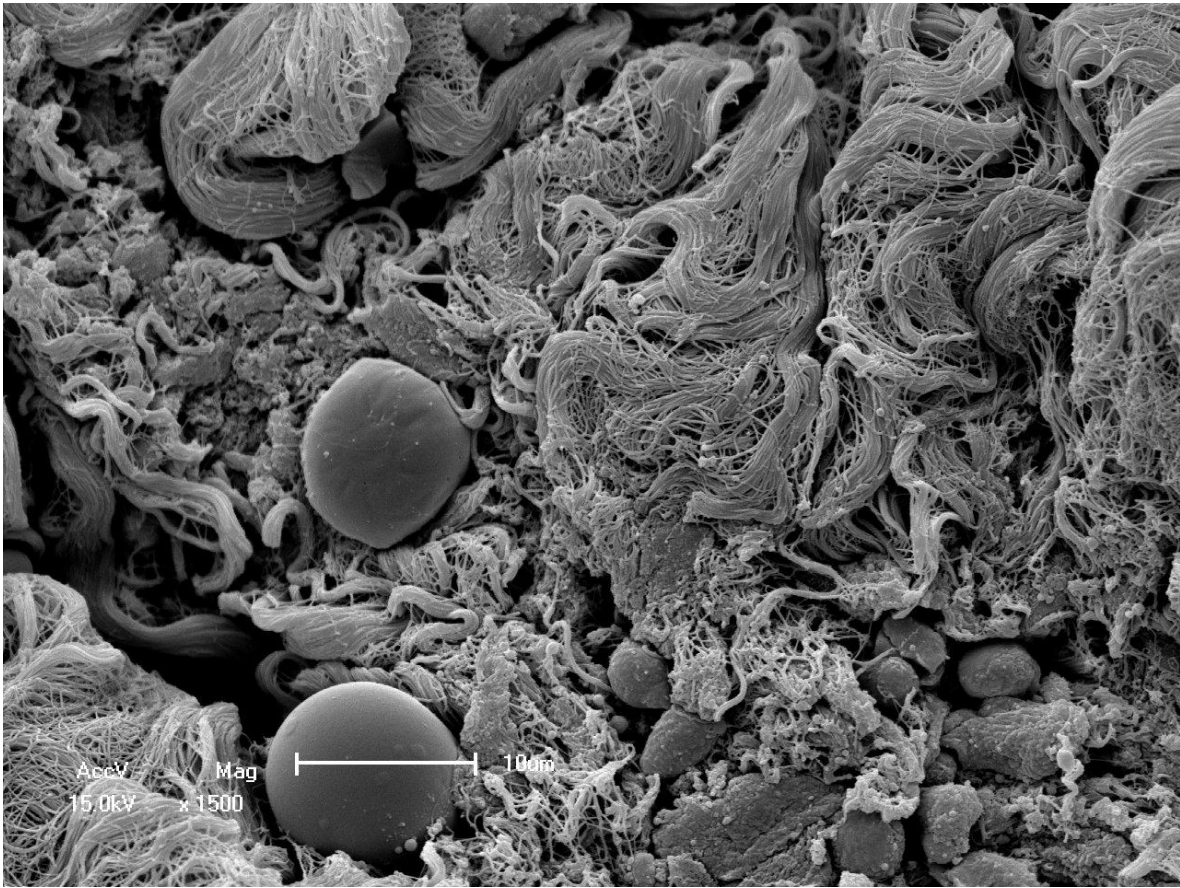


Figura 79 - Visão geral de área exibindo células inflamatórias em colágeno com boa preservação de fibras (MEV – 1.500x).

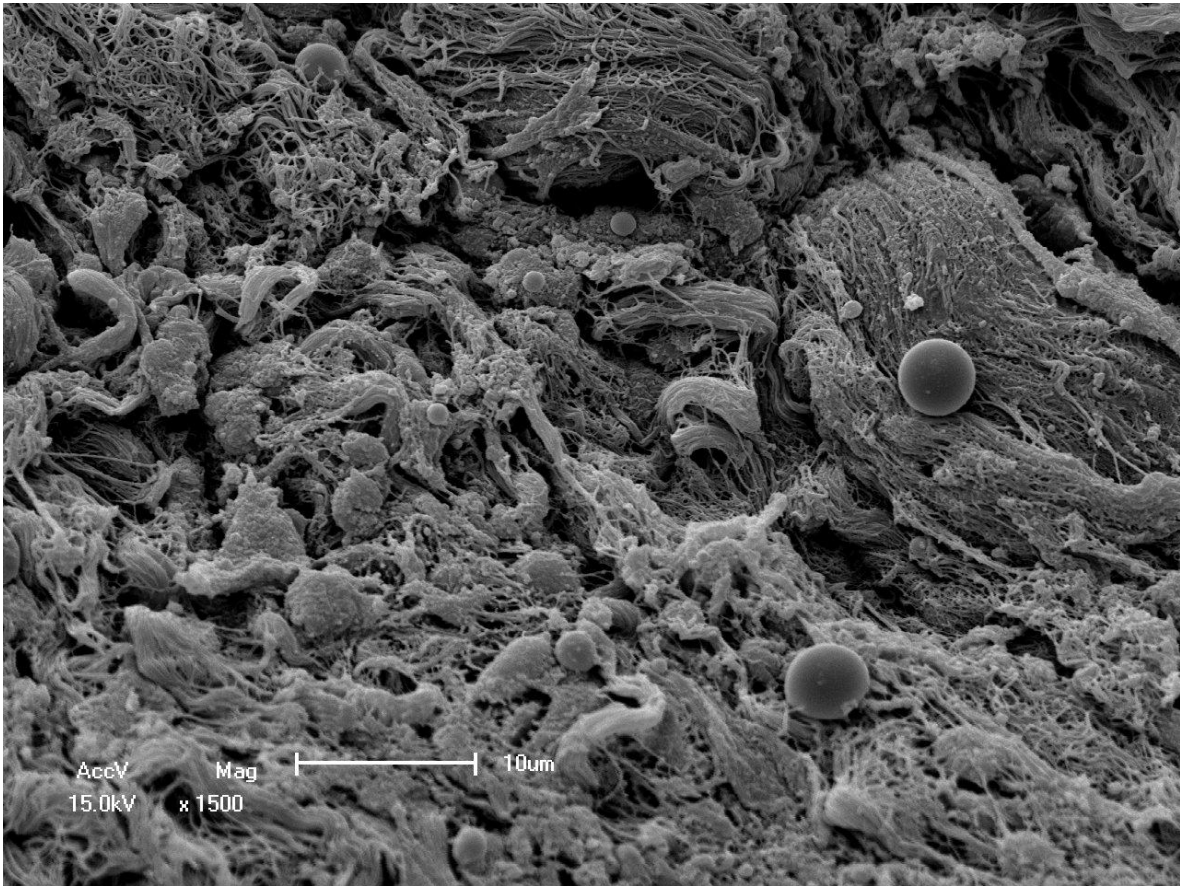


Figura 80 - Visão geral de área exibindo colágeno degenerado com presença de células inflamatórias (MEV – 1.500x).

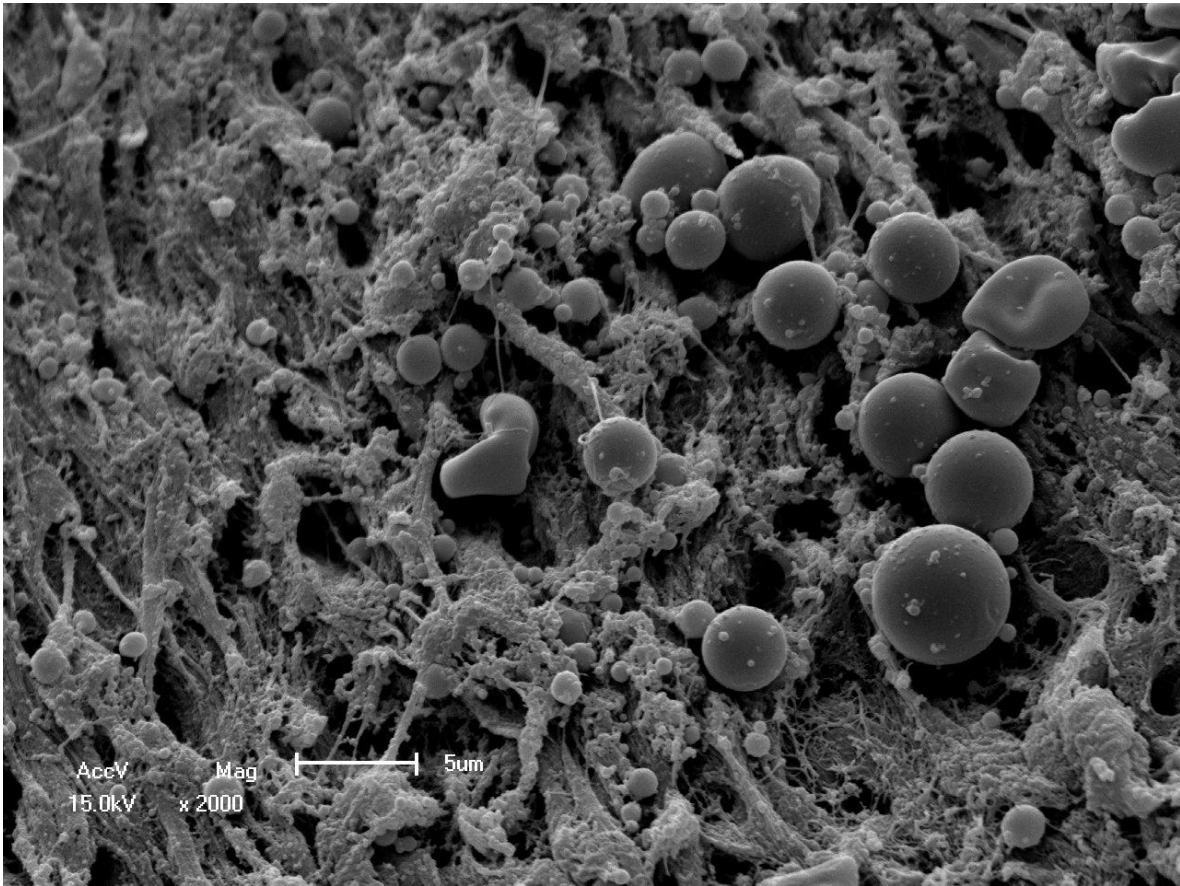


Figura 81 - Visão geral de área exibindo colágeno degenerado com marcada presença de células inflamatórias (MEV – 2.000x).

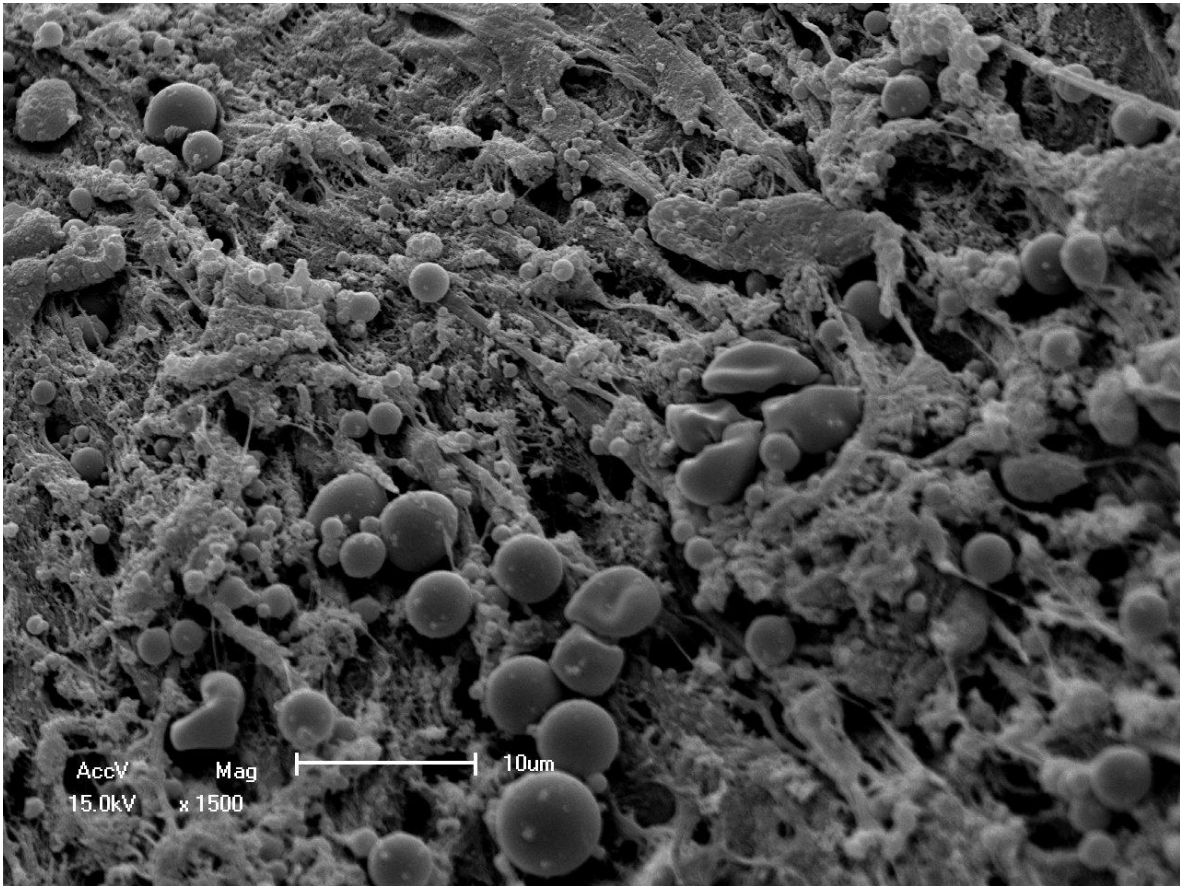


Figura 82 - Visão panorâmica de área exibindo colágeno degenerado com marcado infiltrado inflamatório linfo-histiocitário (MEV – 1.500x).

