

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós Graduação em Medicina: Ciências Médicas

**Melasma Extra-Facial: Avaliação Clínica, Histopatológica e  
Imuno-Histoquímica em Estudo Caso-Controle**

Autora: Clarice Gabardo Ritter

Orientadora: Tania Ferreira Cestari

Dissertação de Mestrado

2011

Dissertação de Mestrado

2011

Autor: Clarice Gabardo Ritter

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós Graduação em Medicina: Ciências Médicas

**Melasma Extra-Facial: Avaliação Clínica, Histopatológica e  
Imuno-Histoquímica em Estudo Caso-Controle**

Autora: Clarice Gabardo Ritter

Orientadora: Tania Ferreira Cestari

Dissertação de Mestrado

2011

### CIP - Catalogação na Publicação

Ritter, Clarice Gabardo  
Melasma extra-facial: avaliação clínica,  
histopatológica e imuno-histoquímica em estudo caso-  
controle / Clarice Gabardo Ritter. -- 2011.  
82 f.

Orientadora: Tania Ferreira Cestari.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa  
de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto  
Alegre, BR-RS, 2011.

1. Melasma extra-facial. 2. Discromias cutâneas.  
I. Cestari, Tania Ferreira, orient. II. Título.

## **Agradecimentos**

À Dra Tania Ferreira Cestari, minha orientadora e grande mestra no exercício da Dermatologia. Agradeço todas as oportunidades recebidas pelo convívio com seu exemplo de excelente conhecimento acadêmico e humano, que não permitiram que nada menos que o melhor de mim fosse oferecido a este trabalho e aos meus pacientes.

Ao Professor José Antônio Trindade Borges da Costa, professor do Departamento de Física e Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de Santa Maria, por compartilhar seu conhecimento e seu tempo de forma tão generosa, tornando possível a realização de parte essencial deste trabalho.

À Dra Luise Meurer, professora do Departamento de patologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela importante ajuda no desenvolvimento deste trabalho, assim a como a todos os funcionários do Laboratório de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, especialmente, à técnica Flávia Rejane Grossmann.

A todos os outros professores, preceptores, médicos contratados, residentes e colegas do Serviço de Dermatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre que de forma direta ou indireta influenciaram minha formação, e que desta forma, me fizeram buscar neste mestrado acadêmico uma maneira de beneficiar mais pessoas.

À Dra Daniela Vasques da Conceição Fiss, residente do Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pela sua competência e disponibilidade. Seu compromisso com a realização deste trabalho foi fundamental e a amizade fruto natural deste convívio.

À Gabriela Bauermann pela dedicação e empenho no desenvolvimento do *software* de análise dos resultados de melanina.

À acadêmica Renata Rosa de Carvalho, pelo importante auxílio no transcorrer deste trabalho.

Aos meus pais, que sempre foram grande exemplo de trabalho e afeto, e que me incentivaram nos inúmeros desafios que travei para completar minha formação.

Ao meu marido, Dimas, que com carinho e paciência não só me apoiou, mas deu significado a este trabalho quando me fez perceber que o mérito dele está no benefício que pode trazer aos outros.

Por fim, dedico este trabalho ao meu amado filho Frederico, que surgiu e cresceu junto com o desenvolvimento deste mestrado, que trouxe luz e sentido a tudo que eu faço.

## SUMÁRIO

<b>1. Lista de abreviaturas.....</b>	<b>8</b>
<b>2. Resumo.....</b>	<b>10</b>
<b>3. Introdução.....</b>	<b>12</b>
<b>4. Revisão da literatura.....</b>	<b>15</b>
4.1. Melasma facial.....	15
4.1.1. Definição .....	15
4.1.2. Epidemiologia .....	15
4.1.3. Manifestações clínicas e classificação .....	16
4.1.4. Etiopatogenia.....	18
4.1.5. Histopatologia e imuno-histoquímica .....	21
4.2. Técnicas não-invasivas para avaliação do melasma .....	25
4.2.1. MASI - <i>Melasma Area and Severity Index</i> .....	25
4.2.2. Escore Global de Gravidade do Melasma .....	26
4.2.3. Colorimetria .....	27
4.2.4. Fotografia digital.....	28
4.2.5. Avaliação de qualidade de vida (MELASQoL) .....	28
4.3. Diagnósticos diferenciais .....	29
4.4. Melasma Extra-Facial .....	30
<b>5. Objetivos.....</b>	<b>33</b>
5.1. Objetivos gerais.....	33
5.2. Objetivos específicos.....	33
<b>6. Referências bibliográficas.....</b>	<b>34</b>

<b>7. Artigo científico em Inglês.....</b>	<b>43</b>
<b>8. Considerações gerais.....</b>	<b>73</b>
<b>9. Anexos.....</b>	<b>74</b>



## 1. Lista de Abreviaturas:

ABCD *Acquired Brachial Cutaneous Dyschromatosis* (discromatose cutânea braquial adquirida)

ACO: anticoncepcional oral

ACTH: *Adreno Corticotrophic Hormone* (hormônio adrenocorticotrófico)

CIE: *Comission Internacional de Il'Éclairage*

i-ECA: inibidores da enzima conversora da angiotensina

HE: Hematoxilina-Eosina

MASI: *Melasma Area and Severity Index*

MC1-R: receptor de melanocortina-1

MELASQoL: *Melasma Quality of Life scale* (escala de qualidade de vida em melasma)

RE: receptor de estrogênio

RE $\alpha$ : fração alfa do receptor de estrogênio

RE $\beta$ : fração beta do receptor de estrogênio

RP: receptor de progesterona

RUV: radiação ultravioleta

RUV-A: radiação ultravioleta A

RUV-B: radiação ultravioleta B

TRH: Terapia de reposição hormonal

TRP-1: *Tyrosinase Related Protein* – (proteína relacionada à tirosinase tipo-1)

VEGF: *Vascular Endothelial Growth Factor* (fator de crescimento de endotélio vascular)

$\alpha$ -MSH:  *$\alpha$ -Melanocyte Stimulating factor* (hormônio estimulador de alfa-melanócito)

## 2. Resumo

**Fundamentos:** O melasma extra-facial é dermatose freqüente na prática clínica dermatológica. Apresenta características especiais em relação tanto aos aspectos clínicos como aos prováveis fatores etiopatogênicos. Existem poucos estudos direcionados a esta alteração da pigmentação, que têm se tornado um desafio no consultório dermatológico.

**Objetivo:** Avaliar as características clínicas associadas melasma extra-facial. Comparar através de exame histopatológico e imuno-histoquímico as características morfofuncionais de biópsias de pele de melasma extra-facial com biópsias de pele não acometida.

**Métodos:** Estudo de casos e controles com 45 pacientes em cada grupo, avaliando suas características clínicas. Dentro do grupo com melasma extra-facial 36 pacientes realizaram biópsia da lesão e da pele normal perilesional. Foram realizadas as colorações de HE e Fontana-Masson, e imuno-histoquímica para melanócitos e receptores de estrogênio nas amostras biopsiadas. A densidade de melanina na epiderme foi avaliada através da análise de fotomicrografias digitais por um programa computadorizado de análise de imagens.

**Resultados:** No grupo com melasma a maioria das pacientes eram mulheres (88,9%) com idade média  $\pm$  DP de  $56,78 \pm 8,5$  anos, estando 84,4% delas em menopausa. Não houve diferença significativa entre os grupos quanto à presença de comorbidades, uso de medicações para tratamento destas ou uso de terapias hormonais. Nos pacientes com melasma extra-facial

o histórico familiar desta dermatose bem como a presença atual ou prévia de melasma facial foi significativamente maior do que no grupo controle ( $p < 0,001$ ). A coloração pelo HE mostrou aumento da retificação e hiperpigmentação basal, da elastose solar e degeneração de colágeno na área de melasma ( $p < 0,001$ ). A coloração de Fontana-Masson identificou aumento significativo da densidade de melanina nas biópsias de melasma. A imuno-histoquímica com Melan-A não mostrou diferença entre os grupos e o marcador para receptor de estrogênio foi negativo nas biópsias estudadas.

**Conclusão:** O melasma extra-facial parece estar relacionado à menopausa, história familiar e histórico pessoal de melasma facial. A hiperpigmentação evidenciada nas amostras é justificada pelo aumento da melanina. Contudo, a avaliação histopatológica revelou semelhante número de melanócitos entre os dois grupos, sugerindo que a hiperpigmentação seja, mais provavelmente, resultado de uma alteração na produção ou na característica bioquímica e distribuição da melanina produzida.

### 3. Introdução

O melasma é uma dermatose freqüente no consultório do dermatologista e representa um desafio em muitos dos seus aspectos. Caracteriza-se clinicamente como hipermelanose adquirida simétrica, que ocorre exclusivamente em áreas foto-expostas, geralmente na face e região cervical, podendo acometer também os braços e região esternal (1-6).

Devido ao impacto do melasma na qualidade de vida dos pacientes e aos desafios relacionados à sua terapêutica, um crescente número de artigos científicos foi publicado sobre o tema nas últimas décadas. Esses estudos possibilitaram o entendimento de muitos dos seus aspectos, focando em especial as manifestações faciais da dermatose. Contudo, a experiência clínica mostra que um número razoável de pacientes desenvolve lesões em distribuição extra-facial cujo comportamento epidemiológico e mecanismos fisiopatogênicos necessitam melhor esclarecimento.

O melasma extra-facial apresenta as mesmas características clínicas do melasma facial, manifestando-se como manchas hipercrômicas simétricas nos antebraços e braços, região cervical e esternal e eventualmente no dorso. Apesar de não ser infreqüente na prática clínica, existem poucos relatos que descrevem essa dermatose na literatura científica, e não há estudos que determinem se apresenta fisiopatogenia semelhante à do melasma facial.

O'brien et al (7) foram um dos primeiros autores a relatar, em 1997, uma série de 7 pacientes apresentando manchas hipercrômicas

simétricas nos braços. Sua descrição relacionou o surgimento da dermatose a mulheres em menopausa que fizeram terapia de reposição hormonal (TRH). Os achados desta publicação vieram ao encontro de relatos publicados posteriormente, que também sustentavam a hipótese hormonal no surgimento das manchas(8; 9).

Em 2000, Rongioletti et al (10) publicaram uma série de casos de 20 pacientes com quadro cutâneo descrito como discromatose cutânea braquial adquirida (*Acquired Brachial Cutaneous Dermatoses ABCD*). Nesse estudo foi realizada avaliação clínica e laboratorial heterogênea das pacientes e biópsia de pele em 5 delas. Os autores consideraram que os achados histopatológicos lembravam muito o melasma, mas que, pela ausência de fatores hormonais predisponentes e idade da apresentação da dermatose, tratava-se de entidade distinta, que afetaria mulheres de meia-idade hipertensas tratadas com inibidores da enzima conversora da angiotensina (i-ECA).

No melasma facial, no entanto, já existem vários estudos bem conduzidos avaliando as características histomorfológicas e imuno-histoquímicas das manchas. Todos mostraram aumento da quantidade de melanina em todas as camadas da epiderme além de outros achados como achatamento epidérmico, hiperpigmentação basal, elastose solar e infiltrado inflamatório.(11-17) A imuno-histoquímica para melanócitos mostra alguns resultados conflitantes com trabalhos mostrando que há aumento do número de melanócitos sobre a área de melasma (12; 16; 18) enquanto que a maioria dos outros estudos concorda que se trata de melanócitos hiperfuncionais, mas sem aumento significativo no seu número (14; 15; 17).

A expressão imuno-histoquímica para receptores hormonais no melasma também é foco recente de estudos já que, nas lesões faciais, o surgimento do melasma parece estar associado com níveis aumentados de estrogênio (19; 20). Estudo conduzido por Jang *et al.* (20) em 2010 mostrou expressão significativamente aumentada da fração beta do receptor de estrogênio nas camadas dérmicas, especialmente em torno de vasos, e aumento dos receptores de progesterona na epiderme de pacientes com melasma facial.

No presente trabalho, descrevemos um estudo de casos e controles para avaliar as características clínicas das pacientes com melasma extra-facial. Também analisamos, através de exame histopatológico e imuno-histoquímico, as características morfofuncionais de biópsias de pele de melasma extra-facial comparadas com as de pele não acometida.

O melhor esclarecimento destes aspectos do melasma extra-facial é imprescindível para que compreendamos melhor esta dermatose e avancemos no desafio que é a sua terapêutica.

#### **4. Revisão da Literatura:**

##### **4.1. Melasma facial:**

###### **4.1.1. Definição:**

A palavra melasma se origina do grego, onde *melas* significa preto, fazendo referência à sua apresentação clínica. Manifesta-se como hipermelanose comum, adquirida, caracterizada por máculas acastanhadas, mais ou menos escuras, de contornos irregulares e limites nítidos. Surge em áreas expostas ao sol, especialmente face e região cervical e, de forma menos comum, nos braços e região esternal (1-6).

###### **4.1.2. Epidemiologia:**

A prevalência do melasma no mundo varia consideravelmente, de acordo com a região estudada e com o fototipo da população. A doença afeta todos os grupos raciais, mas é mais comum em indivíduos de raça mais pigmentada que vivem em áreas de intensa exposição a radiação ultravioleta como os povos de origem latina, asiática, indiana e do Oriente Médio (21; 22).

Na América Latina, estudos mostraram que a incidência de doenças cutâneas não difere muito se comparada com a população de outras áreas do mundo, porém as alterações pigmentares como o melasma e a hiperpigmentação pós-inflamatória ocorrem com maior frequência (23; 24). Dados do México, Peru e de imigrantes latinos que vivem nos Estados Unidos da América mostraram que o melasma corresponde a 4-10% dos atendimentos dermatológicos (25-27).