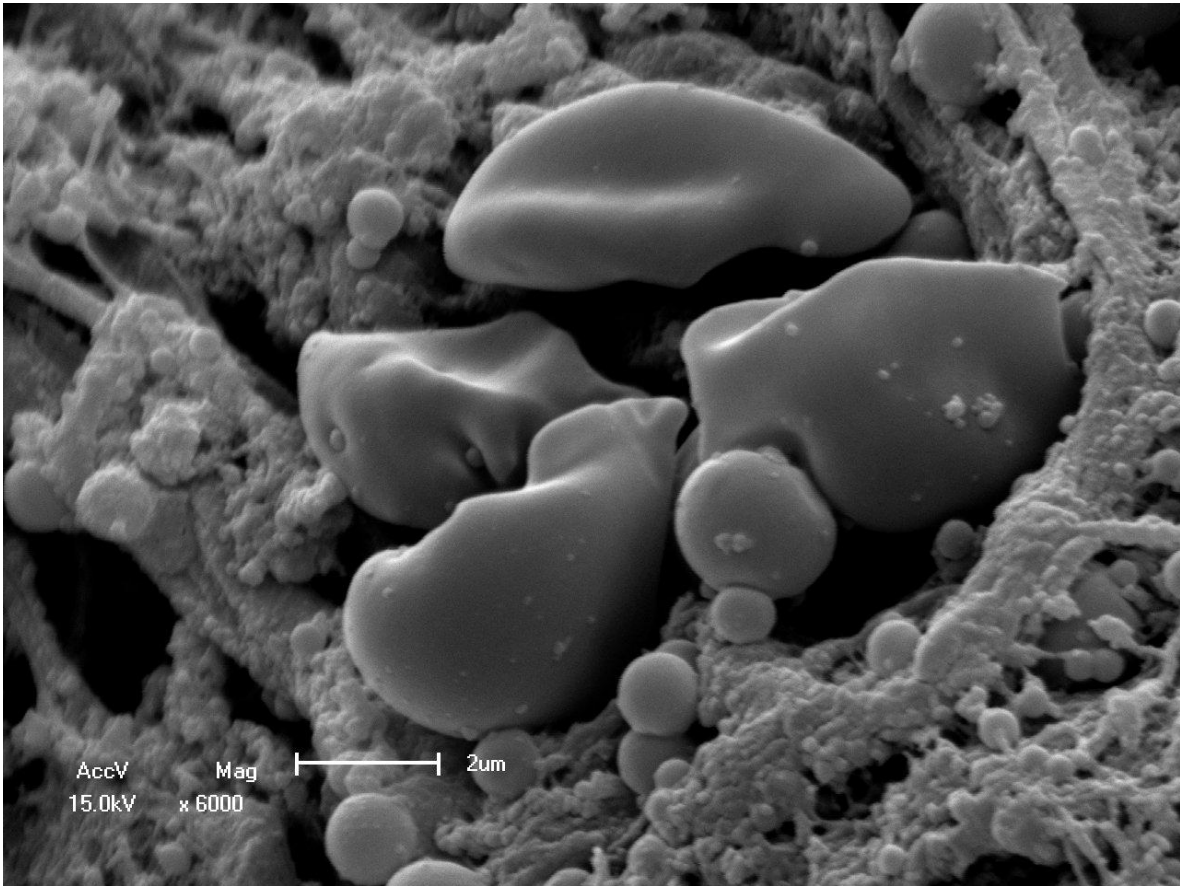


Figura 83 - Detalhe da figura anterior com coleção de macrófagos e linfócitos em meio a colágeno degenerado (MEV – 6.000x).

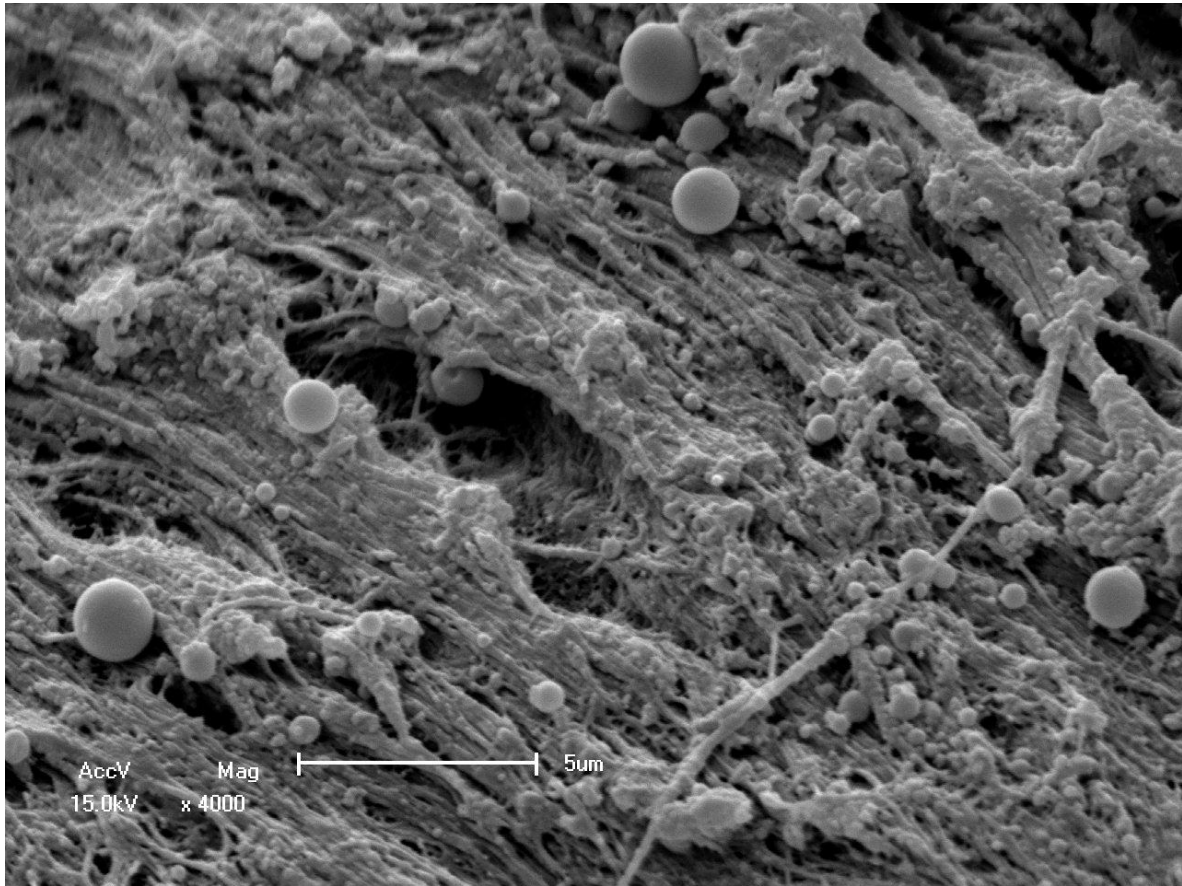


Figura 84 - Extensa área exibindo colágeno degenerado com algumas células inflamatórias (MEV – 4.000x).

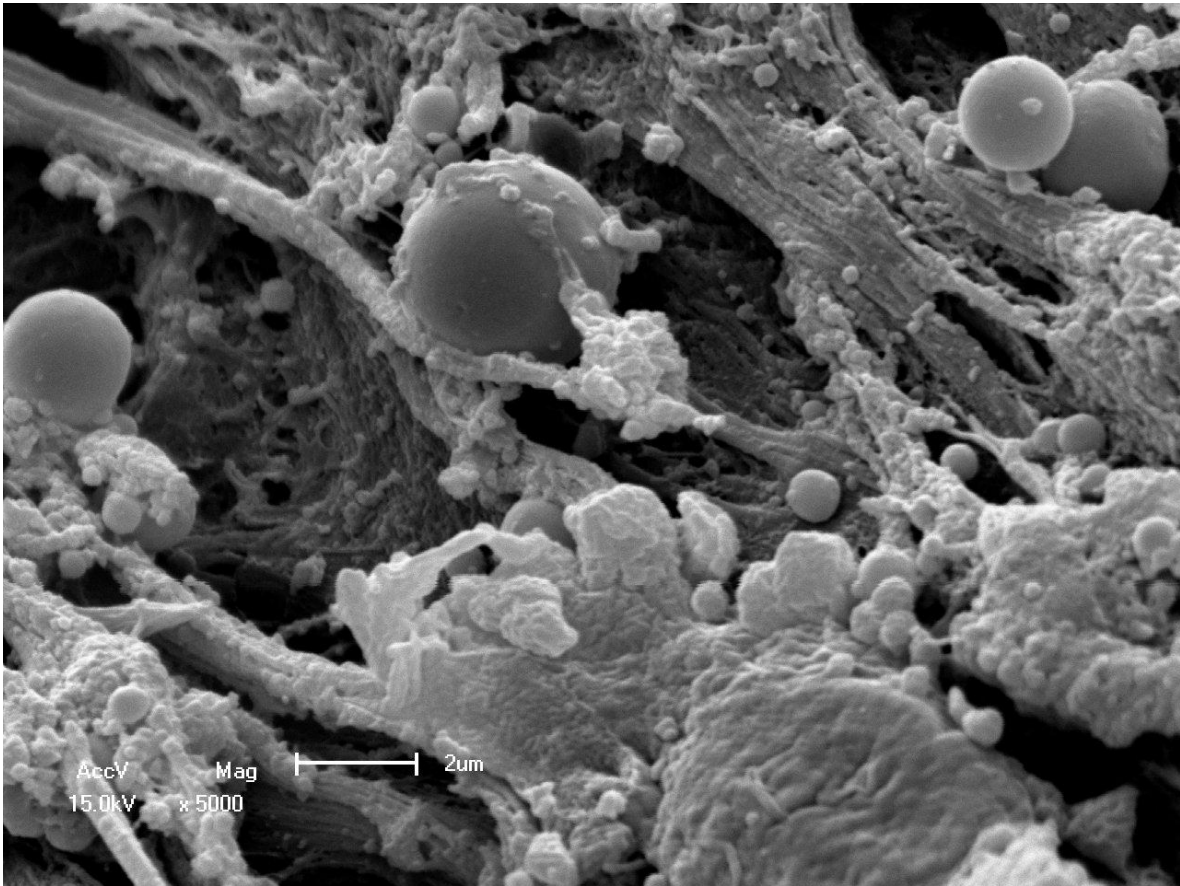


Figura 85 - Zona ampliada exibindo colágeno degenerado com presença de células inflamatórias (MEV – 5.000x).

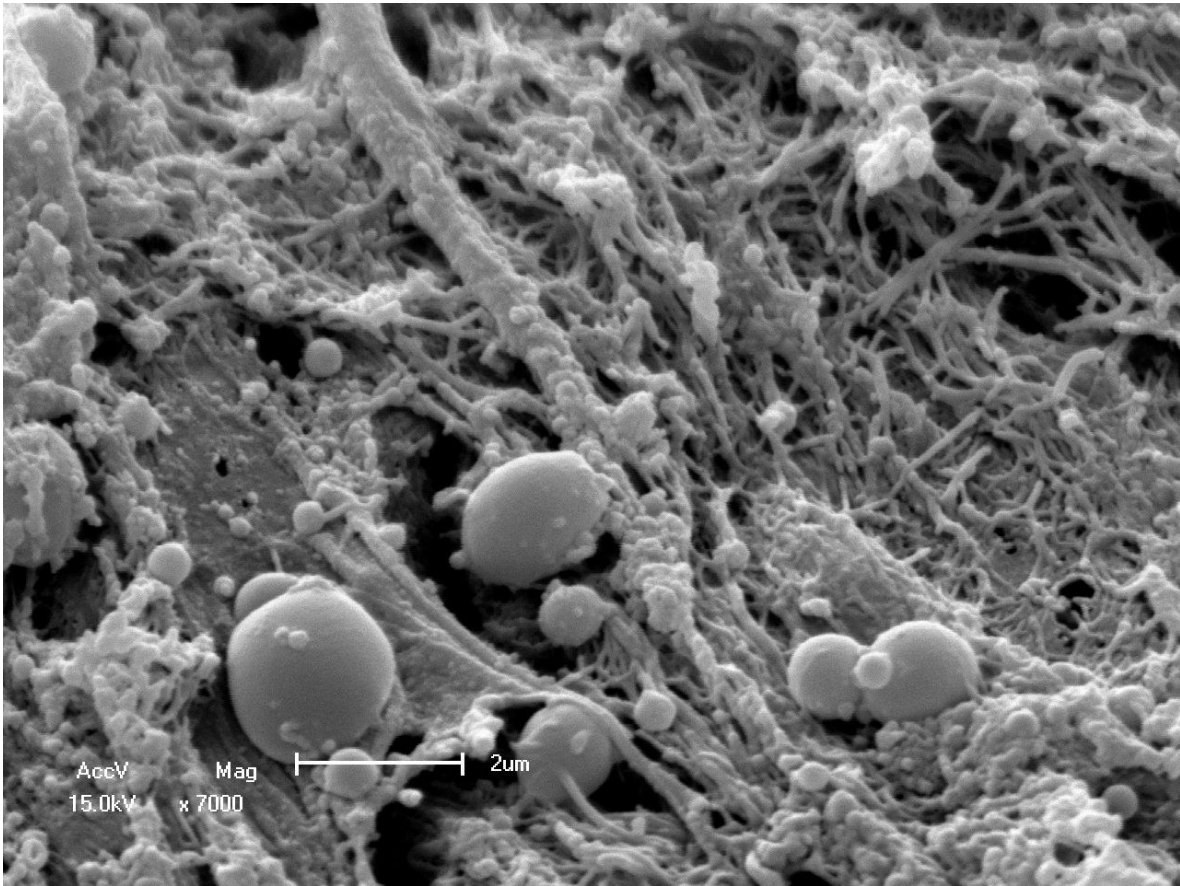


Figura 86 - Zona mostrando colágeno degenerado com presença de células inflamatórias (MEV – 7.000x).

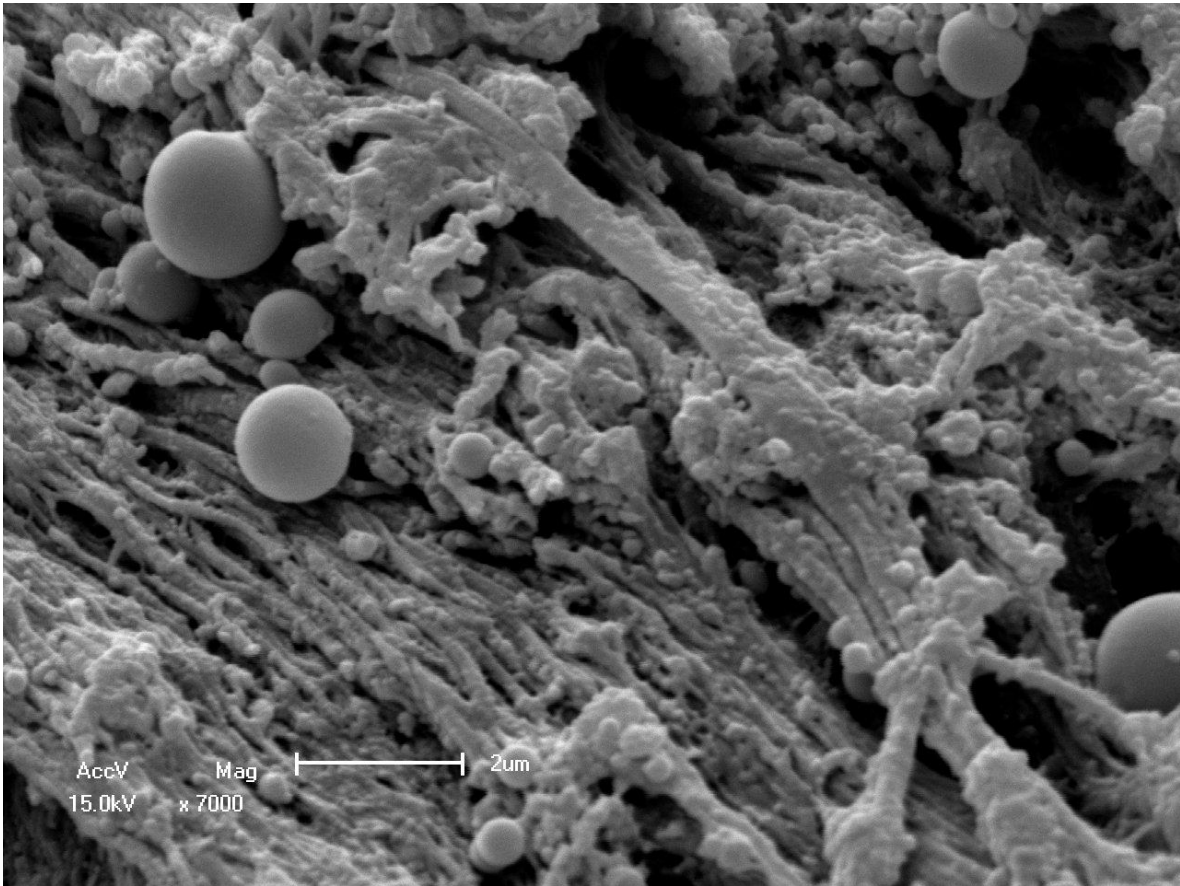


Figura 87 - Outra área exibindo colágeno degenerado com presença de células inflamatórias (MEV – 7.000x).

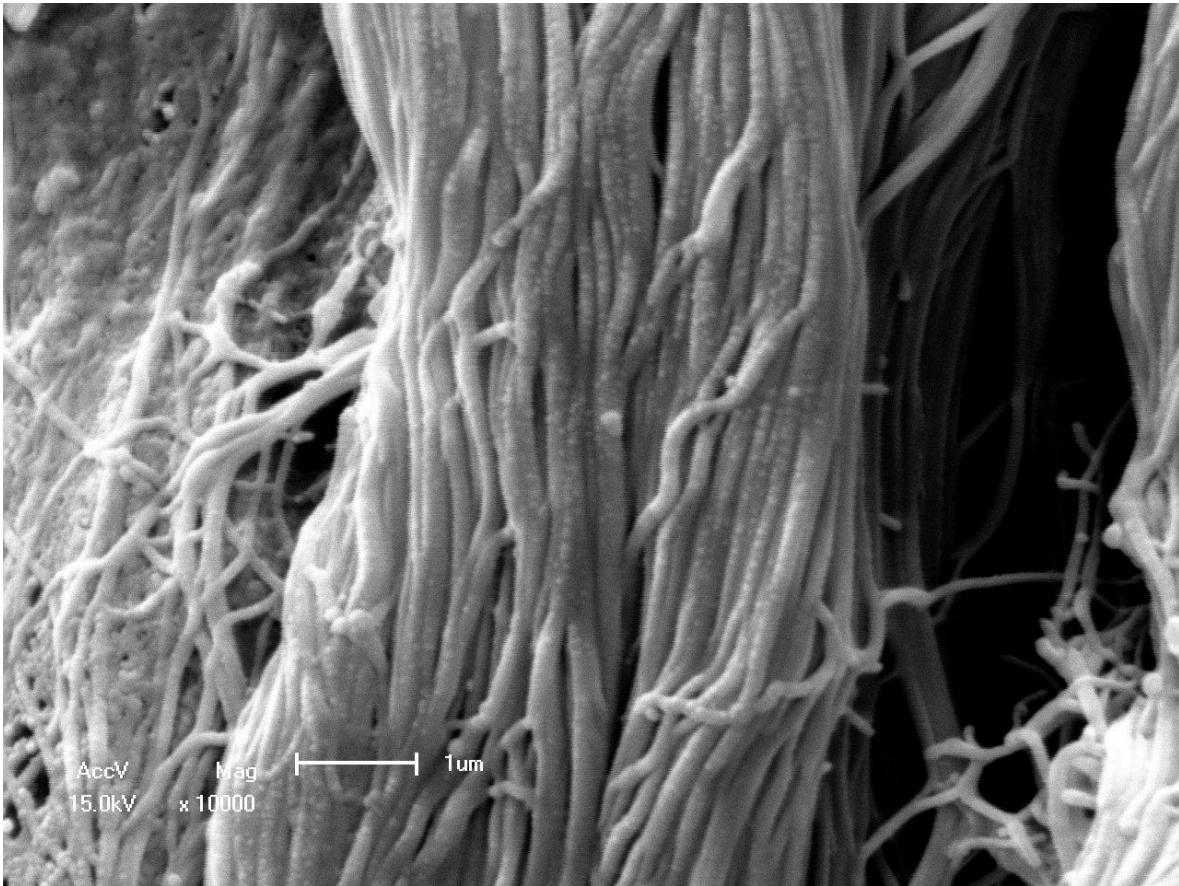


Figura 88 - Área mostrando colágeno degenerado à esquerda, marginando fibras colágenas preservadas (MEV – 10.000x).

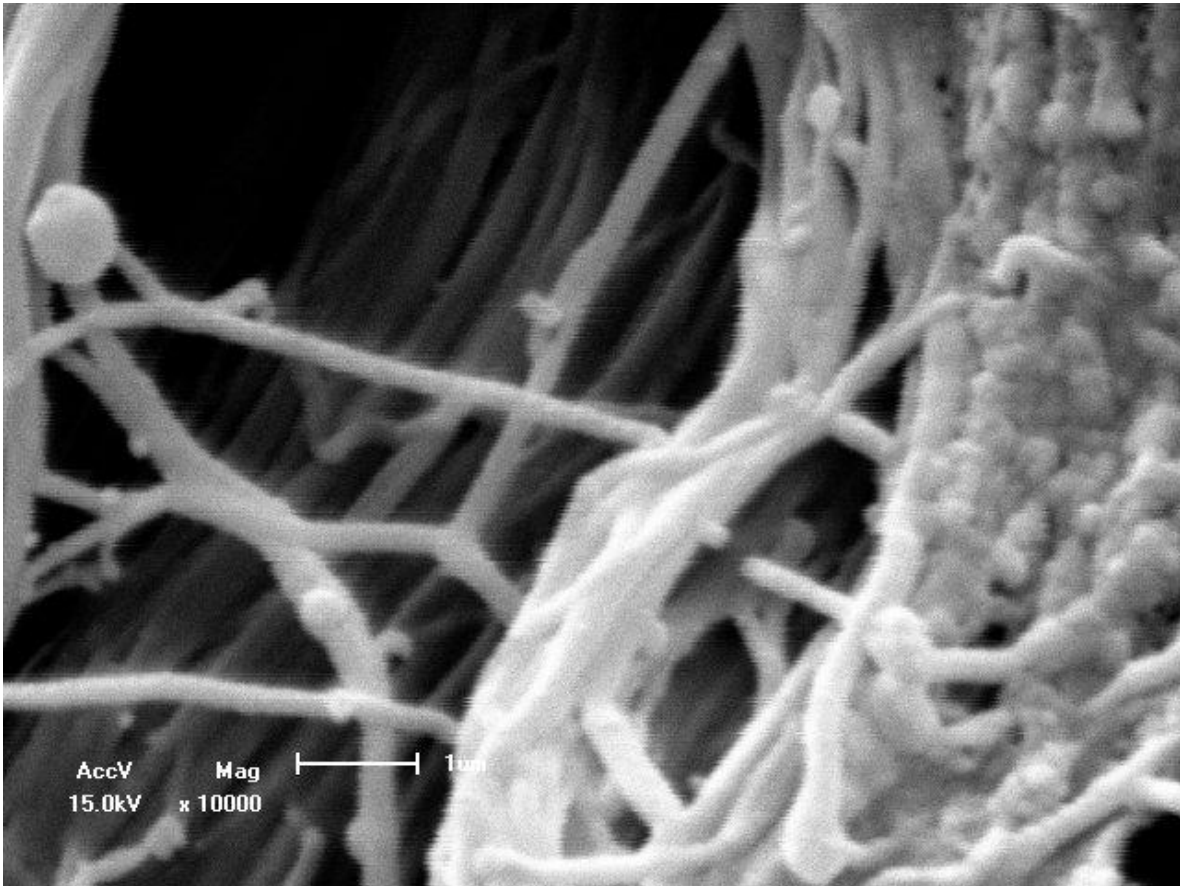


Figura 89 - Zona exibindo colágeno degenerado à direita e presença de fibras isoladas (MEV – 10.000x).

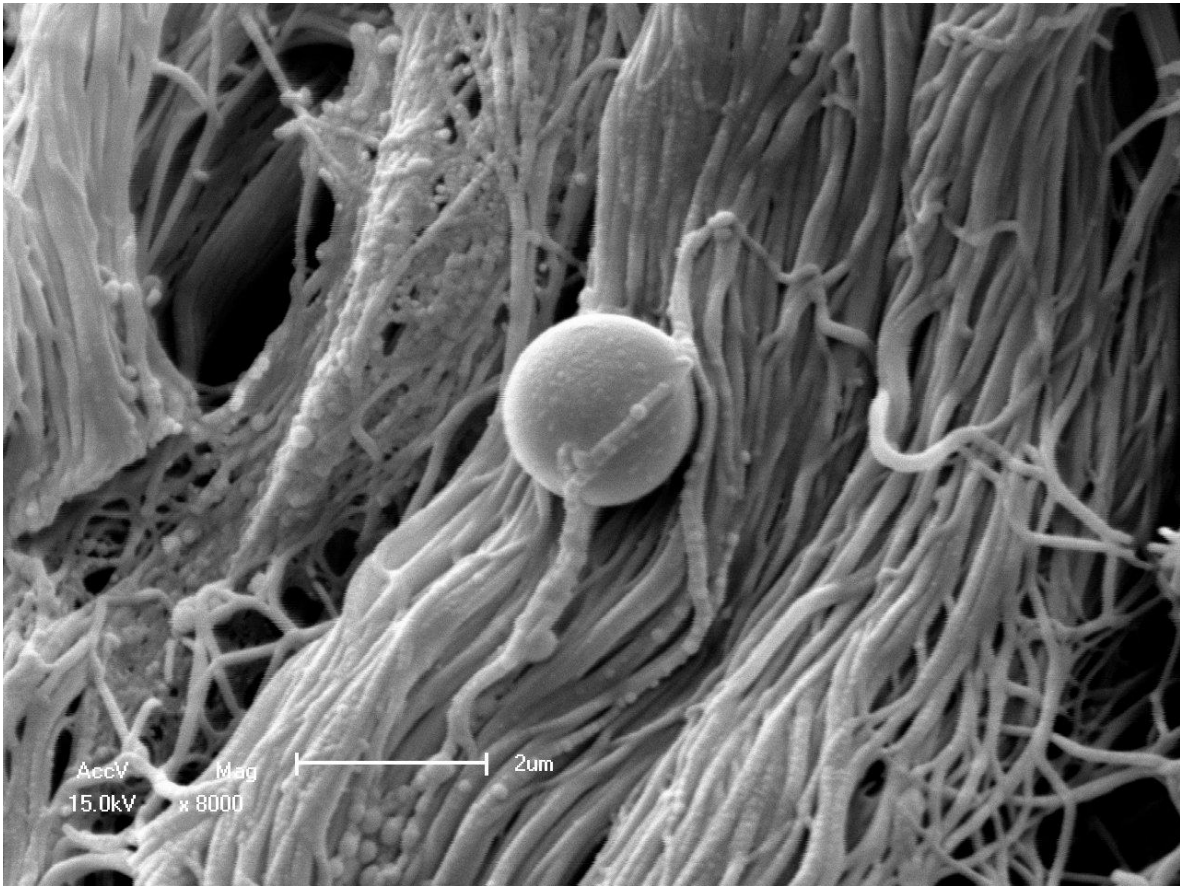


Figura 90 - Presença de colágeno degenerado e entremeado com as fibras preservadas e célula inflamatória “interagindo” com as mesmas (MEV – 8.000x).