No Brasil, dados gerados pela Sociedade Brasileira de Dermatologia em 2006 mostraram que o melasma, juntamente com as demais doenças relacionadas à pigmentação, foram responsáveis por 8,4% das consultas dermatológicas (28).

As mulheres gestantes são especialmente acometidas. No México mais de 50% das gestantes apresentam melasma (23), no Irã esta prevalência é de 15,8% (29), e em um estudo feito no Brasil este valor é de 10,7% (30).

O melasma afeta predominantemente pacientes do sexo feminino, sendo que em indivíduos brancos os homens representam cerca de 10% dos pacientes com melasma.(31). No entanto há uma variação nestas frequências relacionada com os grupos raciais. Em indianos, por exemplo, esta porcentagem pode chegar a 20-25%, e parece apresentar as mesmas características clinico-histopatológicas que nas mulheres (32; 33). Estudo populacional realizado com trabalhadores latinos que trabalham em fazendas, mostraram uma prevalência média de 14,5% de melasma em homens (34).

#### **4.1.3. Manifestações clínicas e classificação:**

O melasma é uma dermatose adquirida, caracterizada pela presença de manchas simétricas e hiperpigmentadas em áreas fotoexpostas, principalmente na face, e de forma menos freqüente no pescoço, colo e braços. As manchas variam de tonalidade dependendo do fototipo do paciente e da quantidade de depósito de melanina na lesão. As bordas das lesões são serrilhadas, irregulares e geográficas. A área acometida também é variável, desde pequena mancha até acometimento total da face ou grande extensão dos braços (4).

No melasma facial a gravidade da doença é determinada pela intensidade da cor da mancha, sua homogeneidade e a sua extensão (35). Não há qualquer tipo de sintoma ou acometimento de mucosas relacionado com a doença.

Normalmente as manifestações clínicas do melasma iniciam após a puberdade, na faixa dos 20 a 30 anos de idade. As manchas podem surgir de forma súbita, em decorrência de exposição solar intensa, ou gradualmente, com tendência a exacerbações nos períodos de verão (1).

A distribuição simétrica das lesões é uma característica constante na doença, e facilita seu diagnóstico diferencial com as alterações pigmentares com localização assimétrica ou unilateral. Ao contrário da hiperpigmentação pós-inflamatória, na qual o prurido e o eritema podem anteceder as lesões pigmentadas, sinais inflamatórios não são observados no melasma (36).

De acordo com a distribuição clínica das manchas, o melasma facial pode apresentar três padrões clínicos distintos. O padrão centrofacial acomete a porção medial das regiões malares, a fronte, o nariz e o mento; o padrão malar limita-se às regiões malares e ao dorso nasal e o padrão mandibular acomete os ramos das mandíbulas (37).

A definição do local predominante do depósito de pigmento do melasma é de grande importância para prever as respostas terapêuticas. Uma das formas mais fáceis de obter esta informação é a utilização da iluminação com radiação ultravioleta A (R-UVA) pela lâmpada de Wood. Através dela classificamos o melasma em tipo *epidérmico*, onde a pigmentação é intensificada ao exame com a lâmpada de Wood; tipo *dérmico*, onde a

pigmentação não aumenta a este mesmo exame e tipo *misto*, com áreas heterogêneas de aumento da pigmentação. Cerca de 70% dos pacientes apresentam melasma *epidérmico*, 10-15% o *dérmico* e 20% o *misto* (38). A técnica diagnóstica utilizando a lâmpada de Wood, no entanto, tem sido questionada por alguns estudos. Através da análise microscópica de biópsias de pele com melasma foi observado que o nível de deposição do pigmento nem sempre corresponde à leitura por iluminação, sendo que a maioria do melasmas tem componentes tanto dérmicos como epidérmicos (17).

Estudos recentes têm tentado aplicar a microscopia confocal de refletância como instrumento para avaliação histológica e classificação do melasma *in vivo*. A microscopia confocal de refletância é uma técnica relativamente nova que permite a avaliação em tempo real das camadas mais superficiais da pele, obtendo imagens de forma não-invasiva interpretadas pelos índices de refletância da luz em diferentes estruturas cutâneas (39-41).

A localização da deposição de pigmento permitiria prever a resposta ao tratamento, pois melasmas formados por pigmento *epidérmico* clareiam mais facilmente com medicações tópicas. Nos casos de melasma *dérmico*, a eliminação das manchas demanda mais tempo, já que depende da remoção da melanina pelos macrófagos (37).

#### **4.1.4. Etiopatogenia:**

As causas precisas do melasma ainda não foram completamente elucidadas. Vários determinantes, genéticos e ambientais, têm sido observados na sua gênese.

A suscetibilidade genética e os fatores raciais contribuem significativamente para a patogênese do melasma facial, como sugerido pela sua alta incidência nos familiares das pacientes e pelo fato da dermatose ser mais comum em pessoas de origem latina ou oriental (2; 4; 42; 43). Ortonne et al. recentemente conduziram um estudo com nove centros pelo mundo que mostrou que 48% dos indivíduos com melasma tinham história familiar para esta dermatose e, dentre os com história familiar positiva, 97% eram em familiares de primeiro grau (44).

Os fatores hormonais também têm sido indicados como causas de melasma, em pacientes geneticamente predispostos, devido ao seu freqüente surgimento ou piora durante a gestação (29; 30; 45-48), após o uso de anticoncepcional oral (ACO) (44; 49), ou uso de terapia de reposição hormonal (TRH) em mulheres no climatério ou menopausa (7-9).

O mecanismo pelo qual o estrogênio induz o melasma ainda não é bem compreendido. Estudos *in vitro* mostraram que melanócitos humanos expressam receptores de estrogênio (50; 51), e que o estradiol aumenta os níveis das enzimas envolvidas na eumelanogênese como a tirosinase, a proteína relacionada à tirosinase tipo-1 (TRP-1) e a proteína relacionada à tirosinase tipo-2 (TRP-2)(52). Da mesma forma, a expressão do receptor da melanocortina tipo-1 (MC1-R) também é estimulada pelos níveis de estradiol, aumentando sua capacidade de ligar-se ao hormônio estimulador de melanócitos- $\alpha$  ( $\alpha$ -MSH) (53; 54).

Ainda relacionado ao estrogênio, Liebermann et al demonstraram, numa pequena amostra de pacientes, aumento qualitativo dos receptores de

estrogênio (RE) na pele da face com melasma comparada com pele perilesional, sugerindo que há expressão diferente dos REs nos locais com melasma facial (19). Especula-se, desta forma, que os melanócitos nos pacientes com melasma possam ser inerentemente mais suscetíveis ao aumento das concentrações de estrogênio e possivelmente de outros hormônios sexuais (55).

Em um estudo recente, Jang et al reforçaram estas teorias comparando a expressão imuno-histoquímica para receptores de estrogênio (RE) e progesterona (RP) na pele com melasma comparada com pele normal adjacente, e encontraram tendência ao aumento da expressão dos REs fração  $\beta$ , e aumento significativo dos RP (20).

O papel da progesterona no melasma ainda não está bem esclarecido, pois alguns estudos *in vitro* como de Wiedemann et al sugeriram que esse hormônio inibiria a proliferação de melanócitos humanos (56).

Nos homens, os fatores etiológicos mais importantes para o surgimento do melasma incluem a exposição à luz solar e a predisposição familiar, enquanto que os fatores hormonais parecem não conferir um risco tão importante quanto nas mulheres (31).

A exposição solar está entre os fatores mais importantes relacionados à patogênese do melasma. A piora do quadro nos períodos ensolarados do ano, a remissão nos meses de inverno e os achados compatíveis com elastose solar apontam fortemente para o papel da radiação ultravioleta (RUV) no melasma (4; 6).

Por meio de microscopia eletrônica foi verificado que os melanócitos na pele afetada pelo melasma apresentavam número muito aumentado de dendritos, exibindo rápido aumento na síntese de DNA com a exposição solar e multiplicando-se aceleradamente (57).

Além disso, da mesma forma que já descrita com o estradiol, a radiação ultravioleta B (RUV-B) estimula a síntese de hormônio estimulador de alfa melanócito ( $\alpha$ -MSH) e hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), que se ligam ao receptor de melanocortina-1 (MCR-1), induzindo a proliferação de melanócitos e o aumento da produção de melanina (53; 58-61).

O surgimento do melasma também pode estar relacionado ao uso de cosméticos e de certas medicações, como anticonvulsivantes e substâncias fotossensibilizantes (4; 62).

A associação do melasma com endocrinopatias e doenças auto-imunes da tireóide também já foi sugerida (63; 64).

#### **4.1.5. Histopatologia e imuno-histoquímica:**

O conhecimento dos aspectos morfológicos e fisiológicos do melasma é essencial para a melhor compreensão da sua patogênese e busca de tratamentos mais eficazes. Existem alguns estudos esclarecedores avaliando as alterações histopatológicas do melasma.

Sanchez et al (18) descreveram em 1981 os achados histológicos de 17 pacientes com melasma facial. Sua metodologia utilizou colorações de hematoxilina-eosina (HE), Fontana-Masson, *split* dopa, imunofluorescência direta e microscopia eletrônica. Os resultados desse estudo mostraram a

presença de melanócitos e de melanina na epiderme, vacuolopatia basilar e infiltrado linfo-histiocitário aumentados nas áreas com melasma com relação à pele normal. No entanto, a maioria das biópsias de controle foi realizada nos braços onde, sabidamente, há menos melanócitos do que na pele da face (65).

Kang et al (16) em 2002, realizaram estudo semelhante analisando histologicamente biópsias de melasma facial de 56 pacientes coreanos, sendo que as biópsias de controle foram realizadas em áreas da face adjacentes às de melasma. Na pele lesional, havia maior quantidade de melanina em todas as camadas da epiderme, inclusive no estrato córneo, enquanto que, na pele perilesional, o pigmento melânico estava confinado, principalmente, à camada basal.

A técnica de imuno-histoquímica que utiliza o anticorpo monoclonal *NKI-beteb* mostrou aumento no número de melanócitos epidérmicos nas lesões de melasma e o anticorpo Mel-5 indicou um nível elevado da enzima TRP-1 e conseqüentemente, um aumento da síntese de eumelanina (16).

A análise ultra-estrutural por microscopia eletrônica evidenciou melanócitos da pele com melasma com número maior de dendritos e organelas citoplasmáticas, indicando atividade celular intensa (16).

Os resultados do trabalho de Kang et al (16) mostraram ainda uma quantidade significativamente maior de elastose solar nas lesões e as fibras elásticas mostravam-se mais espessas, curvas e fragmentadas à coloração de Verhoeff-Van Gieson. Os autores especulam que o dano solar na

derme, representado pela elastose solar mais acentuada, poderia exercer certa influência no desenvolvimento da hiperpigmentação na epiderme.

Grimes et al (17), mais recentemente, conduziram estudo em biópsias de melasma facial e pele perilesional em 21 pacientes. A avaliação das alterações epidérmicas e dérmicas foi realizada por microscopia óptica, análise de imagem computadorizada, imuno-histoquímica e microscopia eletrônica. As colorações para detecção de melanina consistiram em HE e Fontana-Masson; a técnica de imunohistoquímica para detectar melanina utilizou o anticorpo Mel-5. Da mesma forma que no estudo de Kang et al (16), os autores detectaram aumento significativo do depósito de melanina na epiderme e derme de todas as biópsias de melasma. Os melanócitos nestes locais eram maiores, coravam-se de forma mais intensa e apresentavam maior número de dendritos. No entanto, não foi observado aumento no número de melanócitos.

Sarvjot e cols., em 2009, (12) publicaram um estudo realizado com 43 pacientes com melasma facial biopsiados nas áreas de melasma e usando colorações de HE e Fontana-Masson. Não foram realizados exames histológicos de controle. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre classificação clínica e a microscópica do tipo de melasma (epidérmico, dérmico ou misto). Semelhante aos outros trabalhos já publicados, os achados de elastose solar, achatamento epidérmico e infiltrado linfomononuclear foram significativos. A avaliação da quantidade de melanócitos foi feita por contagem manual e realizada relação queratinócito/melanócito. Através desta técnica os autores presumem que há aumento do número de melanócitos na pele com melasma (12).



No nosso meio, Miot et al (14) realizaram um trabalho que contempla metodologia similar à aplicada nos estudos já descritos, mostrando as características morfofuncionais dos melanócitos em lesões de melasma de 12 pacientes. Além das colorações de HE e Fontana-Masson, foi realizada imuno-histoquímica com anticorpo monoclonal Melan-A e microscopia eletrônica. A quantificação epidérmica de melanina e melanócitos foi estimada a partir de análise citomorfométrica digital (14). Os resultados desse estudo foram semelhantes aos encontrados por Grimes et al, demonstrando aumento da densidade de melanina epidérmica e dérmica, e achados compatíveis com melanócitos hiperfuncionais, mas sem aumento significativo no seu número.

Estudos recentes têm dado ênfase na pesquisa do  $\alpha$ -MSH e seus receptores e suas relações com melasma. O  $\alpha$ -MSH é um peptídeo produzido por várias células, entre elas, queratinócitos, melanócitos e fibroblastos que tem um forte efeito melanogênico. O mecanismo exato de sua ação ainda não é bem compreendido, porém parece ter papel fundamental no surgimento do melasma. O receptor MC1-R é aquele no qual o  $\alpha$ -MSH se liga iniciando a cascata de ativação que leva a produção da eumelanina. O aumento da expressão deste receptor pode ter um papel importante na imunorreatividade ao  $\alpha$ -MSH e contribuir para o entendimento da patogênese do melasma (16; 59).