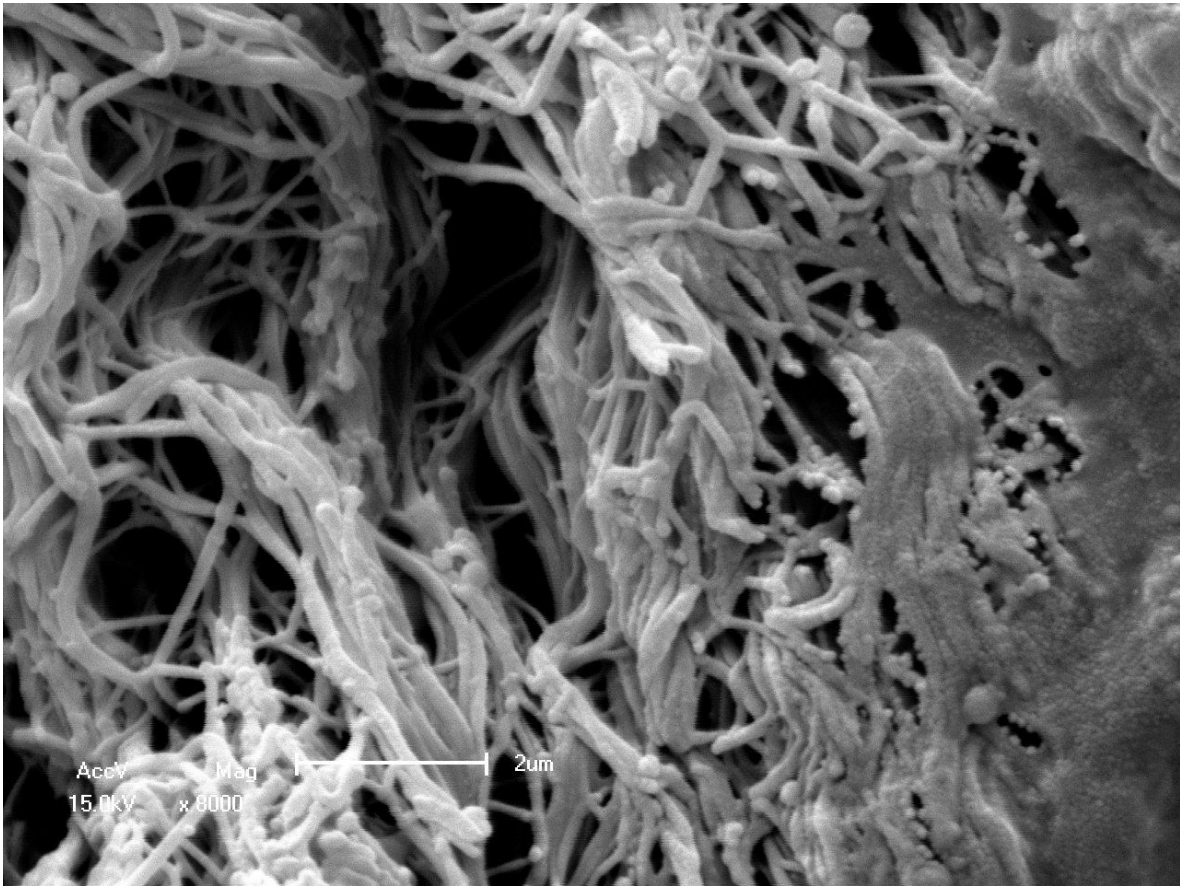


Figura 91 - Transição de área degenerada com fibras preservadas à esquerda para área afetada à direita(MEV- 8.000x).

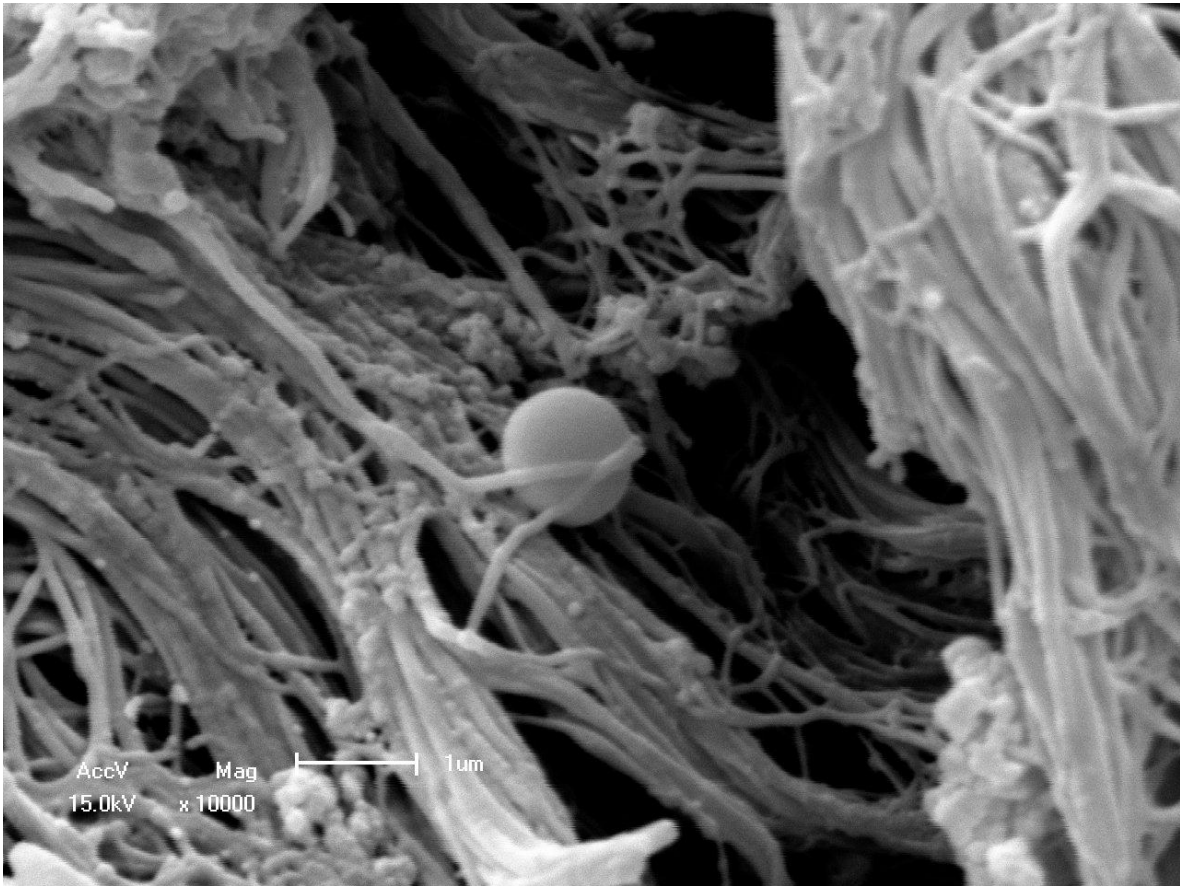


Figura 92 - Linfócito recoberto por fibras colágenas (MEV – 10.000x).

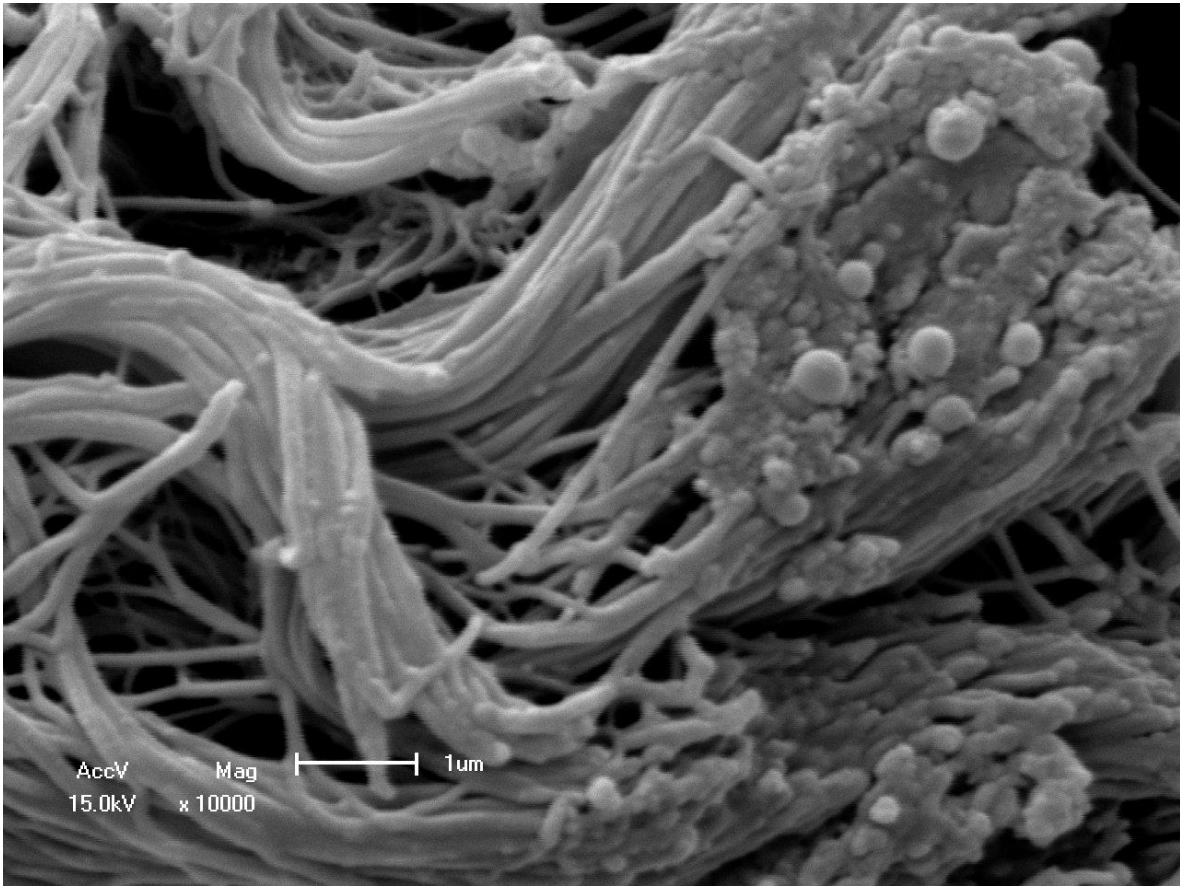


Figura 93 - Zona transicional mostrando fibras colágenas preservadas e degeneradas (MEV – 10.000x).

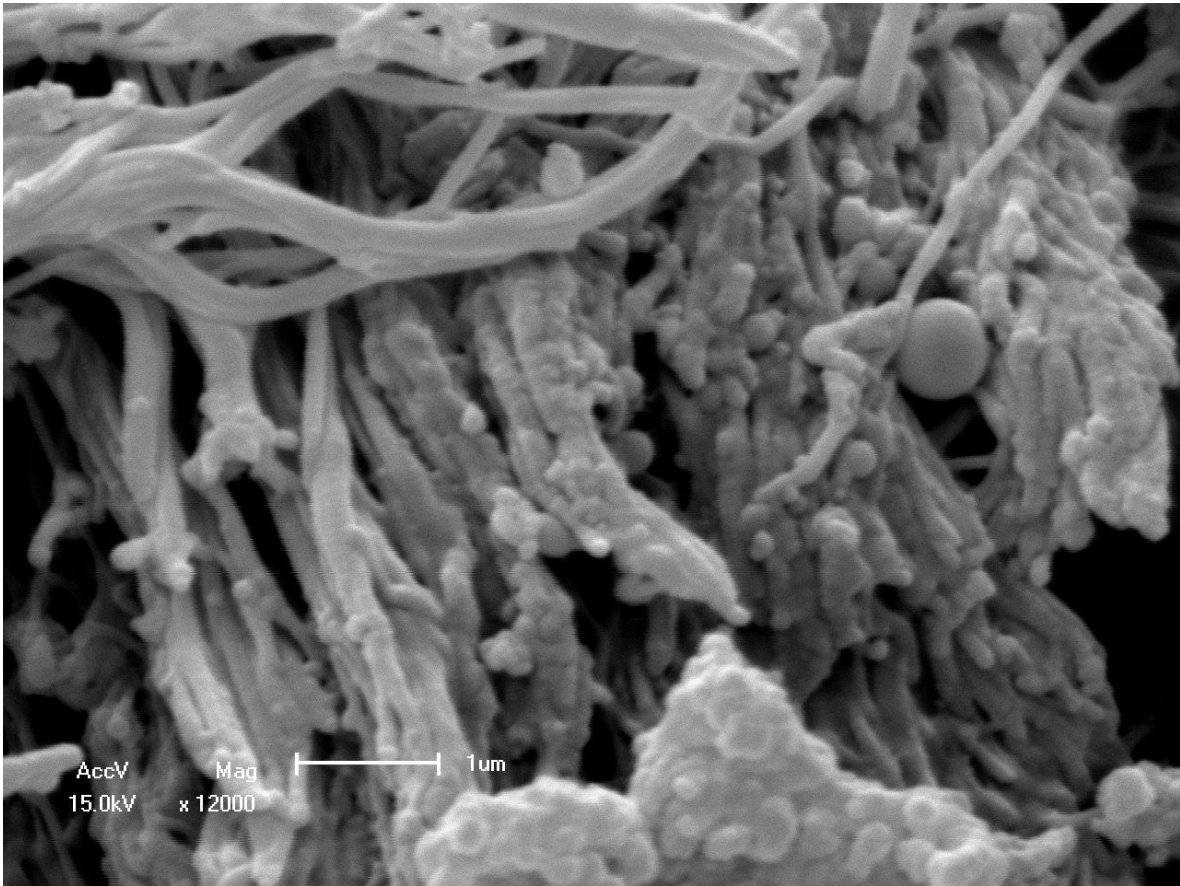


Figura 94 - Fibras colágenas degeneradas com células inflamatórias (MEV – 12.000x).

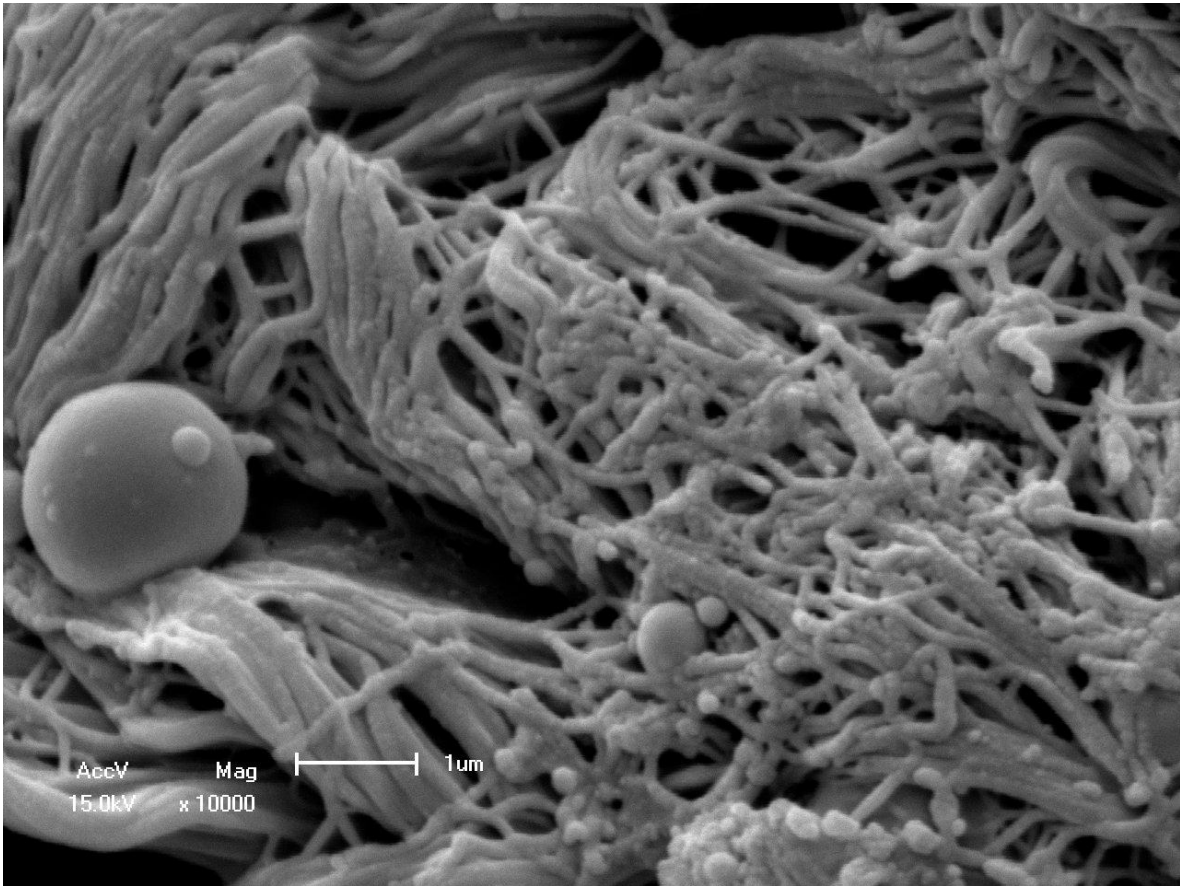


Figura 95 - Fibras colágenas desorganizadas, com presença de células inflamatórias (MEV – 10.000x).

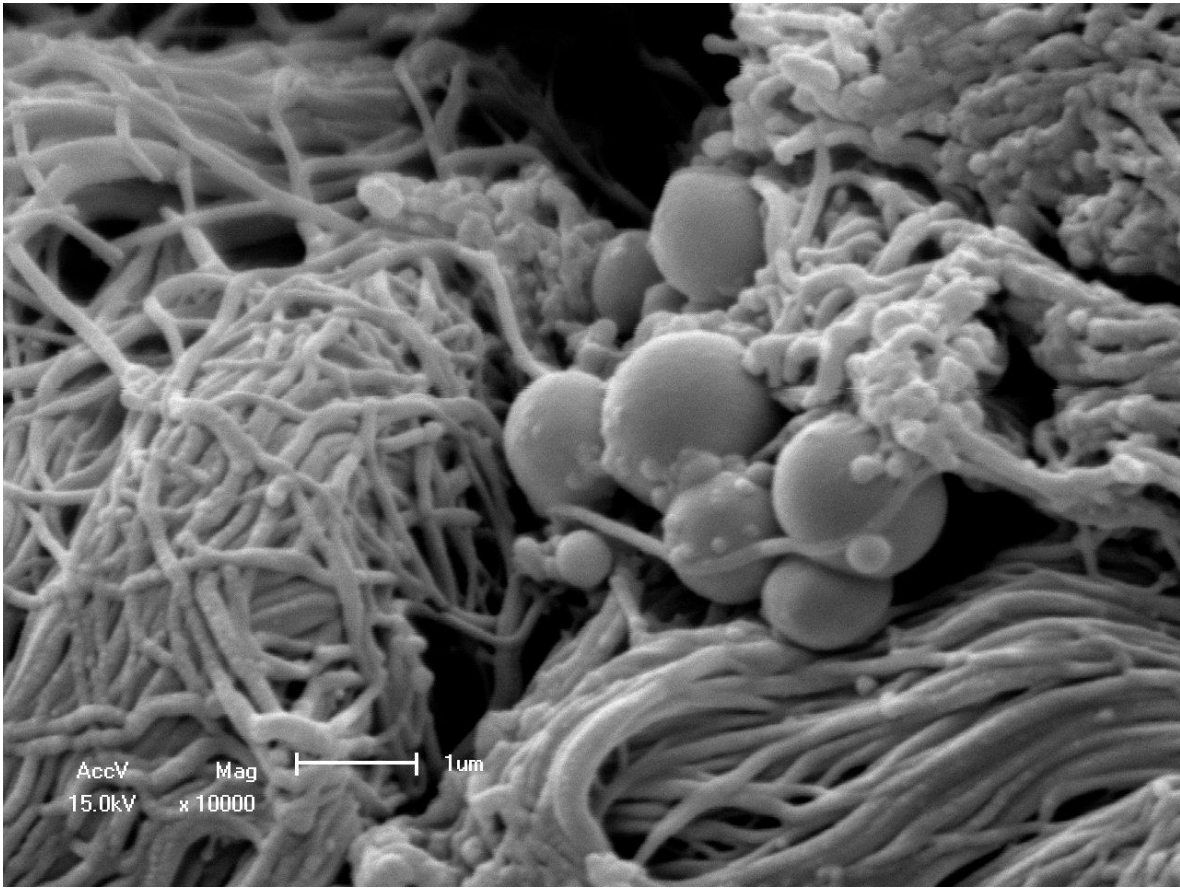


Figura 96 - Coleção de células inflamatórias entremeadas com fibras colágenas (MEV – 10.000x).

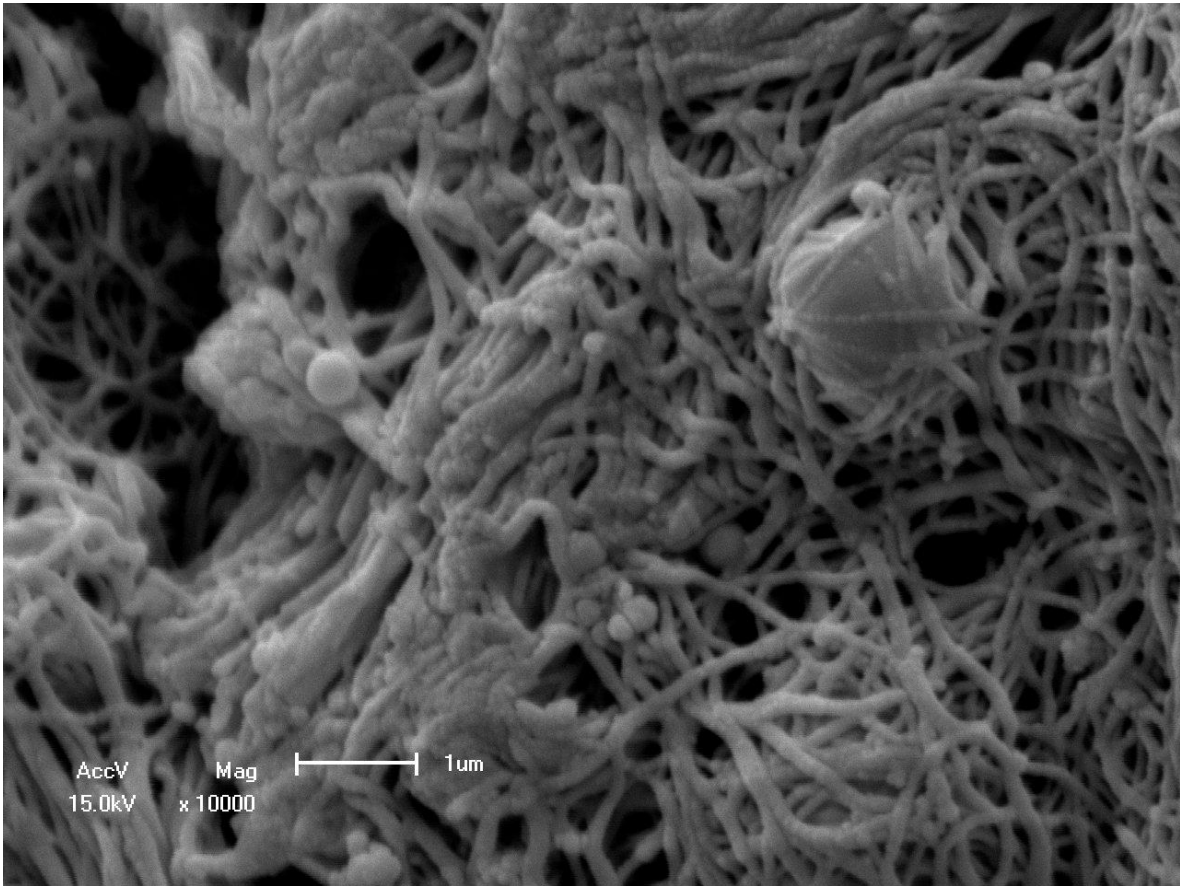


Figura 97 - Degeneração e desorganização de fibras colágenas, com presença de células inflamatórias (MEV – 10.000x).

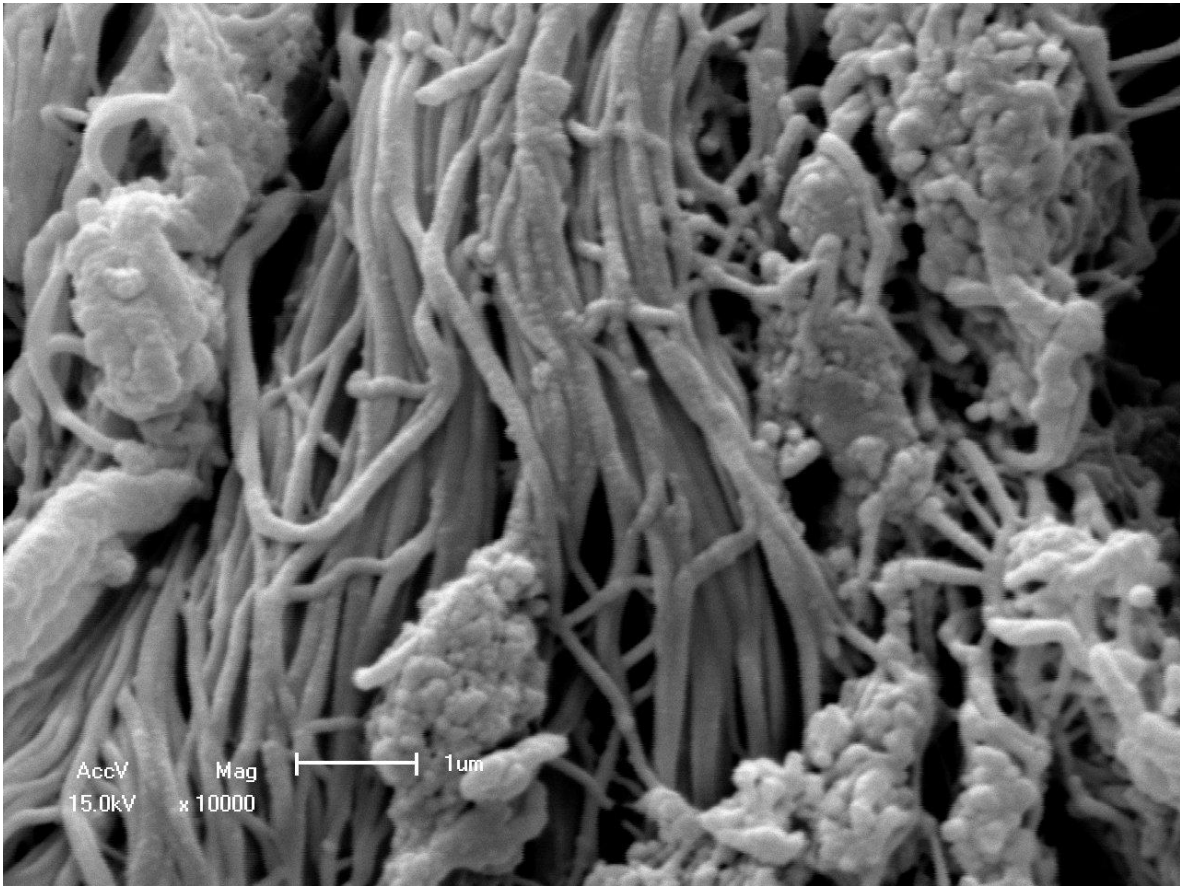


Figura 98 - Zona mostrando alternância de fibras colágenas degeneradas e preservadas (MEV – 10.000x).

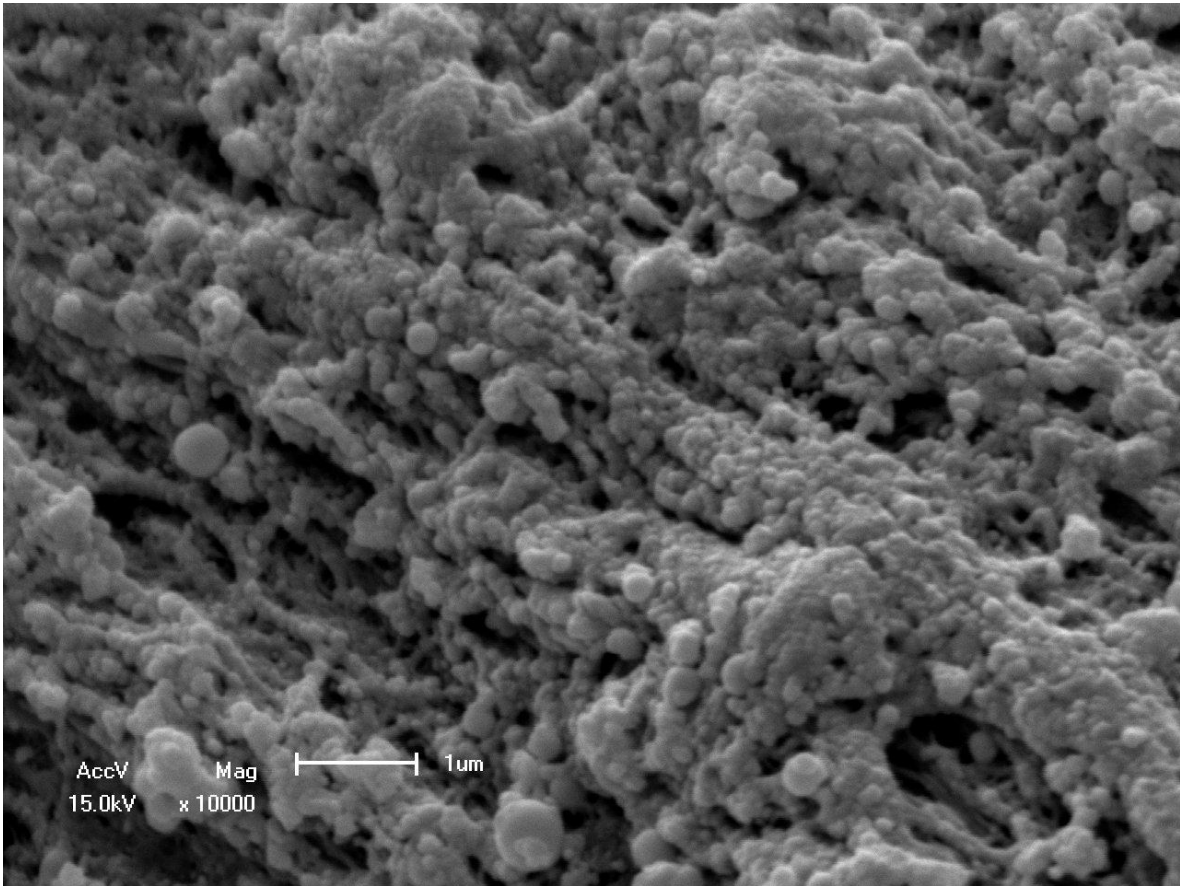


Figura 99 - Maior aumento de área exibindo importante degeneração do colágeno (MEV – 10.000x).