Em 2010, Miot et al (15) publicaram uma ampliação de seu estudo original, com maior número de pacientes (44 indivíduos) e realização de imunohistoquímica para receptor de hormônio estimulador de alfa-melanócito ( $\alpha$ -MSH) e para receptor de melanocortina-1 além dos testes já realizados.

Os resultados deste estudo mostraram que a imunorreatividade tanto para o  $\alpha$ -MSH como para o MC1-R foram significativamente maiores na pele com melasma que na pele adjacente (15).

A expressão imuno-histoquímica para receptores hormonais no melasma também é foco recente de estudos já que nas lesões faciais o surgimento do melasma pode estar associado com ação estrogênica (19; 20).

Nos dois únicos estudos *in vivo* publicados a expressão dos RE está aumentada nas áreas com melasma. Jang et al.(20) avaliaram 33 pacientes coreanas com melasma facial. Foram feitas biópsias de controle perilesionais e avaliação imunohistoquímica com RE- $\alpha$ , RE- $\beta$  e RP. A imunorreatividade do RE- $\alpha$  foi fraca e não significativa, enquanto que a expressão do RE- $\beta$  mostrou tendência a estar aumentada nas lesões epidérmica e aumento significativo na derme, especialmente em torno de vasos. O RP mostrou aumento significativo nas lesões epidérmicas (20).

O fato do RE- $\alpha$  não expressar-se no melasma poderia ser esperado já que algumas publicações anteriores sugeriam que a o RE- $\beta$  é tipo predominante de RE nas lesões melanocíticas (66). Os autores presumem desta forma que o RE- $\beta$  e o RP estão envolvidos na ativação sobre os melanócitos e, portanto na fisiopatogenia do melasma (20).

## **4.2. Técnicas não-invasivas para avaliação do melasma:**

### **4.2.1. MASI – *Melasma Area and Severity Index***

O índice MASI foi proposto por Kimbrough-Green et al (35) , em 1994, para quantificar de forma acurada a gravidade do melasma facial.

Obtém-se o MASI através da inspeção visual da face. Primeiramente, a face é dividida em 4 áreas: frente (F), malar direita (MR), malar esquerda (ML) e mento (C), cada uma correspondendo a 30%, 30%, 30% e 10% da área total respectivamente. Observam-se, então, as características das lesões nessas áreas, atribuindo um escore a cada uma das seguintes variáveis:

**1. Percentagem total da área acometida (A):** de 0 ( pele normal) até 6 (90 a 100% de acometimento)

**2. Hiperpigmentação (D):** de 0 (ausente) até 4 ( máxima)

**3. Homogeneidade da pigmentação (H):** de 0 ( mínima) até 4 ( máxima)

Por fim, calcula-se o MASI pela seguinte equação:

$$\text{MASI} = 0,3(\text{DF}+\text{HF})\text{AF} + 0,3(\text{DMR}+\text{HMR})\text{AMR} + 0,3(\text{DML}+\text{HML})\text{AML} + 0,1(\text{DC}+\text{HC})\text{AC}$$

Onde:

F= frente MR= malar direita ML=malar esquerda C=mento

O valor máximo obtido é 48, correlacionando-se com a maior gravidade possível da doença. O MASI vem sendo utilizado para documentação da melhora das lesões após tratamentos variados e, mais recentemente, nos estudos que correlacionam a qualidade de vida dos pacientes com a gravidade do melasma (67).

#### **4.2.2. Escore Global de Gravidade do Melasma**

Este escore avalia a gravidade do melasma comparando a intensidade da mancha com a pele normal adjacente. Utiliza pontuação de 0

até 3 onde: **0** = lesões de melasma aproximadamente equivalentes a pele adjacente normal, **1** = lesões de melasma levemente mais escuras que a pele adjacente normal, **2** = lesões de melasma moderadamente mais escuras que a pele adjacente normal e **3**= lesões de melasma marcadamente mais escuras que a pele adjacente normal (67).

#### **4.2.3. Colorimetria**

A colorimetria é uma técnica que utiliza aparelhos específicos, capazes de quantificar a intensidade do eritema e da pigmentação da pele. Vários instrumentos comerciais foram desenvolvidos para esse propósito. Os colorímetros possibilitam a medida rápida e não invasiva da cor da pele, baseada no sistema de coordenadas  $L^*a^*b^*$ , estabelecido pela CIE (*Comission Internacional de l'Éclairage*) (68). Possuem uma lâmpada de arco de xenônio policromática, que provê iluminação à amostra, e seis fotocélulas de silicone de alta sensibilidade, três das quais monitoram a luz produzida pela lâmpada e as demais, que medem a luz refletida pela amostra. Um pulso de luz visível é emitido da fonte para a superfície da pele, e a luz refletida é analisada por uma unidade de análise ótica, ligada a um microcomputador, que calcula o resultado final (69).

O sistema  $L^*a^*b^*$  é o mais utilizado para quantificar a cor da superfície cutânea. A medida do  $L^*$  percorre uma escala que vai do preto para o branco, variando do zero ao 100, respectivamente. Nos pacientes de pele clara, o valor  $L^*$  encontra-se geralmente entre 62 e 71. A coordenada  $a^*$  representa valores de cores que vão do verde (valores negativos) ao vermelho (valores positivos), e a coordenada  $b^*$  representa valores de cores entre o azul

(negativo) e o amarelo (positivo)(70). A coordenada  $L^*$  tem sido a mais utilizada, pois se correlaciona com o índice de melanina (71; 72).

Do ponto de vista prático, o valor  $L^*$  expressa o brilho relativo da cor (do preto para o branco) e mede a pigmentação; o valor  $a^*$  avalia eritema e vermelhidão da pele; e o valor  $b^*$  registra a resposta de bronzeamento da pele. A colorimetria é um método que, se realizado de forma sistemática e padronizada, oferece dados confiáveis e reproduzíveis com relação à pigmentação das manchas de melasma (67; 73).

#### **4.2.4. Fotografia digital**

A documentação fotográfica das lesões de pele tem permeado a quase totalidade dos estudos dermatológicos, impulsionada pelo recente salto na qualidade e facilidade do uso de máquinas digitais.

A fotografia digital é considerada bastante satisfatória nos quesitos qualidade e precisão, além de possibilitar análises colorimétricas no computador, numa tentativa de quantificar objetivamente os resultados dos tratamentos. Entretanto, ainda esbarra na dificuldade de padronização, principalmente em estudos multicêntricos.

#### **4.2.5. Avaliação de qualidade de vida (MELASQoL)**

O melasma é uma doença pigmentar crônica e recorrente. Infelizmente, a idéia de que se trate de manifestação tão somente cosmética leva a subdiagnósticos e tratamentos inadequados. A característica desfigurante do melasma afeta intensamente o funcionamento físico e psicológico dos indivíduos (74-76).

Na medida em que se percebeu que a qualidade de vida e o aspecto visível das lesões de pele estão fortemente relacionados, vários questionários, gerais e específicos, com o intuito de avaliar o impacto provocado pelas doenças dermatológicas, foram criados (74; 77).

O MELASQoL (*Melasma Quality of Life scale*) é um questionário específico, desenvolvido com a finalidade de documentar como a vida das mulheres pode ser afetada pelo melasma. Foi desenvolvido e validado em 2003 por Balkrishnan et al (78) . O questionário é composto por dez questões que abordam diferentes aspectos da vida do paciente. Numa escala de 1 (nem um pouco incomodado) a 7 (incomodado o tempo todo), o paciente deve informar como se sente em relação a cada um dos itens. O MELASQoL pode variar de 7 a 70, sendo que os valores mais altos indicam pior qualidade de vida.

Dominguez et al (79) e Cestari et al (80) traduziram e validaram o MELASQuOL para o Espanhol (MELASQoL-SP) e para a o Português falado no Brasil (MELASQoL-PB), respectivamente. Atualmente estes questionários são utilizados também para avaliar o impacto na qualidade de vida dos tratamentos instituídos para o melasma (67).

### **4.3. Diagnósticos diferenciais**

O diagnóstico diferencial de melasma facial deve ser feito com hiperpigmentação pós-inflamatória, nevo adquirido bilateral similar ao nevo de Ota, hiperpigmentação periorbitária, eritrose peribuca pigmentar de Brocq, eritromelanose folicular facial, lentigo simples, efélides, melanoses solares, melanose de Riehl e líquen plano actínico (36; 67).

O melasma extra-facial, por sua vez, deve ser diferenciado de discromatose simétrica, uma doença genética vista predominantemente em asiáticos, prurigo pigmentoso, amiloidose macular, prurigo melanótico, dermatites de contato hipercrômicas, hiperpigmentações pós-inflamatórias e secundárias a medicamentos (10).

A adequada coleta de informações, como a idade de surgimento das lesões, o curso da doença e seus possíveis agravantes, bem como a realização de exame clínico cuidadoso, possibilitarão o diagnóstico diferencial, tornando a histologia raramente necessária.

#### **4.4. Melasma extra-facial**

O melasma extra-facial apresenta as mesmas características clínicas do melasma facial, manifestando-se como manchas hipercrômicas simétricas nos antebraços e braços, região cervical e esternal e eventualmente no dorso. Apesar de não ser infreqüente na prática clínica, existem poucos relatos que descrevem essa entidade na literatura científica, e não há estudos específicos que determinem se apresenta fisiopatogenia semelhante à do melasma facial.

A primeira descrição desta dermatose na literatura foi feita por O'brien et al (7) em 1997. Eles relataram uma série de casos de 7 pacientes apresentando manchas hipercrômicas simétricas nos braços. Os pacientes tinham idade entre 41 e 67 anos. Seis destes pacientes eram mulheres e 4 delas haviam feito uso de terapia de reposição hormonal (via oral ou transcutânea). O único homem deste grupo de pacientes havia iniciado com as manchas após quimioterapia para carcinoma de próstata com fosfoterol

tretrasódico, um agente citostático estrogênico com atividade estrogênica pronunciada. As duas pacientes mulheres que não haviam usado terapia de reposição hormonal (TRH) estavam em uso de anti-hipertensivos da classe dos beta-bloqueadores e dos inibidores da recaptção da angiotensina. Não houve realização de estudo histopatológico das lesões.

Relatos publicados posteriormente (8; 9) vieram ao encontro dos achados da publicação de O'Brien et al (7), que relacionava o surgimento das manchas de melasma extra-facial com uso de TRH.

Em 2000, uma série de casos de 20 pacientes com quadro cutâneo que foram descritos como discromatose cutânea braquial adquirida (*acquired brachial cutaneous dischromatosis - ABCD*) foi descrito por Rongioletti et al (10). As lesões de pele consistiam em manchas hiperocrômicas, com bordas geográficas, simétricas acometendo a região dorsal dos braços. Destes 20 pacientes, 19 eram mulheres com idade entre 46 e 72 anos. Na avaliação clínica 9 pacientes apresentavam poiquilodermia de Civatte associada. Treze pacientes eram hipertensos e destes, 10 estavam usando inibidores da conversão da angiotensina, 6 estavam usando diuréticos e bloqueadores do canal de cálcio e 3 usavam beta-bloqueadores. Não há a descrição do uso de pílula anticoncepcional ou TRH e o autor comenta que não detectou estes fatores como predisponentes ao surgimento das manchas (10).

A avaliação laboratorial não foi homogênea para todos pacientes avaliados no estudo de Rongioletti.(10) Quinze deles realizaram exames laboratoriais de rotina que mostram hiperglicemia de jejum em uma paciente e dislipidemia em dois. Exames laboratoriais hormonais foram realizados



somente em 3 pacientes e mostraram aumento de prolactina sérica e discreto aumento de cortisol sérico em duas pacientes distintas.

Os autores realizaram biópsias em 5 pacientes e mostraram atrofia epidérmica, aumento da pigmentação na camada basal e elastose actínica. (10). Por fim, concluíram que os achados histopatológicos lembravam muito melasma, mas que pela ausência de fatores hormonais predisponentes e idade de apresentação da dermatose, trata-se de entidade distinta, que afeta mulheres de meia-idade hipertensas tratadas com inibidores da enzima conversora da angiotensina (10). Ainda que este último trabalho tenha sido o estudo com maior amostra de pacientes, apresenta uma série de limitações metodológicas que não permite afirmações a cerca das características relacionadas ao melasma extra-facial.

## 5. Objetivos

### 5.1. Objetivo Geral:

Avaliar as características clínicas dos pacientes que apresentam melasma extra-facial e analisar os achados histológico e imuno-histoquímico de biópsia de pele de áreas lesionais.

### 5.2. Objetivos Específicos:

1. Comparar as características clínicas, presença de comorbidades, uso de medicações, aspectos do exame físico e da história médica pregressa de pacientes com melasma extra-facial e grupo controle.

2. Comparar através de exame histopatológico e imuno-histoquímico as características morfofuncionais de biópsias de pele de melasma extra-facial com biópsias de pele não acometida.

3. Avaliar a aplicação de *software* de análise de imagens desenvolvido para quantificação da melanina na epiderme do melasma e perilesional.