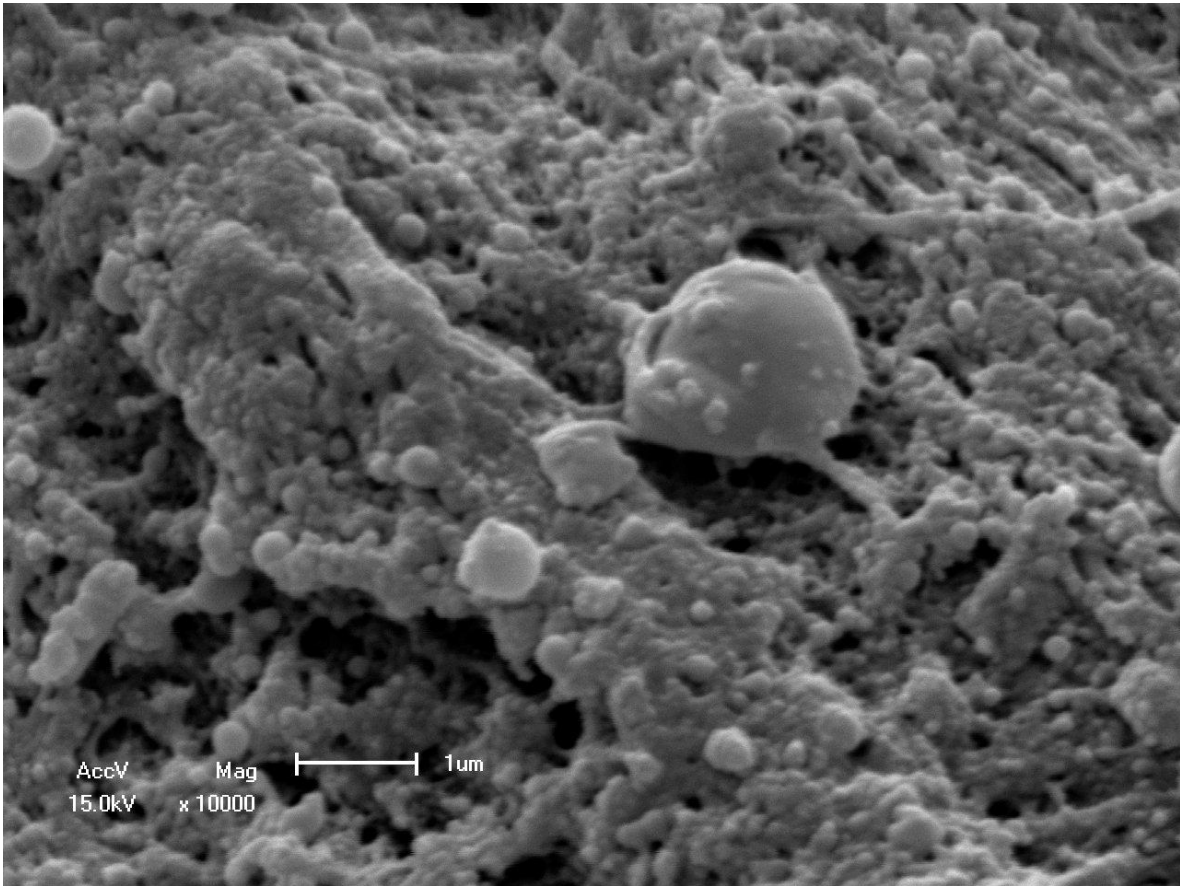


Figura 100 - Detalhe de zona mostrando colágeno degenerado com presença de célula inflamatória (MEV – 10.000x).

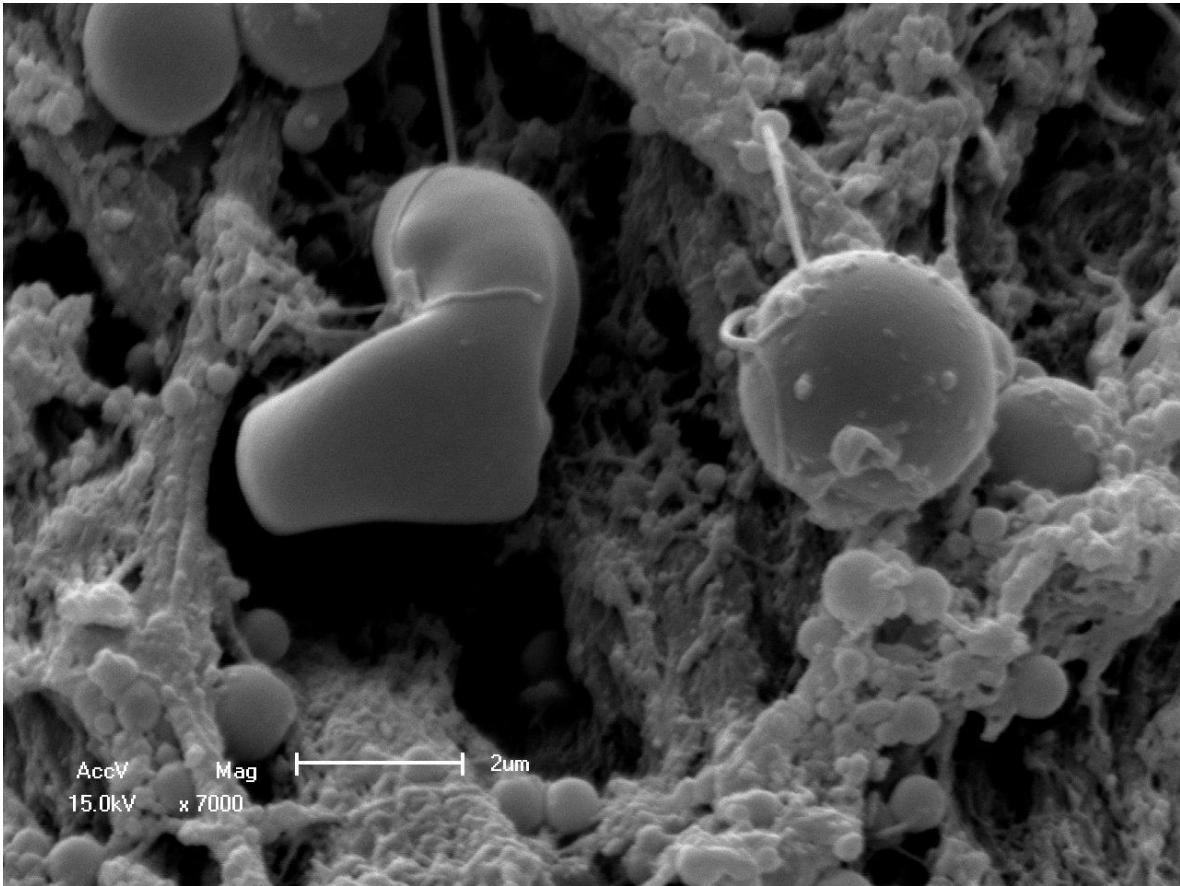


Figura 101 - Macrófago e linfócitos “interagindo” com fibras colágenas (MEV – 7.000x).

9.5. Relato do caso de Esclerodermia em Placa

Uma paciente feminina de 66 anos refere que há três anos iniciou com placas endurecidas em membros superiores com posterior acometimento de tronco e membros inferiores. Nega sintomas sistêmicos. História pregressa de hipertensão arterial sistêmica.

9.5.1. Aspectos clínicos



Figura 102 - Placas escleróticas atróficas e brilhantes com bordas eritemato-violáceas.



Figura 103 - Detalhe de placa esclerótica atrófica e brilhante com bordas eritemato-violáceas.

9.5.2. Microscopia óptica

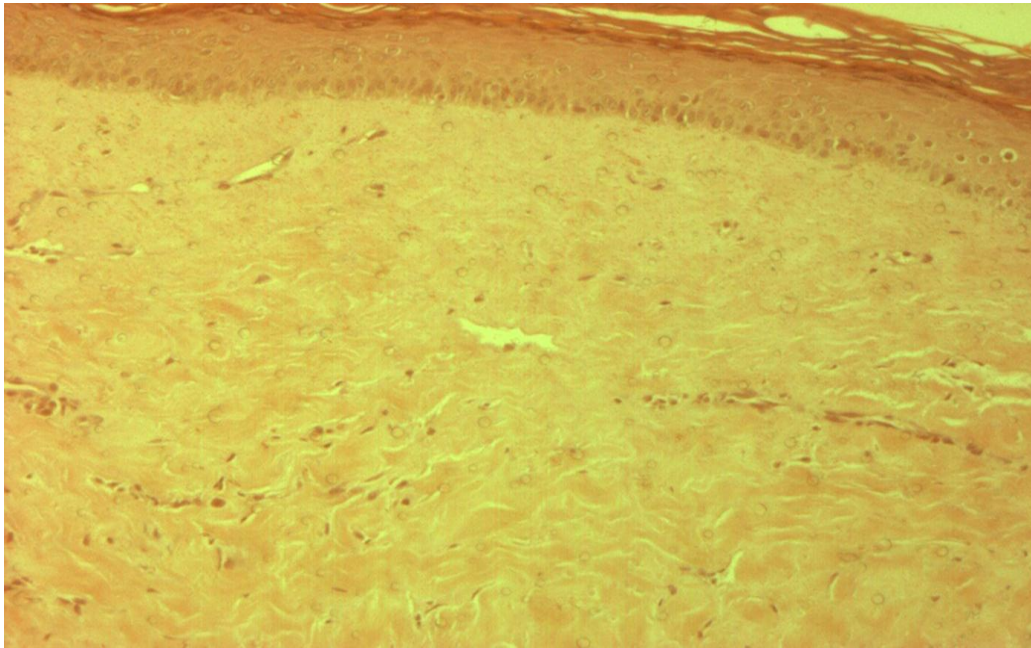


Figura 104 - Hipocelularidade discreta e espessamento do colágeno dérmico sem alterações degenerativas (HE – 40x).

9.5.3. Microscopia eletrônica de varredura

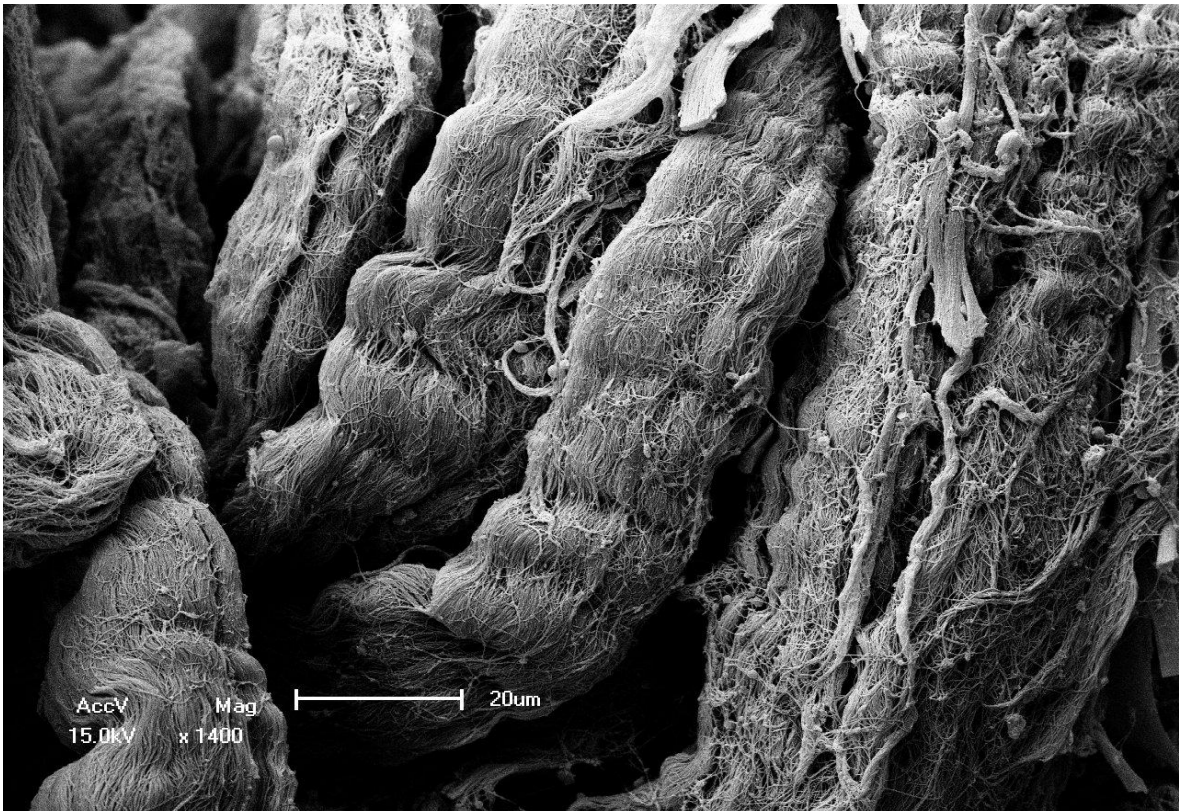


Figura 105 - Feixes grosseiros de colágeno (MEV – 1.400x).