## 6. Referências bibliográficas:

1. Nicolaidou E, Antoniou C, Katsambas AD. Origin, clinical presentation, and diagnosis of facial hypermelanoses. *Dermatol Clin* 2007; 25: 321-6.
2. Grimes P, Nordlund JJ, Pandya AG, *et al.* Increasing our understanding of pigmentary disorders. *J Am Acad Dermatol* 2006 May; 54:S255-61.
3. Jadotte YT, Schwartz R. Melasma: insights and perspectives. *Acta Dermatovenerol Croat* 2010; 18: 124-9.
4. Rigopoulos D, Gregoriou S, Katsambas A. Hyperpigmentation and melasma. *J Cosmet Dermatol* 2007; 6: 195-202.
5. Cestari TF, Benvenuto-Andrade C. Hyperpigmentation and Melasma: A Physiopathologic Review for the Clinical Dermatologist. *Cosmet Dermatol* 2005; 18: 703-706.
6. Miot LDB, Miot HA, Silva MGD, *et al.* Fisiopatologia do melasma. *An Bras Dermatol* 2009; 84: 623-635.
7. O'Brien TJ, Dyall-Smith D, Hall AP. Melasma of the forearms. *Austral J Dermatol* 1997; 38: 35-7.
8. Johnston GA, Sviland L, McLelland J. Melasma of the arms associated with hormone replacement therapy. *Br J Dermatol* 1998; 139: 932.
9. Varma S, Roberts DL. Melasma of the arms associated with hormone replacement therapy. *Br J Dermatol* 1999; 141: 592.
10. Rongioletti F, Rebora A. Acquired brachial cutaneous dyschromatosis: a common pigmentary disorder of the arm in middle-aged women. *J Am Acad Dermatol* 2000; 42: 680-4.

11. Torres-Álvarez B, Mesa-Garza IG, Castanedo-Cázares JP, *et al.* Histochemical and immunohistochemical study in melasma: evidence of damage in the basal membrane. *Am J Dermatopathol* 2011; 33: 291-5.
12. Sarvjot V, Sharma S, Mishra S, *et al.* Melasma: a clinicopathological study of 43 cases. *Ind J Pathol Microbiol* 2009; 52: 357-9.
13. Sanchez NP, Pathak MA, Sato S, *et al.* Melasma: a clinical, light microscopic, ultrastructural, and immunofluorescence study. *J Am Acad Dermatol* 1981; 4: 698-710.
14. Miot LD, Miot HA, Silva MG, *et al.* Estudo comparativo morfofuncional em lesões de melasma. *An Bras Dermatol* 2007; 82: 529-534.
15. Miot LD, Miot H a, Polettini J, *et al.* Morphologic changes and the expression of alpha-melanocyte stimulating hormone and melanocortin-1 receptor in melasma lesions: a comparative study. *Am J Dermatopathol* 2010; 32: 676-82.
16. Kang WH, Yoon KH, Lee E-S, *et al.* Melasma: histopathological characteristics in 56 Korean patients. *Br J Dermatol* 2002; 146: 228-37.
17. Grimes PE, Yamada N, Bhawan J. Light microscopic, immunohistochemical, and ultrastructural alterations in patients with melasma. *Am J Dermatopathol* 2005; 27: 96-101.
18. Sanchez NP, Pathak MA, Sato S, *et al.* Melasma: A clinical, ultrastructural, lighth microscopic, ultrastructural, and immunofluorescence study. *J Am Acad Dermatol* 1981; 4: 698- 710.
19. Lieberman R, Moy L. Estrogen receptor expression in melasma: results from facial skin of affected patients. *J Drugs Dermatol* 2008; 7: 463-5.

20. Jang YH, Lee JY, Kang HY, *et al.* Oestrogen and progesterone receptor expression in melasma: an immunohistochemical analysis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2010; 24:1312-6.
21. Halder RM, Nootheti PK. Ethnic skin disorders overview. *J Am Acad Dermatol* 2003; 48: S143-8.
22. Cestari T, Arellano I, Hexsel D, *et al.* Melasma in Latin America: options for therapy and treatment algorithm. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2009; 23: 760-72.
23. Sanchez M. Cutaneous diseases in Latinos. *Dermatol Clin* 2003; 21: 689-697.
24. Bonilla C, Parra EJ, Pfaff CL, *et al.* Admixture in the Hispanics of the San Luis Valley, Colorado, and its implications for complex trait gene mapping. *Am J Hum Genet* 2004; 68: 139-53.
25. Werlinger K, Guevara IL, Gonzalez C, *et al.* Prevalence of self-diagnosed melasma among premenopausal latino women in Dallas and Fort Worth, Tex. *Arch Dermatol* 2007; 143: 424-5.
26. Failmezger C. Incidence of skin disease in Cuzco, Peru. *Int J Dermatol* 1992; 31: 560-1.
27. Albares Tendero MP, Belinchón Romero I, Ramos Rincón JM, *et al.* Dermatoses in Latin American immigrants seen in a tertiary hospital. *Eur J Dermatol* 2009; 19: 157-62.
28. Sociedade Brasileira de Dermatologia. Perfil nosológico das consultas dermatológicas no Brasil. *An Bras Dermatol* 2006; 81: 549-558.
29. Moin A, Jabery Z, Fallah N. Prevalence and awareness of melasma during pregnancy. *Int J Dermatol* 2006; 45: 285-8.

30. Hexsel D, Rodrigues TC, Dal'Forno T, *et al.* Melasma and pregnancy in southern Brazil. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2009; 23: 367-8.
31. Vázquez M, Maldonado H, Benmamán C, *et al.* Melasma in men. A clinical and histologic study. *Int J Dermatol* 1988; 27: 25-7.
32. Sarkar R. Melasma in Indian Males. *Dermatol Surg* 2003; 29: 204.
33. Sarkar R, Puri P, Jain RK, *et al.* Melasma in men: a clinical, aetiological and histological study. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2010; 24: 768-72.
34. Pichardo R, Vallejos Q, Feldman SR, *et al.* The prevalence of melasma and its association with quality of life in adult male Latino migrant workers. *Int J Dermatol* 2009; 48: 22-6.
35. Kimbrough-Green CK, Griffiths CE, Finkel LJ, *et al.* Topical retinoic acid (tretinoin) for melasma in black patients. A vehicle-controlled clinical trial. *Arch Dermatol* 1994; 130: 727-33.
36. Im S, Hann S, Kang WH. Melasma. In: *New Concept of Melasma and Postinflammatory Hyperpigmentation*. 2002. p. 29-176.
37. Katsambas A. Melasma. Classification and treatment. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 1995; 4: 217-223.
38. Victor FC, Gelber J, Rao B. Melasma: a review. *J Cut Med Surg* 2004; 8: 97-102.
39. Kang HY, Bahadoran P, Suzuki I, *et al.* In vivo reflectance confocal microscopy detects pigmentary changes in melasma at a cellular level resolution. *Exp Dermatol* 2010; 19: 228-33.
40. Ardigo M, Cameli N, Berardesca E, Gonzalez S. Characterization and evaluation of pigment distribution and response to therapy in melasma

- using in vivo reflectance confocal microscopy: a preliminary study. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2010; 24: 1296-303.
- 41.Liu H, Lin Y, Nie X, *et al.* Histological classification of melasma with reflectance confocal microscopy: a pilot study in Chinese patients. *Skin Res Technol* 2011; [*Epub ahead of print*]
- 42.Grimes PE. Melasma. Etiologic and therapeutic considerations. *Arch Dermatol.* 1995; 131: 1453-7.
- 43.Perez M, Luke J, Rossi A. Melasma in Latin Americans. *J Drugs Dermatol* 2011; 10: 517-523.
- 44.Ortonne JP, Arellano I, Berneburg M, *et al.* A global survey of the role of ultraviolet radiation and hormonal influences in the development of melasma. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2009; 23:1254-62.
- 45.Muzaffar F, Hussain I, Haroon TS. Physiologic skin changes during pregnancy: a study of 140 cases. *Int J Dermatol* 1998; 37: 429-31.
- 46.Bolanca I, Bolanca Z, Kuna K, *et al.* Chloasma--the mask of pregnancy. *Coll Antropol* 2008; 32: 2139-41.
- 47.Winton GB, Lewis CW. Dermatoses of pregnancy. *J Am Acad Dermatol* 1982; 6: 977-98.
- 48.Costin G-E, Birlea S-A. What is the mechanism for melasma that so commonly accompanies human pregnancy? *IUBMB Life* 2006; 58: 55-7.
- 49.Resnick S. Melasma induced by oral contraceptive drugs. *JAMA.* 1967; 19: 995-99.
- 50.Im S, Lee ES, Kim W, *et al.* Donor specific response of estrogen and progesterone on cultured human melanocytes. *J Kor Med Science* 2002; 17:58-64.

51. Jee SH, Lee SY, Chiu HC, *et al.* Effects of estrogen and estrogen receptor in normal human melanocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 199: 1407-12.
52. Kippenberger S, Loitsch S, Solano F, *et al.* Quantification of tyrosinase, TRP-1, and Trp-2 transcripts in human melanocytes by reverse transcriptase-competitive multiplex PCR--regulation by steroid hormones. *J Invest Dermatol* 1998; 110: 364-7.
53. Scott MC, Suzuki I, Abdel-Malek ZA. Regulation of the human melanocortin 1 receptor expression in epidermal melanocytes by paracrine and endocrine factors and by ultraviolet radiation. *Pig Cell Res* 2002; 15: 433-9.
54. Suzuki I, Cone RD, Im S, *et al.* Binding of melanotropic hormones to the melanocortin receptor MC1R on human melanocytes stimulates proliferation and melanogenesis. *Endocrinol* 1996; 137:1627-33.
55. Young Kang H, Ortonne J-P. Melasma update. *Actas Dermosifiliogr* 2009; 100: 110-3.
56. Wiedemann C, Nägele U, Schramm G, Berking C. Inhibitory effects of progestogens on the estrogen stimulation of melanocytes in vitro. *Contraception* 2009; 80: 292-8.
57. Perez MI. The stepwise approach to the treatment of melasma. *Cutis* 2005; 75: 217-22.
58. Gilchrist BA, Park HY, Eller MS, Yaar M. Mechanisms of ultraviolet light-induced pigmentation. *Photochem Photobiol* 1996; 63: 1-10.



- 59.Im S, Kim J, On WY, Kang WH. Increased expression of alpha-melanocyte-stimulating hormone in the lesional skin of melasma. *Br J Dermatol* 2002; 146: 165-7.
- 60.Im S, Moro O, Peng F, *et al.* Activation of the cyclic AMP pathway by alpha-melanotropin mediates the response of human melanocytes to ultraviolet B radiation. *Cancer Res* 1998; 58: 47-54.
- 61.Suzuki I, Kato T, Motokawa T, *et al.* Increase of pro-opiomelanocortin mRNA prior to tyrosinase, tyrosinase-related protein 1, dopachrome tautomerase, Pmel-17/gp100, and P-protein mRNA in human skin after ultraviolet B irradiation. *J Invest Dermatol.* 2002; 118: 73-8.
- 62.Pandya AG, Guevara IL. Disorders of hyperpigmentation. *Dermatol Clin* 2000; 18: 91-8.
- 63.Lutfi RJ, Fridmanis M, Misiunas AL, *et al.* Association of melasma with thyroid autoimmunity and other thyroidal abnormalities and their relationship to the origin of the melasma. *J Clin Endocrinol Metabol* 1985; 61: 28-31.
- 64.Pérez M, Sánchez JL, Aguiló F. Endocrinologic profile of patients with idiopathic melasma. *J Invest Dermatol* 1983; 81: 543-5.
- 65.Pathak MA, Riley FC, Fitzpatrick TB. Melanogenesis in human skin following exposure to long-wave ultraviolet and visible light. *J Invest Dermatol* 1962; 39: 435-43.
- 66.Schmidt AN, Nanney LB, Boyd AS, *et al.* Oestrogen receptor-beta expression in melanocytic lesions. *Expe Dermatol* 2006; 15: 971-80.
- 67.Pandya A, Berneburg M, Ortonne J-P, *et al.* Guidelines for clinical trials in melasma. *Br J Dermatol* 2006; 156 Suppl 21-8.

68. Serup J, Agner T. Colorimetric quantification of erythema--a comparison of two colorimeters (Lange Micro Color and Minolta Chroma Meter CR-200) with a clinical scoring scheme and laser-Doppler flowmetry. *Clin Exp Dermatol* 1990; 15: 267-72.
69. Weatherall IL, Coombs BD. Skin color measurements in terms of CIELAB color space values. *J Invest Dermatol* 1992; 99: 468-73.
70. Nose T, Tsurumi K. Pharmacological studies on cutaneous inflammation induced by ultraviolet irradiation (1): Quantification of erythema by reflectance colorimetry and correlation with cutaneous blood flow. *Jap J Pharmacol* 1993; 62: 245-56.
71. Andreassi L, Casini L, Simoni S, Bartalini P, Fimiani M. Measurement of cutaneous colour and assessment of skin type. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 1990; 7: 20-4.
72. Takiwaki H. Measurement of skin color: practical application and theoretical considerations. *J Med Invest* 1998; 44: 121-6.
73. Van den Kerckhove E, Staes F, Flour M, Stappaerts K, Boeckx W. Reproducibility of repeated measurements on healthy skin with Minolta Chromameter CR-300. *Skin research and technology : official journal of International Society for Bioengineering and the Skin (ISBS) [and] International Society for Digital Imaging of Skin (ISDIS) [and] International Society for Skin Imaging (ISSI)*. 2001 Feb ;7(1):56-9.
74. Taylor A, Pawaskar M, Taylor SL, *et al*. Prevalence of pigmentary disorders and their impact on quality of life: a prospective cohort study. *J Cosmet Dermatol*. 2008; 7: 164-8.