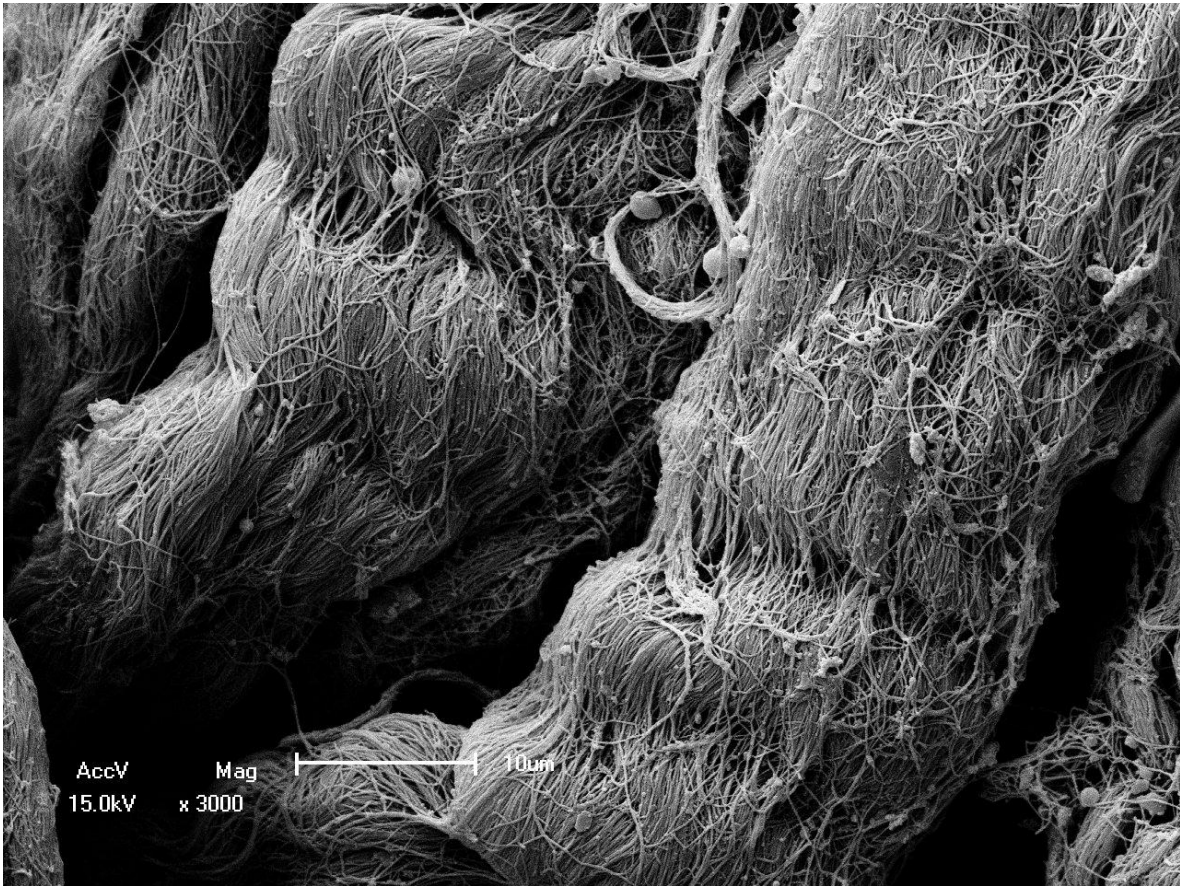


Figura 106 - Feixes grosseiros de colágeno em maior aumento, evidenciando fibras com aspecto preservado (MEV – 3.000x).

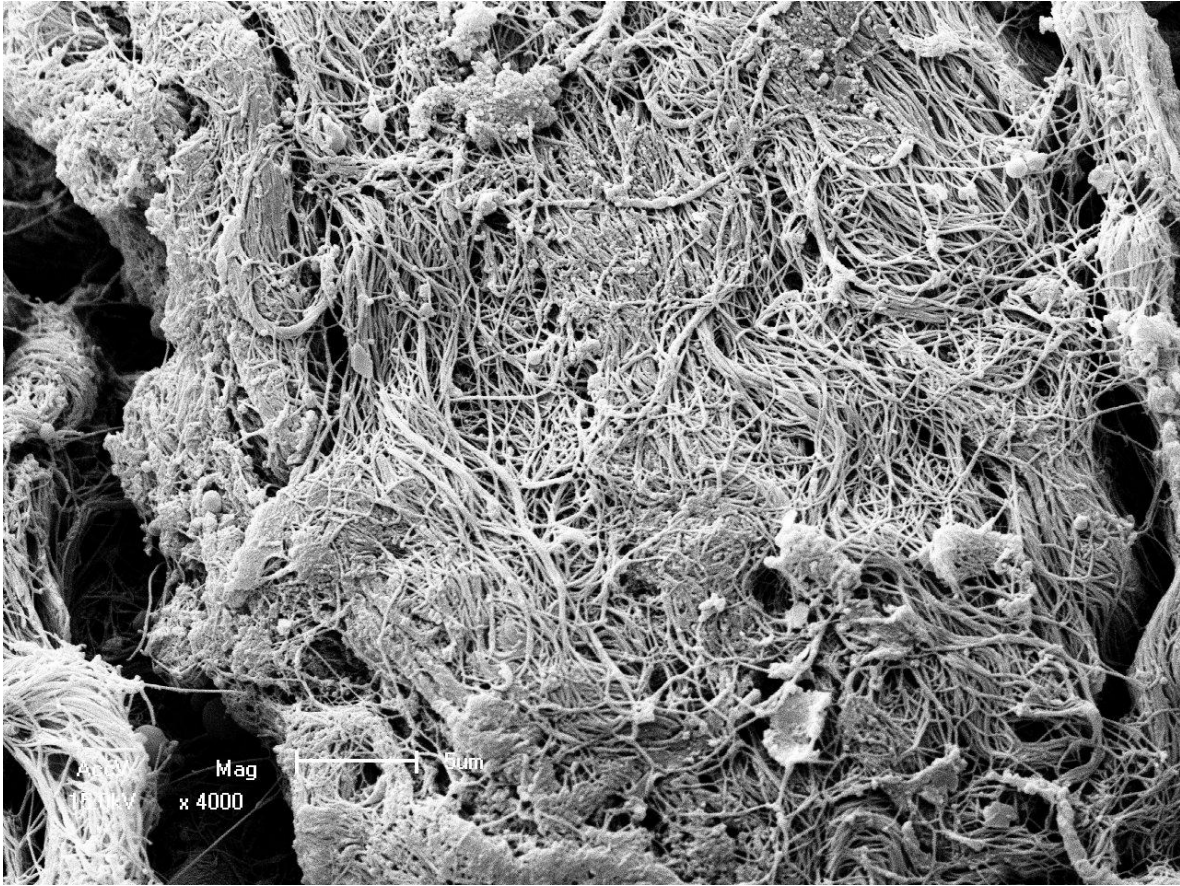


Figura 107 - Outra área mostrando grosseiros de colágeno, onde se percebem fibras com aspecto preservado (MEV – 4.000x).

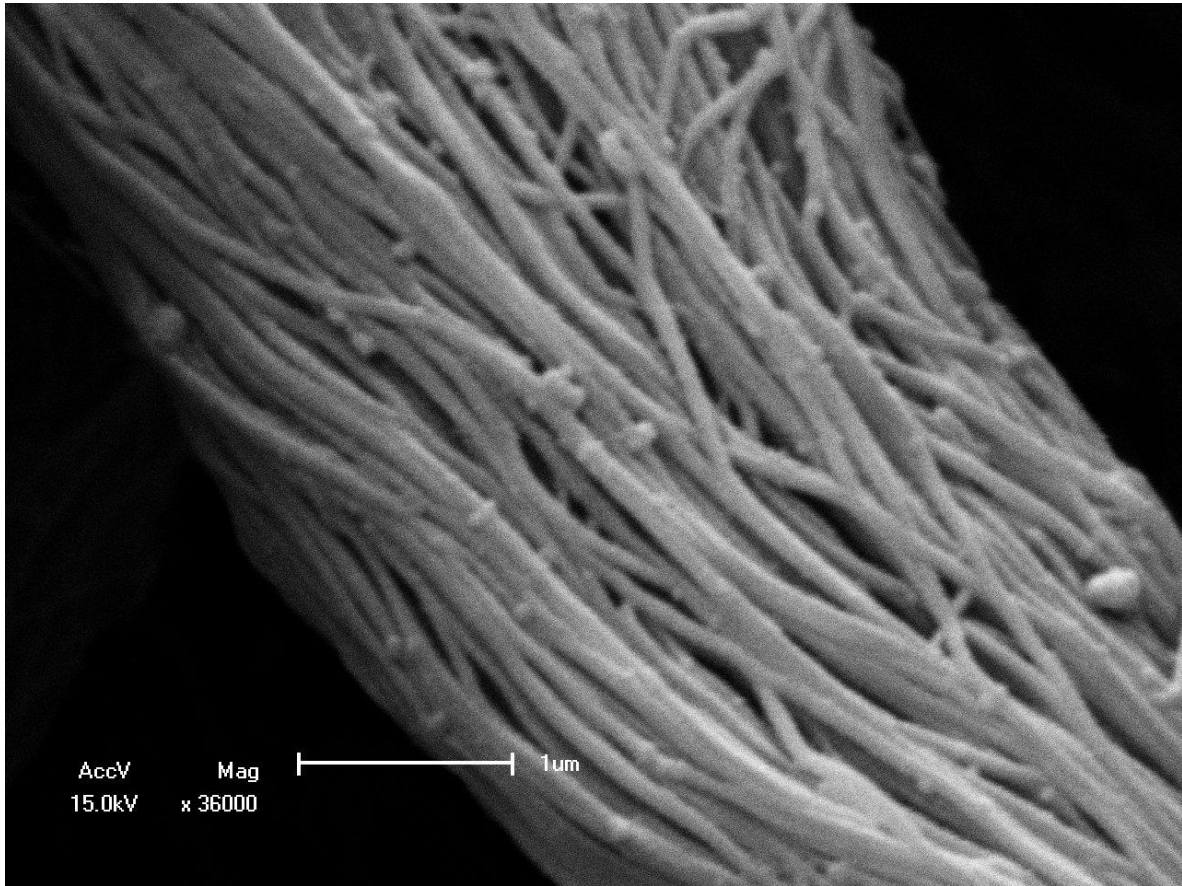


Figura 108 - Detalhe de feixe colágeno exibindo fibras com aspecto preservado (MEV – 36.000x).

10. DISCUSSÃO

O objetivo do presente estudo foi descrever aspectos tridimensionais de colagenopatias degenerativas adquiridas inflamatórias, através da microscopia eletrônica de varredura. Não encontramos, na literatura, trabalhos a respeito do assunto com tal técnica, o que dificulta a presente discussão.

Nos dois casos de líquen escleroso, os achados da microscopia óptica foram clássicos, tais como hiperqueratose do epitélio, degeneração hidrópica das células basais, esclerose do colágeno subepitelial, infiltrado linfocítico dérmico, epiderme atrófica e homogeneização do colágeno no terço superior da derme^{15,16,20,24,27-29,34-36}.

Na microscopia eletrônica de transmissão, encontramos relatos de escassez de fibras elásticas, homogeneização do colágeno na derme superficial e fibras colágenas em degeneração e reparação³⁹⁻⁴¹.

Tais achados foram superponíveis aos encontrados na microscopia eletrônica de varredura, onde evidenciamos intensa degeneração do colágeno em derme superior, com transição para fibras de aspecto mais preservado em outras áreas mais profundas.

De forma semelhante, os dois casos de granuloma anular também mostraram aspectos clássicos na microscopia óptica, como degeneração focal do colágeno, inflamação reativa e fibrose. O colágeno degenerado é um espectro variando de grandes focos de degeneração completa circundados por histiócitos em paliçada com mucina central a pequenos focos de degeneração incompleta do colágeno^{47,63}.

Ultraestruturalmente, os relatos de microscopia eletrônica de transmissão de granuloma anular mostraram degeneração de fibras elásticas, com fagocitose das mesmas por macrófagos e gigantócitos, degeneração e desintegração de fibras colágenas, com degradação a um material amorfo⁶⁴⁻⁶⁶.

Nossos resultados na microscopia eletrônica de varredura também foram superponíveis aos das outras técnicas descritas na literatura, pois encontramos degeneração focal do colágeno, marcada presença de células inflamatórias (histiócitos e linfócitos) com “interação” das mesmas com as fibras colágenas, documentando a participação dessas células na degradação do tecido dérmico.

Examinamos ainda um caso de esclerodermia em placa, por ser clinicamente um diagnóstico diferencial do líquen escleroso⁴³⁻⁴⁵. Encontramos microscopia óptica clássica, com hipocelularidade e espessamento do colágeno dérmico, sem alterações degenerativas do mesmo^{43,44}. Nossos achados na microscopia eletrônica de varredura foram novamente compatíveis, onde encontramos feixes grosseiros de colágeno sem degeneração das fibras, fato que ajuda na diferenciação do líquen escleroso.

Apesar de dificilmente poder ser utilizada no diagnóstico dessas enfermidades, a microscopia eletrônica de varredura contribui com informações tridimensionais contribuindo para a compreensão de suas alterações.

11. CONCLUSÕES

Microscopia Óptica com coloração por hematoxilina-eosina

- Líquen escleroso e atrófico – caracteriza-se por hialinização do colágeno dérmico, a qual é mais pronunciada na derme alta. Há pobre infiltrado inflamatório, associado à discreta hiperqueratose e edema de células basais;
- Granuloma Anular – ocorre degeneração focal do colágeno em áreas com infiltrado inflamatório linfo-histiocitário, presença de células gigantes e formação de granulomas em paliçada;
- Esclerodermia – o aspecto predominante é espessamento da derme sem alterações degenerativas do colágeno.

Microscopia Eletrônica de Varredura

- Líquen escleroso e atrófico – observam-se fibras colágenas degeneradas e compactadas/aderidas, por vezes com aspecto em “colar de pérolas”. A degeneração e a compactação são mais intensas na derme alta;
- Granuloma Anular – encontram-se fibras colágenas com degeneração focal e presença de células inflamatórias linfo-histiocitárias, com células gigantes e formação de granulomas;
- Esclerodermia – presença de feixes colágenos grosseiros, com fibras de aspecto preservado;
- Os achados da MEV são superponíveis aos da microscopia óptica.

**Anexo
Artigo 1 Aceito**

**Anais Brasileiros de Dermatologia
Brazilian Annals of Dermatology**

**Microscopia eletrônica de varredura do líquen escleroso
Scanning electron microscopy of lichen sclerosus**

Eduardo de Barros Coelho Bicca

Juliano de Avelar Breunig

Nara Moreira Rocha

Ricardo Marques e Silva

Hiram Larangeira de Almeida Jr

RESUMO

O líquen escleroso é uma afecção inflamatória caracterizada por placas esbranquiçadas fibróticas ocorrendo preferentemente na pele genital. Realizamos exame com microscópio eletrônico de varredura da derme de uma lesão de líquen escleroso. Ao exame as fibras colágenas normais puderam ser facilmente identificadas, bem como a transição para a área alterada, a qual aparece homogenizada. Nessa área as fibras parecem aderidas umas às outras e com aspecto em colar de pérolas. Na derme superficial essa homogenização é ainda mais evidente, com as fibras bem aderidas e ainda com as estruturas arredondadas. Ruptura das fibras não foi vista e poucas células inflamatórias foram observadas. Os fenômenos autoimunes que ocorrem na matriz extracelular nessa enfermidade devem levar à agregação de imunocomplexos e/ou proteínas alteradas nas fibras colágenas, por essa razão elas aparecem hialinizadas na microscopia óptica.