75. Pawaskar MD, Parikh P, Markowski T, *et al.* Melasma and its impact on health-related quality of life in Hispanic women. *J Dermatol Treat* 2007; 18: 5-9.
76. Freitag FM, Cestari TF, Leopoldo LR, *et al.* Effect of melasma on quality of life in a sample of women living in southern Brazil. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008; 22: 655-62.
77. Weber M, Mazzotti N, Prati C, *et al.* Aferição da qualidade de vida na avaliação global do paciente dermatológico. *Rev HCPA* 2006; 26: 35-44.
78. Balkrishnan R, McMichael AJ, Camacho FT, *et al.* Development and validation of a health-related quality of life instrument for women with melasma. *Br J Dermatol* 2003; 149: 572-7.
79. Dominguez AR, Balkrishnan R, Ellzey AR, *et al.* Melasma in Latina patients: cross-cultural adaptation and validation of a quality-of-life questionnaire in Spanish language. *J Am Acad Dermatol* 2006; 55:59-66.
80. Cestari TF, Hexsel D, Viegas ML, *et al.* Validation of a melasma quality of life questionnaire for Brazilian Portuguese language: the MelasQoL-BP study and improvement of QoL of melasma patients after triple combination therapy. *Br J Dermatol* 2006; 156: 13-20.

## 7. Artigo Científico em Inglês

**Title:** Extra-Facial Melasma: A Clinical, Histopathologic and Immunohistochemical Case-Control Study

**Authors:** CG Ritter <sup>1</sup>, DVC Fiss <sup>2</sup>, JAT Borges da Costa <sup>3</sup>, RR de Carvalho <sup>1</sup>, G Bauermann <sup>4</sup> TF Cestari <sup>1</sup>

**Institutions:**

1. Department of Dermatology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, School of Medicine, Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil
2. Experimental Pathology Laboratory, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil
3. Physics Department and Natural and Exact Science Center of Federal University of Santa Maria, Santa Maria, Brazil
4. ANIMATI - Computação Aplicada, Santa Maria, Brazil

**Corresponding author:**

Name: Clarice Gabardo Ritter

Address: Rua Pedro Chaves Barcelos, 715 / 202

CEP 90.450-010

Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

Telephone: 55 – 51 - 3779 - 6468

Fax: 55 – 51 – 2101 - 8570

e-mail: [clariceritter@gmail.com](mailto:clariceritter@gmail.com)

**Supportive found sources:** Fundo de Incentivo a Pesquisa (FIPE) of Hospital de Clínicas de Porto Alegre

**Conflict of interest:** None.

**Abstract:**

**Background:** Extra-facial melasma is a common dermatosis with special characteristics in relation to its clinical aspects and probable etiopathogenic factors. Few studies have attempted to address this alteration of pigmentation, which has become a challenge in clinical Dermatology.

**Objective:** Assess the clinical characteristics associated with patients with extra-facial melasma. Use histopathological and immunohistochemical examinations to compare the morphofunctional characteristics of biopsies from extra-facial melasma with those from unaffected skin.

**Methods:** Case-control study with 45 patients in each group (melasma and disease free volunteers), assessing their clinical characteristics. In 36 patients biopsies were performed on the lesion and the normal perilesional skin. HE and Fontana-Masson staining, and immunohistochemistry for melanocytes and estrogen receptors were performed. Objective measurements were accomplished by a specifically designed image analysis software.

**Results:** In the group with melasma, most patients were women (86.7%) with mean age  $\pm$  SD of  $56.67 \pm 8$  years, 82.1% being menopausal. There was no significant difference between groups regarding the presence of comorbidities, use of medications or hormone therapies. In patients with extra-facial melasma, family history of acne and the previous presence of

facial melasma was significantly higher than in the control group ( $P < 0.05$ ). The HE staining showed increased rectification and basal hyperpigmentation, solar elastosis and the degeneration of collagen in the area of the melasma ( $P < 0.05$ ). Biopsies of melasma showed a significant increase in the density of melanin, but immunohistochemistry showed no difference between groups regarding the number of melanocytes. The estrogen-receptor marker was negative in the studied biopsies.

**Conclusion:** Extra-facial melasma seems to be related to menopause, family history and personal history of facial melasma, in the studied population. Histopathology revealed a similar number of melanocytes in the two groups, suggesting that the hyperpigmentation is most likely the result of a change in the production or distribution of the melanin produced.

**Introduction:**

Melasma is manifested as acquired symmetrical hypermelanosis that occurs exclusively in sun-exposed areas, usually on the face and neck and may also affect the arms and the sternal area (1).

Due to the impact of melasma on the quality of life of patients and the challenges related to its treatment, a growing number of scientific articles have been published on the subject in recent decades. These studies have provided an understanding of many of aspects of the condition, particularly focusing on the facial manifestations of the dermatosis. However, clinical experience shows that a considerable number of patients develop extra-facial lesions, the epidemiological behavior and pathophysiological mechanisms of which require further clarification.

Extra-facial melasma has the same clinical features as facial melasma, appearing as hyperchromic symmetrical spots in the forearms and upper arms, neck and sternum and occasionally the back. Although not uncommon in clinical practice, extra-facial melasma is rarely described in the scientific literature, and there are no specific studies that attempt to determine to what degree its pathophysiology is similar to facial melasma.

In 1997, O'Brien et al (2) were among the first authors to describe a series of seven patients with symmetrical hyperchromic spots on the arms. Their description related the appearance of this skin condition to menopausal women who underwent hormone replacement therapy (HRT). The findings of that publication were in line with the findings of later published reports, which

also supported the hormonal hypothesis regarding the emergence of the spots (3, 4).

In 2000, Rongioletti et al (5) published a case series of 20 patients with skin lesions described as acquired brachial cutaneous dyschromatosis (ABCD). Heterogeneous clinical and laboratory assessments were made of the patients and skin biopsy in was performed 5 of them. The authors determined that although the histopathological findings closely resembled melasma, due to the absence of predisposing hormonal factors and the age at which the dermatosis appeared, it was a separate entity, which affects middle-aged women with hypertension treated with angiotensin-converting enzyme inhibitors (5).

In facial melasma, however, there are several well-designed studies which assess the histomorphological and immunohistochemical characteristics of the spots (6-11). They all show increased amounts of melanin in all layers of the epidermis, and other findings such as epidermal flattening, basal hyperpigmentation, solar elastosis and inflammatory infiltrate. Immunohistochemistry for melanocytes presents some conflicting results. While there are studies that show increased numbers of melanocytes in the area of melasma (7, 10, 11), most other studies agree that it involves hyperfunctional melanocytes, but without a significant increase in their number (6, 8, 9).

The immunohistochemical expression for hormone receptors in melasma has also been the focus of recent studies, since in the facial lesions the onset of melasma seems to be associated with increased levels of estrogen (ER)



(12-18). Jang et al. (19) showed a significantly increased expression of the fraction beta of the estrogen receptor (ER- $\beta$ ) in the dermal layers (especially around vessels) and increased progesterone receptors (PR) in the epidermis of patients with facial melasma.

This case-control study aims to evaluate the clinical characteristics of patients with extra-facial melasma and analyze, through histopathology and immunohistochemistry, the morphofunctional characteristics of the skin biopsies of non-facial melasma compared with non-affected skin.

Greater clarification of these aspects of extra-facial melasma is essential to better understand this skin condition and move make progress towards in the challenge represented by its treatment.

## **Materials and Methods:**

### **1. Patients:**

A case-control study in which there were 45 patients in each group. The population of cases consisted of patients who sought treatment or were referred to the Dermatology Outpatient Clinic of the *Hospital de Clinicas de Porto Alegre* (HCPA) in the period between September 2009 and July 2010. The controls were patients treated at the same service for other skin diseases that were invited to participate in the study and matched to the cases for sex and age.

The criteria for inclusion in the study were age 18 or older, clinical diagnosis of extra-facial melasma: the presence, to the naked eye, of asymptomatic hyperpigmented, brown, symmetrical spots with jagged edges,

located in body areas other than the face, absence of specific treatment for melasma in the previous 60 days.

Pregnant women and patients with contraindications to skin biopsy such as a history of keloid formation or coagulation alterations were excluded.

Each patient was fully informed of the nature of the study and upon voluntarily agreeing to participate, signed a free and informed consent. The study was initiated after receiving approval in relation to its ethical and methodological aspects from the Ethics and Research of *Hospital de Clinicas de Porto Alegre*.

## **2.Clinical Evaluation:**

Patients underwent a clinical evaluation that consisted of an interview during which information was collected regarding comorbidities, medication use, gynecological and obstetric history, family history of facial and extra-facial melasma features of sun exposure. Anthropometric evaluation included height and weight, body mass index (BMI) and blood pressure (BP) measurements. The dermatological examination verified the presence of other dermatoses and facial melasma, the MASI score being applied for the latter. (20)

Patients with extra-facial melasma were evaluated regarding the location, intensity and homogeneity of the spots, application of the Global Severity Score for Melasma and completed a quality of life questionnaire (MELASQoL) validated for the Portuguese spoken in Brazil (21, 22).

Furthermore, colorimetric measurement of the lesioned, perilesional and constitutional skin was carried out using a Minolta device with an L \* a \* b \* scale. Standardized digital photographs were obtained of the affected areas.

### **3. Histopathological and immunohistochemical evaluation:**

In 36 patients with extra-facial melasma, biopsies were performed with 3 mm punches of the affected and the adjacent normal skin, taken at a distance of no more than 2 cm from each other.

The evaluation of general histopathology was carried out on the HE stained sections and applying the following scale: 0 = absent, 1 = minimal, 2 = mild, 3 = moderate, 4 = severe for these parameters: basal layer rectification and hyperpigmentation, inflammatory infiltrate, solar elastosis, collagen degeneration and dermal melanophages and melanocytes. Immunohistochemical analysis of melanocytes was performed in 4 µm histological sections using the Melan-A (Clone A103, DakoCytomation) marker diluted 1:100, incubated in a solution of diaminobenzidine in PBS and counter-stained with Giemsa. The number of melanocytes was determined manually by counting the number of cells in the epidermis in a fragment 1mm length. Assessment of alterations in the HE and immunohistochemical analysis were performed by a pathologist and a dermatologist, who were both blinded and considered the means of the two evaluations.

Immunohistochemical study of the estrogen receptors (ER) was also performed in 4 µm histological using the ER-α (Clone 1D5 DakoCytomation) marker diluted 1:100, incubated in a solution of diaminobenzidine in PBS and

counter-stained with Harris hematoxylin. Secretory normal breast tissue was used as positive control.

51

Fontana-Masson staining was applied to biopsies from 28 patients applying standard techniques and used to determine epidermal melanin. It was analyzed using digital image processing as described below.

#### **4. Analysis of digital images to determine melanin density:**

The histological sections subjected to Fontana-Masson staining were analyzed using light microscopy and photographed with standard lighting and balance at 200x magnification, using an Olympus digital camera coupled with a microscope Olympus BX40 (Olympus Optical Co. Japan) with a resolution of 2560x1920, 24-bit color depth and stored in a TIFF file.

The analyzed area consisted of a fragment of the epithelium of about 1 mm in length determined as being the most significant, excluding the follicular epithelium and histologically bounded at the lower and upper limits by the basal layer and granular layer, respectively.

The process used for the analysis of melanin in the images of melasma slides was developed with the aid of Anima® software (*Animati Computação Aplicada*, Santa Maria, Brazil).

The program first corrected the lighting, because the irregularity of the illumination of the microscope's field of vision can interfere with the reading of the pixels that correspond to the melanin pigment.

To quantify the melanin content of the epidermis, the program segment the interfollicular space of epidermis and then identify the regions which contain melanin.

To select the epidermis, a tool was used in the program that allows a point to be selected that corresponds to the background of this segment. The pixels that make up this region were identified by the similarity of their color with the selected pixels delimiting the area of interest.

If the selected region did not correspond to the background, if it had 'flooded' a neighboring region, or if it was not considered appropriate for some other reason, it was possible to deselect the region and repeat the procedure.

Once the desired area had been selected, the command to run analysis was used, which provided the results in terms of the percentage area and pixels covered by melanin. Through a histogram it was possible to determine the range of the histogram corresponding to the color or hue of the melanin, and determine how many pixels in the area of interest corresponded to this pigment. This result is provided automatically by the program and can be repeated in order to assess uncertainty.

### **Statistical analysis:**

The data were entered into Excel and later exported to SPSS/PASW® (Statistical Package for Social Science, V 18.0 SPSS Inc., USA) for statistical analysis.

Categorical variables were described in terms of the percentage of absolute frequency and relative frequency and compared between groups using MacNemar's test. Quantitative variables with normal distributions were described in terms of the mean and standard deviation and compared between groups using the Student's t test for paired samples. Quantitative variables with asymmetric distribution were described in terms of the median and the interquartile range and compared using the Wilcoxon test.

The Bland and Altman technique was used to evaluate the agreement in the colorimetric analysis and presented the ranges of 95% agreement.

Sample size calculation was performed. With 45 patients in each group we were able to detect a difference between the percentages of categories between the groups of 30 percentage points (from 50% to 80%), considering  $\alpha = 0.05$  and power of 80%. The level of significance was set at 5%.

## **Results:**

### **1. Clinical Evaluation:**

Most patients with melasma were women (86.7%) with mean age  $\pm$  SD of  $56.67 \pm 8$  years. Of the women, 82.1% were menopausal.

When comparing the patients with extra-facial melasma with the control group, there was no statistical difference between the groups regarding clinical features, presence of comorbidities and use of medications or gynecological/hormonal history (Tables 1-3). The only clinical

characteristic that proved to be different, when analyzed as a group, was the phototype. Higher phototypes predominated in the patients with melasma. There were no differences between the groups with respect to other dermatological findings such as poikiloderma of Civatte, actinic keratoses and solar melanosis.

Patients with extra-facial melasma had a higher familial incidence of extra-facial melasma and personal history of facial melasma than the control group ( $P < 0.05$ ). (Table 4)

The lesions were most commonly found on the arms (95%), forearms (80%), neck (46.6%) and back (11.1%) (Figure 1). The time evolution of the spots in half of the patients was more than five years.

The clinical features of extra-facial melasma indicate the predominance of spots with moderate intensity and homogeneity and global severity score of melasma with lesions moderately darker than the surrounding skin.

The colorimetric analysis of the spots not only quantitatively confirmed that the pigment was higher in the melasma (mean  $\pm$  SD  $48.1 \pm 4.8 L^*$ ) than in perilesional skin (mean  $\pm$  SD  $53.4 \pm 4.9 L^*$ ), but also showed a significant difference in erythema, being greater in the lesions (mean  $\pm$  SD  $9.4 \pm 1.5$ ) than in adjacent normal skin (mean  $\pm$  SD  $8.1 \pm 1.6$ ) ( $P < 0.01$ ). (Table 5)

The quality of life assessment of the patients was heterogeneous, the MELASQoL showed a mean value  $\pm$  SD  $29 \pm 14.39$  (minimum 10, maximum: 59).

## **2. Histopathological evaluation:**

The analysis of the HE stained slides showed greater rectification and basal hyperpigmentation in melasma lesions, as well as a significant increase in solar elastosis and collagen degeneration in these areas compared to the adjacent normal skin. (Table 6 and Figure 2)

## **3. Immunohistochemical evaluation:**

The melanocyte count identified using immunohistochemistry with Melan-A showed no significant difference between groups. ( $P = 0.764$ )

Immunoreactivity for ER- $\alpha$  in the biopsies of normal skin and of melasma was not identified in the analyzed samples, thus no comparative analysis could be made.

## **4. Determining the quantity of melanin:**

The density of melanin in the epidermis with melasma was significantly higher than in the surrounding skin (percentage of area of melanin of  $22.24\% \pm$  SD  $9.39$  vs.  $17.48\% \pm$  SD  $9.31$ ,  $P = 0.005$ )(Fig. 3)

## **Discussion:**

Extra-facial melasma is a form of dyschromia that is frequently seen at the dermatologist's consulting rooms and is known to be a therapeutic



challenge. If better treatment outcomes are to be achieved, they will certainly require a greater understanding of physiopathogenesis of the spots. Although it is commonly seen there are no studies describing its incidence and the literature on the subject is scarce.

In our study, it could be seen that, as happens with facial melasma, there is a predilection for extra-facial melasma to occur in women, but in a distinct age group. The mean age of the patients was 56 years and 82% of the women were in menopause. Nevertheless, there was no difference from the control group with respect to hormonal therapies, either hormone replacement therapy, or current or previous use of oral contraceptives. These findings contrast those that O'Brien et al (2) published in their report of 7 patients with extra-facial melasma, where five of the patients had a hormonal stimulus associated with the appearance of spots.

The results we obtained in our study also showed differences between groups with respect to comorbidities or use of medication. In 2000, Rongioletti et al described the largest series of patients with brachial melasma (ABCD), and in their assessment, there was a predominance of middle-aged women patients with hypertension and using antihypertensive drugs. However, we must consider that the onset of extra-facial melasma tends to occur in an age group which is subject to an increased risk of cardiovascular disease. Evaluating hypertension in particular, it was found that the prevalence of this disease in the groups is that expected for the sex and the age of this population (23).

It seems that, for our population, there was a strong influence of genetics on the appearance of hyperpigmentation, as a positive family history is significantly more prevalent in the group with extra-facial melasma.

An interesting finding that was not described in the two previous studies on extra-facial melasma (2, 5) is the current or previous personal history of facial melasma in these patients. It is speculated that these patients have a tendency to have more activated melanocytes due to as yet not well understood stimuli that generate different types of hyperpigmentation in different stages of life.

The colorimetric evaluation, in addition to the expected findings regarding hyperpigmentation, also showed a more significant amount of erythema in the areas of melasma. Some studies suggest there may be a correlation between skin pigmentation and vasculature, since human melanocytes can respond to angiogenic stimuli because they express receptors for vascular endothelial growth factor (VEGF) (24). In 2007, Kim et al (25) evaluated the vascular characteristics of facial melasma in 50 patients using colorimetry and immunohistochemical investigation of VEGF receptors and factor VIIIa-related antigen. As in our study, the authors found a higher erythema in lesional areas compared to the surrounding skin and immunohistochemistry showed increased angiogenesis, telangiectasia, and higher expression of VEGF in the skin of the melasma (25). The significance of this increased vascularity is not well understood, but it suggests that it is beyond an epiphenomenon of photodamage, and may function as a determining factor for the appearance of spots by stimulating melanocytes through the release of vessel proliferation factors.

The histopathology of extra-facial melasma has previously been described in only one study, by Rongioletti et al (5). In that study, biopsies were obtained only from the areas of melasma in 5 patients and showed epidermal atrophy, basal layer hyperpigmentation, actinic elastosis and superficial telangiectasia. In our study, the histopathological study showed the presence of rectification and basal layer hyperpigmentation, solar elastosis and collagen degeneration. These findings are comparable to those found in facial melasma, for which there are larger, controlled studies (6, 7, 9-11) and they share the hypothesis that the areas of melasma present these alterations because they are subject to greater actinic damage and photoexposure.

The hyperpigmentation seen in HE staining was measured and confirmed by Fontana-Masson staining and computer image analysis. The computer analysis using software developed specifically for this reading, provided accuracy and speed in determining the amount of melanin, thus avoiding any possible bias of manual determination of the area of interest. Although the melanin density is increased in the epidermis with melasma, no quantitative increase in melanocytes compared with the surrounding skin was found. The assessment of the melanocytes made using immunohistochemistry shows there is a tendency for them to be larger and more dendritic. The hypothesis of the presence of hyperfunctional melanocytes is supported by other studies facial melasma (6, 8, 9), but is in disagreement with some studies showing increased numbers of these cells (7, 10, 11).

Finally, to assess the relationship of estrogens with the onset of the spots, immunohistochemistry for ER $\alpha$  was performed, which proved negative in all samples. Some *in vitro* studies had previously shown the role of estrogen in melanogenesis and melanocyte proliferation, but a study evaluating the presence of these receptors in melasma was only published in 2010 (19). Jang et al (19) showed increased expression of RE $\beta$  in the dermis of the skin with facial melasma, especially around the vessels and a tendency to be more expressed in the epidermis. The authors also noted this increase in the epidermis.

As in our study, Jang et al (19) found weak and occasional expression of ER alpha fraction in biopsies of melasma. One must understand that there are two identified isoforms of nuclear RE: the alpha and beta fractions. They are distinct proteins produced by different genes located on different chromosomes (26). Previous studies have shown that the beta fraction, and not the alpha, is expressed in melanocytic lesions such as melanocytic nevi and malignant melanoma (27, 28). These considerations explain why the samples from our patient were not labeled for estrogen receptor, but they do not exhaust the possibilities for future research into RE $\beta$  and RP in patients with extra-facial melasma.

We believe that our results open the door to a series of discussions on the subject, since they refute previous hypotheses of an association between extra-facial melasma and the use of hormone therapy or the presence of hypertension and use of antihypertensive medications. They also provide the first profile described in the literature of these patients, who are

most middle-aged women with a genetic propensity for dyschromia and that, when younger, were prone to the facial form of melasma.

Future research tend to explore the mechanisms involved in the activation of these specific melanocytes, such as hormone receptors,  $\alpha$ -MSH, MC1-R and VEGF, in the search for prevention more effective and treatments.

### **References:**

1. Nicolaidou E, Antoniou C, Katsambas AD. Origin, Clinical Presentation, and Diagnosis of Facial Hypermelanoses. *Dermatol Clin* 2007; 25:321-6.
2. O'brien TJ, Dyall-Smith D, Hall AP. Melasma of the forearms. *Australas J Dermatol* 1997; 38:35-7.
3. Varma S, Roberts DL. Melasma of the forearms associated with hormone replacement therapy. *Br J Dermatol* 1999;141:592.
4. Johnston GA, Sviland L, McLelland J. Melasma of the forearms associated with hormone replacement therapy. *Br J Dermatol* 1998;139:932.
5. Rongioletti F, Rebora A. Acquired brachial cutaneous dyschromatosis: a common pigmentary disorder of the arm in middle-aged women. *J Am Acad Dermatol* 2000; 42:680-4.
6. Grimes PE, Yamada N, Bhawan J. Light microscopic, immunohistochemical, and ultrastructural alterations in patients with melasma. *Am J Dermatopathol* 2005; 27:96-101.

7. Kang WH, Yoon KH, Lee ES, et al. Melasma: histopathological characteristics in 56 Korean patients. *Br J Dermatol* 2002; 146:228-37.
8. Miot LD, Miot HA, Poletini J, et al. Morphologic changes and the expression of alpha-melanocyte stimulating hormone and melanocortin-1 receptor in melasma lesions: a comparative study. *Am J Dermatopathol* 2010; 32:676-82.
9. Miot LD, Miot HA, Silva MG, Marques MA. Estudo comparativo morfofuncional em lesões de melasma. *An Bras Dermatol* 2007; 82:529-34.
10. Sanchez NP, Pathak MA, Sato S, et al. Melasma: a clinical, light microscopic, ultrastructural, and immunofluorescence study. *J Am Acad Dermatol* 1981; 4:698-710.
11. Sarvjot V, Sharma S, Mishra S, Singh A. Melasma: a clinicopathological study of 43 cases. *Ind J Pathol Microbiol* 2009; 52 :357-9.
12. Verdier-Sévrain S, Bonté F, Gilchrist B. Biology of estrogens in skin: implications for skin aging. *Exp Dermatol* 2006; 15:83-94.
13. Moin A, Jabery Z, Fallah N. Prevalence and awareness of melasma during pregnancy. *Int J Dermatol* 2006; 45:285-8.
14. Ortonne JP, Arellano I, Berneburg M, et al. A global survey of the role of ultraviolet radiation and hormonal influences in the development of melasma. *J Eur Acad Dermatol and Venereol* 2009; 23:1254-62.
15. Cestari T, Arellano I, Hexsel D, et al. Melasma in Latin America : options for therapy and treatment. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2009; 7: 760-72.

16. Kippenberger S, Loitsch S, Solano F, et al. Quantification of tyrosinase, TRP-1, and Trp-2 transcripts in human melanocytes by reverse transcriptase-competitive multiplex PCR--regulation by steroid hormones. *J Invest Dermatol* 1998;110:364-7.
17. Wiedemann C, Nägele U, Schramm G, Berking C. Inhibitory effects of progestogens on the estrogen stimulation of melanocytes in vitro. *Contraception* 2009; 80:292-8.
18. Lieberman R, Moy L. Estrogen receptor expression in melasma: results from facial skin of affected patients. *J Drugs Dermatol* 2008;7:463-5.
19. Jang YH, Lee JY, Kang HY, et al. Oestrogen and progesterone receptor expression in melasma: an immunohistochemical analysis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2010; 24:1312-6.
20. Pandya AG, Hynan LS, Bhore R, et al. Reliability assessment and validation of the Melasma Area and Severity Index (MASI) and a new modified MASI scoring method. *J Am Acad Dermatol* 2011; 64:78-83.
21. Weber M, Mazzotti N, Prati C, Cestari T. Aferição da qualidade de vida na avaliação global do paciente dermatológico. *Revista do HCPA* 2006; 26: 35-44.
22. Cestari TF, Hexsel D, Viegas ML, et al. Validation of a melasma quality of life questionnaire for Brazilian Portuguese language: the MelasQoL-BP study and improvement of QoL of melasma patients after triple combination therapy. *Br J Dermatol* 2006; 156 Suppl 1:13-20.
23. Gus I, Harzheim E, Zaslavsky C, et al. Prevalência, reconhecimento e controle da hipertensão arterial sistêmica no estado do Rio Grande do Sul. *Arq Bras Cardiol* 2004; 83:424-28.

24. Kim EJ, Park H-Y, Yaar M, Gilchrest BA. Modulation of vascular endothelial growth factor receptors in melanocytes. *Exp Dermatol* 2005; 46:625-33.
25. Kim EH, Kim YC, Lee E-S, Kang HY. The vascular characteristics of melasma. *J Dermatol Science* 2007; 46:111-6.
26. Enmark E, Peltö-Huikko M, Grandien K, et al. Human estrogen receptor beta-gene structure, chromosomal localization, and expression pattern. *J Clin Endocrinol Metabol* 1997; 82:4258-65.
27. Ohata C, Tadokoro T, Itami S. Expression of estrogen receptor beta in normal skin, melanocytic nevi and malignant melanomas. *J Dermatol* 2008; 35:215-21.
28. Schmidt AN, Nanney LB, Boyd AS, et al. Oestrogen receptor-beta expression in melanocytic lesions. *Exp Dermatol* 2006; 15:971-80.



**Table 1.** Clinical characteristics and comorbidities of the two groups: patients with extra-facial melasma and controls

	Cases (n=45)	Controls (n=45)	<i>P</i>
Sex female	39 (86.7)	39 (86.7)	1.000
Age (years)	56.67 ± 8	56.64 ± 7.85	0.878
Phototype			
1	0 (0)	1 (2.2)	
2	13 (28.9)	25 (55.6)	
3	25 (55.6)	17 (37.8)	
4	5 (11.1)	2 (4.4)	
5	2 (4.4)	0 (0)	
6	0 (0)	0 (0)	
Grouped Phototype			
1 and 2	13 (28.9)	26 (57.8)	
3, 4 and 5	32 (71.1)	19 (42.2)	0.015*
Weight (kg)	73.61 ± 12.67	71.52 ± 13.26	0.405
BMI	28.76 ± 4.66	27.58 ± 5.13	0.210
MAP	93.0.7 ± 12.44	92.37 ± 11.92	0.812
Hypertension	23 (51.1)	24 (53.3)	0.999
Diabetes mellitus	6 (13.3)	7 (15.6)	0.999
Dyslipidemia	17 (37.8)	12 (26.7)	0.383
Hypothyroidism	3 (6.7)	1 (2.2)	0.625

BMI: Body Mass Index, MAP: Mean Arterial Pressure. Categorical variables described by absolute and relative frequency compared between groups using McNemar's test. Symmetrical distribution of quantitative variables described by the mean and standard deviation and compared using the Student's t test for paired samples.