ABSTRACT

Lichen sclerosus is an acquired inflammatory condition characterized by whitish fibrotic plaques, with a predilection for the genital skin. We performed scanning electron microscopy of the dermis from a lesion of lichen sclerosus. Normal collagen fibers could be easily found in deeper layers of the specimen, as well as the transition to pathologic area, which seems homogenized. With higher magnifications in this transitional area collagen fibers are adherent to each other, and with very high magnifications a pearl chain aspect became evident along the collagen fibers. In the superficial dermis this homogenization is even more evident, collagen fibers are packed together and round structures are also observed. Rupture of collagen fibers was not found and there were few inflammatory cells. These autoimmune changes of the extracellular matrix lead to the aggregation of immune complexes and/or changed matrix proteins along the collagen fibers, the reason why they seem hyalinized on light microscopy.

Introduction

Lichen sclerosus (LScl) is an acquired inflammatory condition characterized by whitish fibrotic plaques, with a predilection for the genital skin¹.

Autoimmunity against the extracellular matrix protein 1 (ECM1) was demonstrated^{2,3} and may be involved in the immunopathogenesis of LScl, what is confirmed by the effective treatment with topical corticosteroids and calcineurin antagonists.

Light microscopy is very characteristic, showing superficial dermal changes, which have been described as edema of the upper dermis⁴, sclerotic collagen¹ or hyalinized collagen [5,6]. In this area collagen bundles are no longer observed, the dermal tissue looks homogeneous and less eosinophilic. Moreover epidermal atrophy, hydropic degeneration of the basal layer and dermal lymphocytic infiltrate are also seen.

We performed scanning electron microscopy (SEM) of the dermis from a lesion of a disseminated case of LScl (Figure 1 a and b). A punch biopsy was obtained for diagnosis confirmation, the skin fragment was cut into two pieces, and one of them processed routinely for SEM. Light microscopy showed dermal hyalinization, what established the diagnosis of LScl.



Figure 1 - Whitish lesions in the dorsum of the right foot.

Results

Normal collagen fibers could be easily found in deeper layers of the fragment (Figure 2a), as well as the transition to pathologic area (Figure 2b), which seems homogenized. With higher magnifications in this transitional area collagen fibers are adherent to each other (Figure 3a), and with very high magnifications (x 20,000) a pearl chain aspect became evident along the collagen fibers (Figure 3b). In the superficial dermis this homogenization is even more evident, collagen fibers are packed together and round structures are also observed (Figure 4a and b). Rupture of collagen fibers was not found and there were few inflammatory cells.

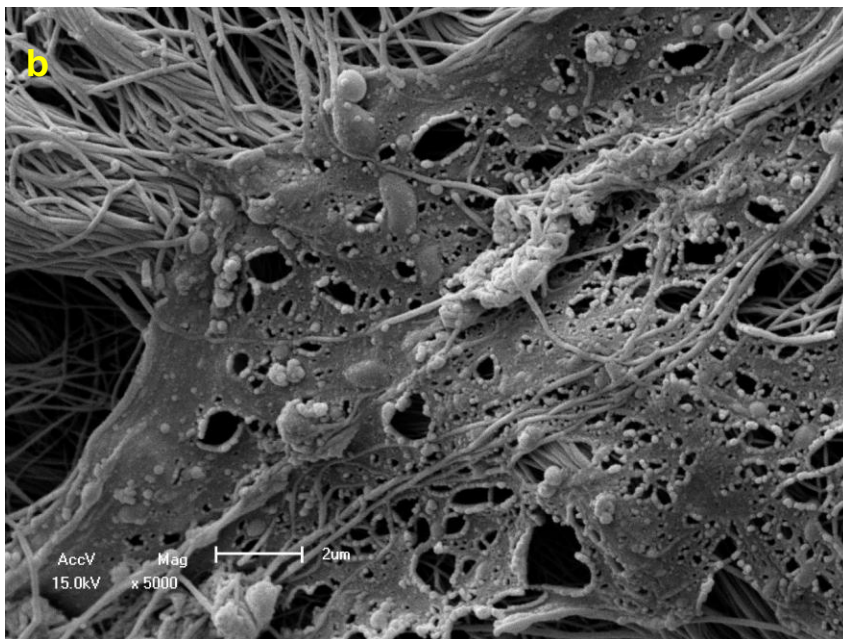


Figure 2 - Scanning electron microscopy - a. normal collagen fibers (x 15,000) b. transition to a homogenized area (x 5,000).

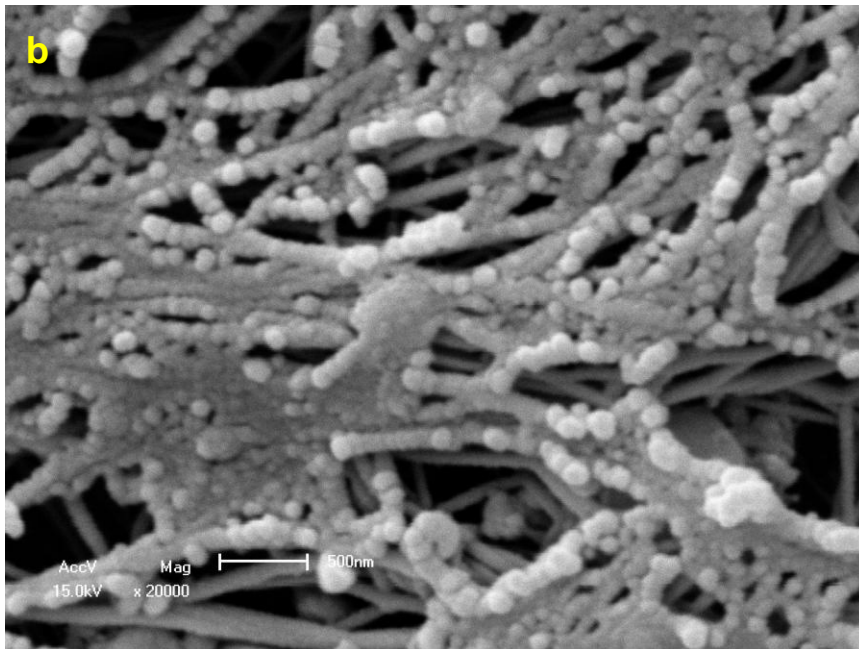
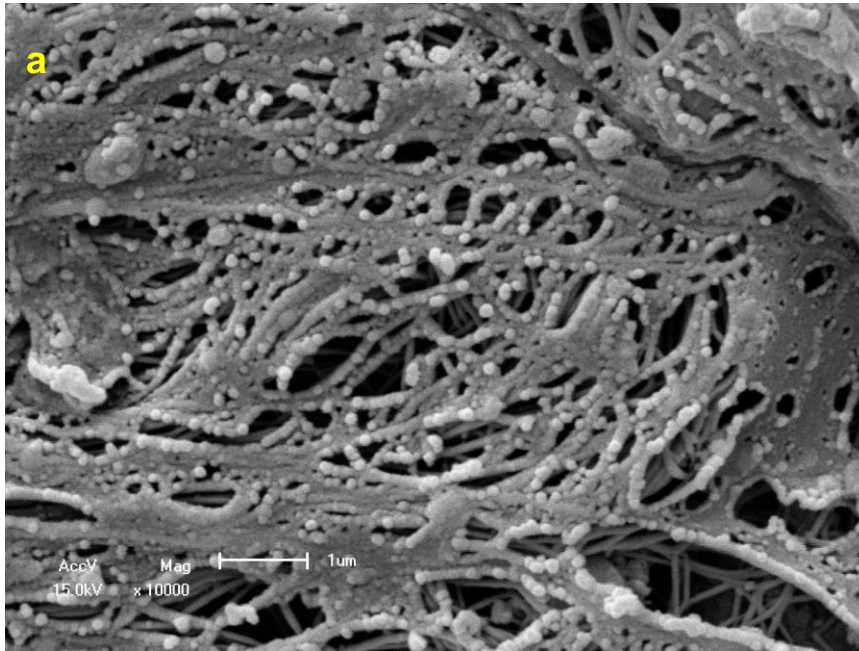


Figure 3 - Scanning electron microscopy - a. homogenized area (x 10,000) b. detail showing the pearl chain aspect of the collagen fibers (x 20,000).

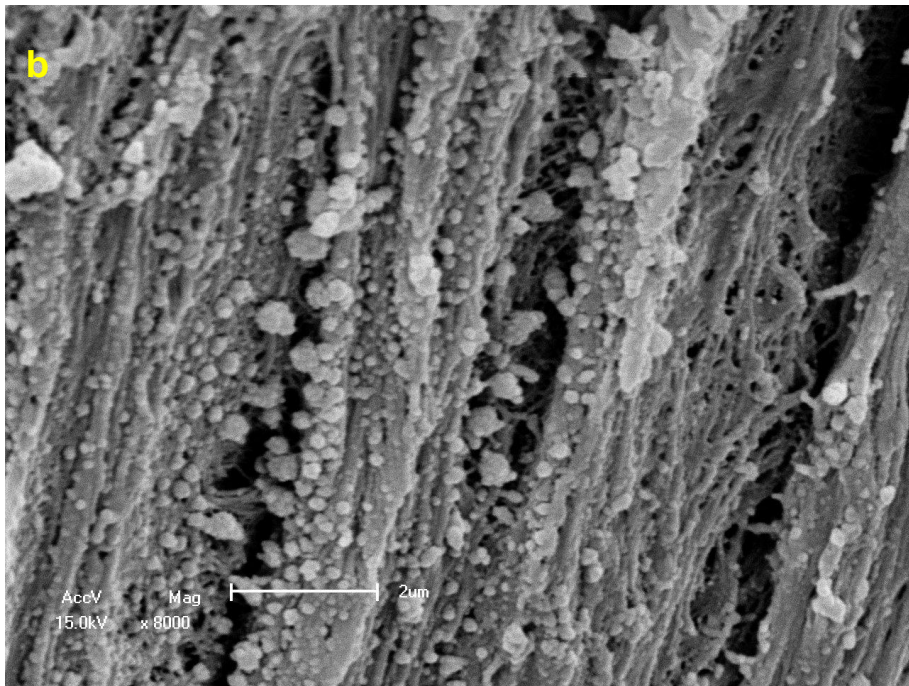
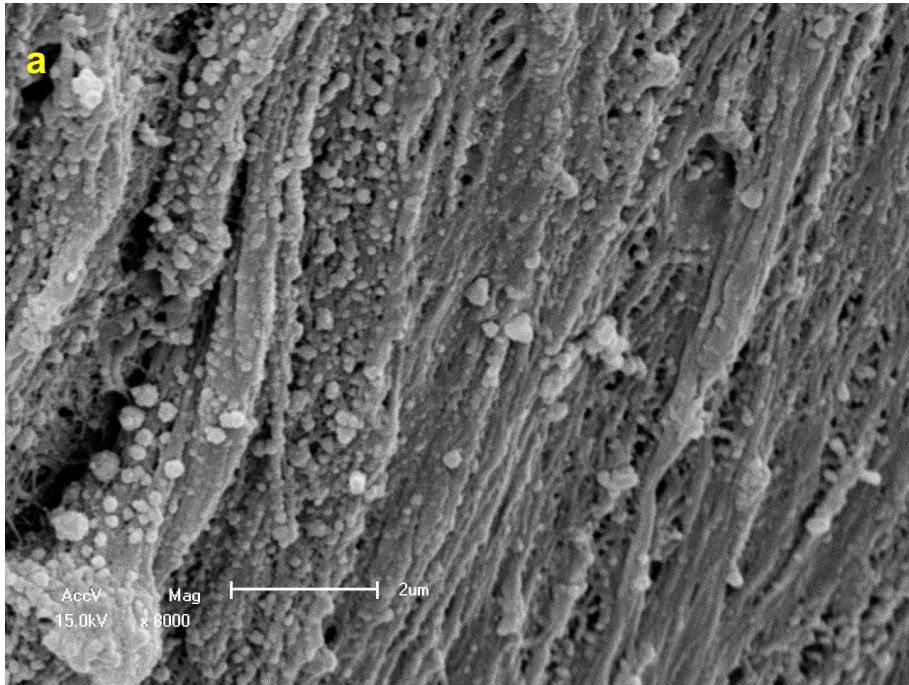


Figure 4 - Scanning electron microscopy - a. and b. superficial area with strong collagen homogenization (x 8,000).

Discussion

We could not find any report on the use of SEM in LScl, this technique is not normally used to document dermal changes.

Our findings show the aggregation of round structures on collagen fibers, giving them a pearl chain aspect. In the superficial dermis, where the changes are more conspicuous on light microscopy, this aggregation was even stronger.

It is possible to assume, that the autoimmune changes of the extracellular matrix, leads to the aggregation of immune complexes and/or changed matrix proteins along the collagen fibers, the reason why they seem hyalinized on light microscopy.

A previous report with transmission electron microscopy in LScl observed amorphous, dispersed, electron-dense substances in the homogeneous zones without primary collagen changes ⁷, in accordance with our results.

Although SEM is mainly used to examine surfaces, as in hair diseases, it can bring some additional information in conditions with dermal involvement.

References

1. Monsálvez V, Rivera R, Vanaclocha F. [Lichen sclerosus] *Actas Dermosifiliogr.* 2010 Jan-Feb;101(1):31-8.
2. Edmonds EV, Oyama N, Chan I, Francis N, McGrath JA, Bunker CB. Extracellular matrix protein 1 autoantibodies in male genital lichen sclerosus. *Br J Dermatol.* 2011 Jul;165(1):218-9.
3. Oyama N, Chan I, Neill SM et al. Autoantibodies to extracellular matrix protein 1 in lichen sclerosus. *Lancet* 2003; 362:118-23.
4. Okamoto H, Mizuno K, Ohkuwa T. Unilateral linear lichen sclerosus et atrophicus. *Eur J Dermatol.* 1998 Dec;8(8):575-7.
5. Nishioka S. Histological comparison of morphea and lichen sclerosus et atrophicus. *Kurume Med J.* 1997;44(2):83-90.
6. Líquen escleroso e atrófico - relato de dois casos de apresentação atípica Coelho WS, Diniz LM, Souza Filho JB. *An Brás Dermatol.* 2006; 81(5 Supl 3): S 297-300.
7. Mihara Y, Mihara M, Hagari Y, Shimao S. Lichen sclerosus et atrophicus. A histological, immunohistochemical and electron microscopic study. *Arch Dermatol Res.* 1994; 286(8):434-42.