\*  $P < 0.05$

**Table 2.** Comparison of the use of medications between the melasma group and controls:

	Cases N = 45	Controls N = 45	<i>P</i>
Thiazide diuretic	15 (33.3)	13 (28.9)	0.815
Loop diuretic	0 (0)	3 (6.7)	0.625
ACE inhibitor	14 (31.1)	15 (33.3)	0.999
Beta-blocker	10 (22.2)	13 (28.9)	0.629
Calcium channel Antagonist	1 (2.2)	5 (11.1)	0.219
Statins	7 (15.6)	8 (17.8)	0.999
NSAIDs	2 (4.4)	6 (13.3)	0.219
Metformin	6 (13.3)	5 (11.4)	0.999
Glibenclamide	3 (6.7)	0 (0)	0.625

ACE Inhibitor: angiotensin-converting enzyme inhibitor, NSAIDs: Non-Steroid Anti-Inflammatory Drugs. Categorical variables described by absolute and relative frequency compared between groups using McNemar's test.

**Table 3.** Hormonal profile of the female patients in the melasma and control groups:

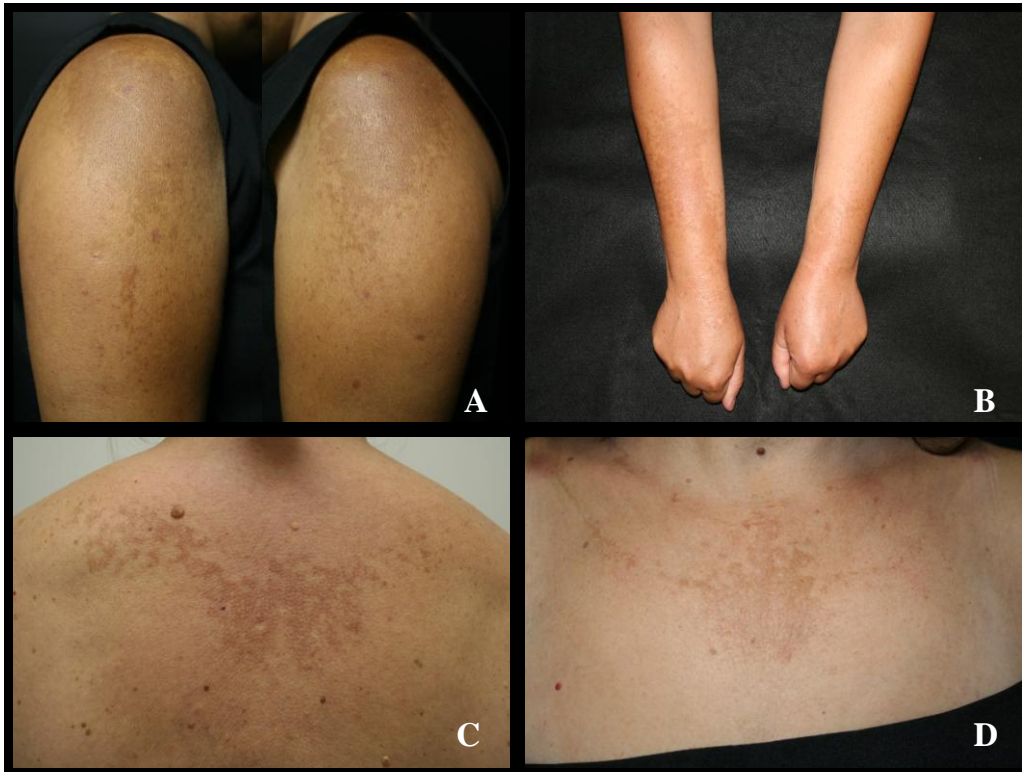
	Cases N = 39	Controls N= 39	<i>P</i>
History of pregnancy	39 (100)	37 (94.9)	0.815
Current OC	2 (5.1)	3 (7.7)	0.999
Previous OC	25 (64.1)	31 (79.5)	0.210
Menopause	32 (82.1)	27 (69.2)	0.180
Current HRT	0 (0)	1 (2.6)	0.999
Previous HRT	7 (18.4)	5 (12.8)	0.754

OC: Oral Contraceptive, HRT: Hormone Replacement Therapy. Categorical variables described by absolute and relative frequency compared between groups using McNemar's test

**Table 4.** Personal and family history of facial and extra- facial melasma:

	Cases N= 45	Controls N = 45	<i>P</i>
Family history of extra-facial melasma	14 (31.1)	0 (0)	0.001*
Previous history of facial melasma	14 (31.1)	4 (8.9)	0.021*
Current facial melasma	6 (13.3)	1 (2.2)	0.125
MASI	3.9 (2.4 to 8.5)	4.8 (4.8 to 4.8)	0.857
Average sun exposure (hours)	1 (0.5 to 2)	1 (0.7 to 2.2)	0.216

Categorical variables described by absolute and relative frequency compared between groups using McNemar's test. Quantitative variables with asymmetric distribution were described by median and interquartile ranges and compared using the Wilcoxon test. \*  $P < 0.05$ .



**Figure1.** Clinical aspect of extra-facial melasma in arms (A), forearms (B), upper back (C) and chest (D)

**Table 5.** Colorimetric evaluation of the melasma and perimelasma areas:

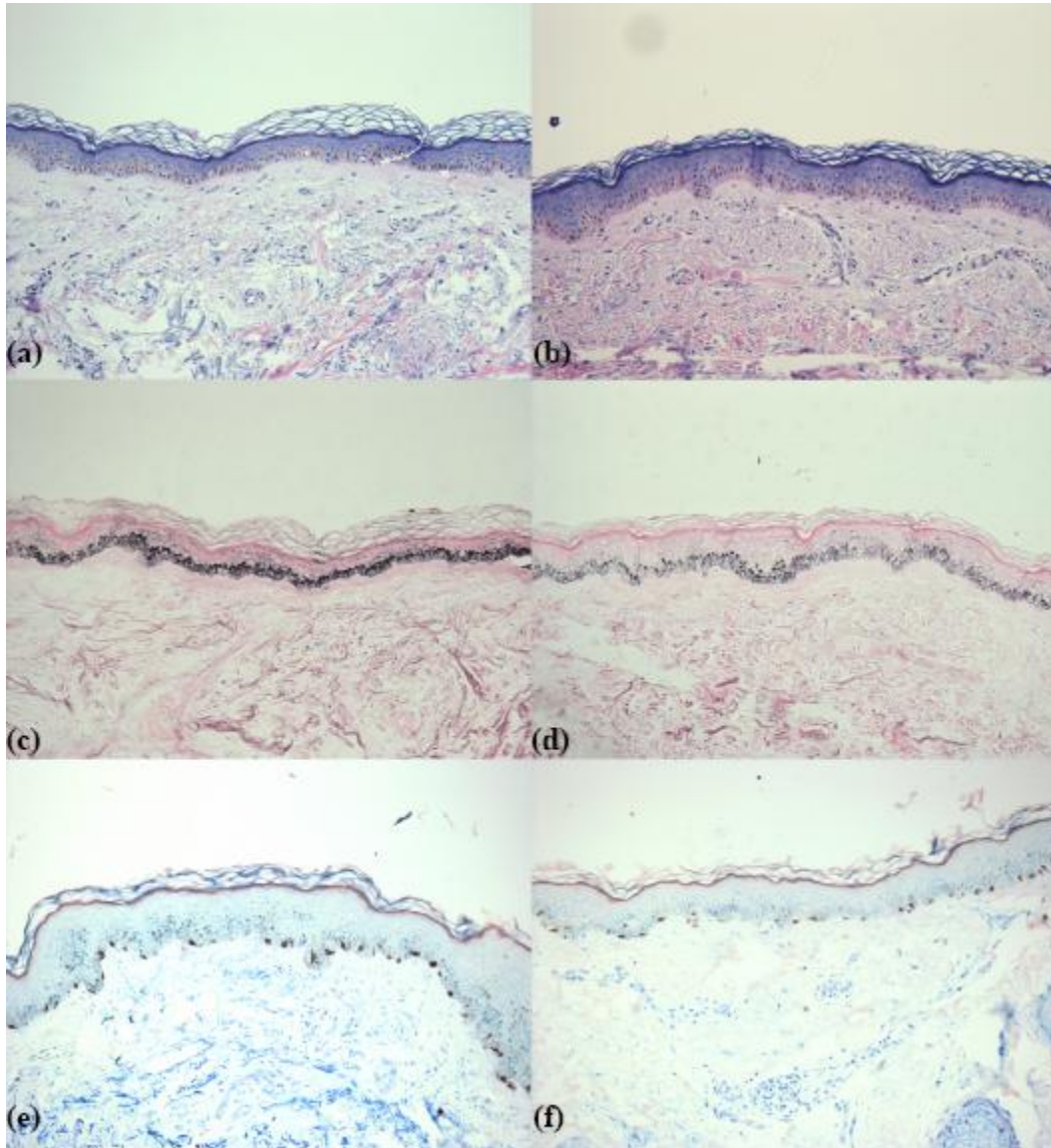
	Melasma	Perimelasma	<i>P</i>	95% limit of agreement
L	48.1 ± 4.8	53.4 ± 4.9	<0.001*	0.83 to 10.55
a	9.4 ± 1.5	8.1 ± 1.6	<0.001*	-3.89 to 1.31
b	12.7 ± 0.8	12.8 ± 1.3	0.445	-2.03 to 2.31

The variables were described as mean and standard deviation, compared using the Student's t test for paired samples and the 95% limits of agreement were calculated according to Bland and Altman. \* *P* <0.05

**Table 6.** Results of the comparative analysis of histological biopsies skin stained with HE:

	Melasma	Perimelasma	<i>P</i>
Basal layer rectification	2 (1 – 3) 0 - 4	1 (0 - 2) 0 - 4	.001*
Basal layer hyperpigmentation	2 (2 – 2.75) 1 - 3	1 (1 – 2) 0 - 3	.000*
Inflammatory infiltrate	1 (0 – 1) 0 - 3	1 (0 – 1) 0 - 3	.950
Solar elastosis	2 (1 – 2) 0 - 3	1 (1 – 1) 0 - 2	.000*
Collagen degeneration	2 (1 – 2) 0 - 3	1 (1 – 1) 0 - 2	.000*
Dermal melanophages	0 (0 – 0) 0 - 2	0 (0 – 0) 0 - 2	.783
Dermal melanocytes	0 (0 – 0) 0 - 0	0 (0 - 0) 0 - 0	1.000

Variables were described by median, interquartile range, minimum and maximum and compared between regions using the Wilcoxon test. 0 = none (normal), 1 = minimal, 2 = mild, 3 = moderate, 4 = severe. \*  $P < 0.05$



**Figure 2.** Photomicrographs of biopsy specimens from melasma (a,c,e) and perimelasma (b,d,f) skin. Haematoxylin and eosin stain (a,b), Fontana-Masson stain (c,d), Melan-A immunostain (e,f). Original magnification x 200.



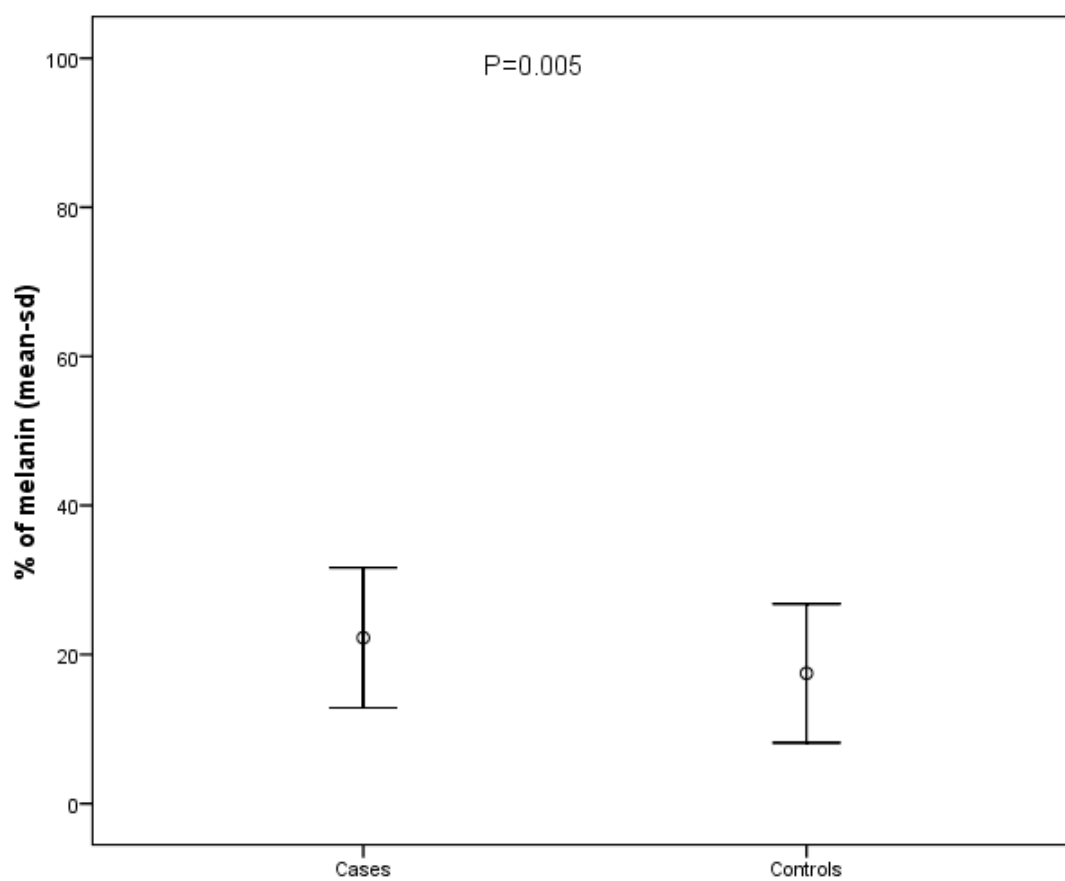


Figure 3. Percentage of epidermal melanin in cases (melasma) and controls (perimelasma)

## **8. Considerações gerais:**

O melasma extra-facial é uma dermatose freqüente e de terapêutica difícil. Existe escassa informação na literatura sobre o tema e este é o primeiro trabalho controlado com um número maior de pacientes. Baseado nos nossos resultados sugere-se que não haja relação do melasma com TRH ou comorbidades como hipertensão e uso de drogas anti-hipertensivas, conforme sugeriam estudos anteriores.(7; 10) E estes achados provavelmente estão relacionados com a faixa etária das pacientes.

No entanto encontrou-se uma importante associação da dermatose a mulheres na menopausa com história familiar de melasma extra-facial e histórico pessoal de melasma facial.

Este trabalho abre espaço para uma série de discussões sobre os mecanismos que agem como determinantes para o surgimento das manchas. Trabalhos futuros devem dar continuidade à pesquisa com foco em marcadores imunohistoquímicos, conforme já têm ocorrido com o melasma facial. Desta forma busca-se compreender melhor a fisiopatogênese envolvida na dermatose e buscar tratamentos e prevenção mais efetivas.

## 9. Anexos:

### ANEXO I

#### HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE

#### SERVIÇO DE DERMATOLOGIA

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E INFORMADO

#### MELASMA EXTRA-FACIAL

#### AVALIAÇÃO CLÍNICA, HISTOPATOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA

**JUSTIFICATIVA:** O melasma é um tipo de alteração na pele caracterizado pela presença de manchas escuras. Estas manchas aparecem mais comumente no rosto e podem estar relacionadas com fatores hormonais (gravidez, uso de anticoncepcional), fatores genéticos (familiares com as mesmas manchas) e exposição ao sol entre outros. O melasma que se manifesta fora do rosto, como nos braços, colo, pescoço e dorso é chamado melasma extra-facial. Existem poucos trabalhos que estudem as características destas manchas quando aparecem fora no rosto. Entender as causas relacionadas ao seu aparecimento pode auxiliar a prevenir o seu surgimento e indicar melhores tratamentos.

**OBJETIVO:** A pesquisa tem como objetivo avaliar as características clínicas e laboratoriais dos pacientes com melasma extra-facial comparado com pacientes que não tem melasma extra-facial.

Além disso, serão avaliadas as características histopatológicas e imuno-histoquímicas da pele dos pacientes com melasma, ou seja, avaliação com microscopia e técnicas especiais de coloração de pequeno fragmento de pele retirado na área com manchas e de pele normal próxima à mancha.

**CARACTERÍSTICAS DO TRABALHO:** Tanto os pacientes com melasma extra-facial como os pacientes que servirão de comparação e que não tem as manchas serão submetidos à entrevista médica e exame completo da pele.

Os pacientes com melasma extra-facial serão então submetidos a biópsia de pele. A biópsia consiste de pequeno procedimento realizado no consultório médico, realizado com anestesia local e retirada de um fragmento de pele de 2 mm na área da mancha e outro

fragmento de igual tamanho na pele normal perto da mancha. O local da biópsia receberá um ponto de sutura, que será retirado em 7 dias. O procedimento pode gerar pequeno desconforto local e cicatrizes no local da biópsia, não maiores que 2 mm de tamanho. O uso do material biopsiado será usado exclusivamente para esta pesquisa.

Serão realizados registros fotográficos das manchas, onde a identidade do paciente permanecerá oculta.

Os pacientes que por livre e espontânea vontade participarem do trabalho não terão nenhum tipo de remuneração e nem terão custos pessoais.

Declaro que fui detalhadamente informado sobre as características do estudo do qual participarei: MELASMA EXTRA-FACIAL: AVALIAÇÃO CLÍNICA, HISTOPATOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA

Sou sabedor que os dados serão mantidos em sigilo, com garantia de anonimato, armazenados em um banco de dados para posterior publicação em revista científica.

Comprometo-me a comparecer regularmente nas datas aprazadas e realizar todos os controles e exames solicitados, podendo abandonar o projeto a qualquer momento sem prejuízo do tratamento junto à instituição.

Nome do paciente \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Caso paciente não saiba ler, nome, assinatura e RG da testemunha:

\_\_\_\_\_

Pesquisadora responsável:

Dra. Tania Cestari / Serviço de Dermatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.  
Telefone de contato: (51) 3359 8570 ou (51) 3359 8571

Pesquisadora principal:

Clarice Gabardo Ritter. Telefone de contato: (51) 92045431

**ANEXO II****HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE****SERVIÇO DE DERMATOLOGIA****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E INFORMADO**MELASMA EXTRA-FACIALAVALIAÇÃO CLÍNICA, HISTOPATOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA

**JUSTIFICATIVA:** O melasma é um tipo de alteração na pele caracterizado pela presença de manchas escuras. Estas manchas aparecem mais comumente no rosto e podem estar relacionadas com fatores hormonais (gravidez, uso de anticoncepcional), fatores genéticos (familiares com as mesmas manchas) e exposição ao sol entre outros. O melasma que se manifesta fora do rosto, como nos braços, colo, pescoço e dorso é chamado melasma extra-facial. Existem poucos trabalhos que estudem as características destas manchas quando aparecem fora no rosto. Entender as causas relacionadas ao seu aparecimento pode auxiliar a prevenir o seu surgimento e indicar melhores tratamentos.

**OBJETIVO:** A pesquisa tem como objetivo avaliar as características clínicas e laboratoriais dos pacientes com melasma extra-facial comparado com pacientes que não tem melasma extra-facial.

Além disso, serão avaliadas as características histopatológicas e imuno-histoquímicas da pele dos pacientes com melasma, ou seja, avaliação com microscopia e técnicas especiais de coloração de pequeno fragmento de pele retirado na área com manchas e de pele normal próxima à mancha.

**CARACTERÍSTICAS DO TRABALHO:** Tanto os pacientes com melasma extra-facial como os pacientes que servirão de comparação e que não tem as manchas serão submetidos à entrevista médica e exame completo da pele.

A identidade do paciente permanecerá oculta.

Os pacientes que por livre e espontânea vontade participarem do trabalho não terão nenhum tipo de remuneração e nem terão custos pessoais.

Declaro que fui detalhadamente informado sobre as características do estudo do qual participarei: MELASMA EXTRA-FACIAL: AVALIAÇÃO CLÍNICA, HISTOPATOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA

Sou sabedor que os dados serão mantidos em sigilo, com garantia de anonimato, armazenados em um banco de dados para posterior publicação em revista científica.

Comprometo-me a comparecer regularmente nas datas apazadas e realizar todos os controles e exames solicitados, podendo abandonar o projeto a qualquer momento sem prejuízo do tratamento junto à instituição.

Nome do paciente \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Caso paciente não saiba ler, nome, assinatura e RG da testemunha:

\_\_\_\_\_

Pesquisadora responsável:

Dra. Tania Cestari / Serviço de Dermatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.  
Telefone de contato: (51) 3359 8570 ou (51) 3359 8571

Pesquisadora principal: Clarice Gabardo Ritter. Telefone de contato: (51) 92045431

## ANEXO III

**Ficha de Anamnese e Exame Físico:****1. Identificação:**

Nome (iniciais): \_\_\_\_\_ Data de nascimento: \_\_\_\_\_

Prontuário: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

Sexo: ( ) feminino ( ) masculino

Telefone: 1. celular: \_\_\_\_\_ 2. residencial: \_\_\_\_\_

3. comercial: \_\_\_\_\_ 4. recados: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

**2. Histórico da doença atual:**

Tempo de evolução das lesões: \_\_\_\_\_

Sintomas associados: ( ) Não ( ) Sim

Quais: \_\_\_\_\_

Tratamentos prévios: ( ) Não ( ) Sim

Qual: \_\_\_\_\_ Período: \_\_\_\_\_

**Histórico mórbido pregresso:**

( ) HAS Tempo de evolução: \_\_\_\_\_

( ) DM Tempo de evolução: \_\_\_\_\_

( ) Dislipidemia Tempo de evolução: \_\_\_\_\_

( ) Outras comorbidades: Quais: \_\_\_\_\_

Tempo de evolução: \_\_\_\_\_

Medicações de uso atual:

1. \_\_\_\_\_ Início: \_\_\_\_\_

2. \_\_\_\_\_ Início \_\_\_\_\_

3. \_\_\_\_\_ Início: \_\_\_\_\_

### 3. Histórico gineco-obstétrico:

**Gestações prévias:** ( ) Não ( ) Sim

Número de gestações: ( ) 1 ( ) 2 ( ) 3 ( ) >3

Período: \_\_\_\_\_

**Uso prévio ou atual de anticoncepcional oral:** ( ) Não ( ) Sim

Qual: \_\_\_\_\_ Período: \_\_\_\_\_

**Menopausa:** ( ) Não ( ) Sim Idade de início da menopausa: \_\_\_\_\_

**Terapia de reposição hormonal prévia ou atual:** ( ) Não ( ) Sim

Qual: \_\_\_\_\_ Período: \_\_\_\_\_

### 4. História familiar:

Melasma extra-facial: ( ) Não ( ) Sim

Outras comorbidades: ( ) Não ( ) Sim

Quais: \_\_\_\_\_

### Revisão de sistemas:

Profissão: \_\_\_\_\_

Tempo estimado de exposição solar dia: \_\_\_\_\_

### 5. Exame Físico:

Peso: \_\_\_\_\_ Altura: \_\_\_\_\_ Índice de Massa Corporal: \_\_\_\_\_ PA: \_\_\_\_\_

Circunferência cintura: \_\_\_\_\_ Circunferência quadril: \_\_\_\_\_

**Fototipo:** (Fitzpatrick) ( ) I ( ) II ( ) III ( ) IV ( ) V ( ) VI

**Melasma facial:** ( ) Não ( ) Sim

Se sim, aplicar MASI:



MASI	Fronte (F)	Malar direita (MR)	Malar esquerda (ML)	Mento (C)
Percentagem total de área acometida  (A)				
Hiperpigmentação  (D)				
Homogeneidade da hiperpigmentação  (H)				

A	D	H
0=sem envolvimento	0=ausente	0=ausente
1=<10%	1= leve	1= leve
2=10-29%	2= moderado	2= moderado
3=30-49%	3= marcada	3=marcada
4=50-69%	4=grave	4=máxima
5=70-89%		
6=90-100%		

$$\text{MASI} = 0,3(\text{DF}+\text{HF})\text{AF} + 0,3(\text{DMR}+\text{HMR})\text{AMR} + 0,3(\text{DML}+\text{HML})\text{AML} + 0,1(\text{DC}+\text{HC})\text{AC}$$

Total = \_\_\_\_\_

**Poiquiodermia de Civatte:** ( ) Não ( ) Sim

**Melanoses/lentigos solares:** ( ) Não ( ) Sim

**Ceratoses actínicas:** ( ) Não ( ) Sim

**Outra dermatose:** ( ) Não ( ) Sim Qual \_\_\_\_\_

**Melasma corporal:** ( ) não ( ) sim

**Localização:**

( ) braços ( ) antebraços ( ) colo ( ) dorso ( ) outros \_\_\_\_\_

**Intensidade de pigmentação:**

( ) 0 = ausente ( ) 1= leve ( ) 2= moderada ( ) 3= marcada ( ) 4= grave

**Homogeneidade de pigmentação:**

( ) 0 = mínima ( ) 1= leve ( ) 2= moderada ( ) 3= marcada ( ) 4= máxima

**Escore Global de Gravidade do Melasma:**

( ) 0 = lesões de melasma aproximadamente equivalentes a pele adjacente normal

( ) 1 = lesões de melasma levemente mais escuras que a pele adjacente normal

( ) 2 = lesões de melasma moderadamente mais escuras que a pele adjacente normal

( ) 3= lesões de melasma marcadamente mais escuras que a pele adjacente normal

**8. Registro fotográfico:** ( ) Não ( ) Sim

**9. Colorimetria: (média de 3 leituras)**

Cor constitucional: \_\_\_\_\_

Pele com melasma: \_\_\_\_\_

Pele adjacente normal: \_\_\_\_\_

**10. MELASQoL:**

( ) Aplicar questionário ANEXO IV

## ANEXO IV- MELASQoL:

Nome: \_\_\_\_\_ Prontuário: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

**Considerando a sua doença, melasma, como você se sente em relação a:**

	Nem um pouco incomodado	Não incomodado na maioria das vezes	Não incomodado algumas vezes	Neutro	Incomodado algumas vezes	Incomodado na maioria das vezes	Incomodado o tempo todo
1. A aparência da sua pele	1	2	3	4	5	6	7
2. Frustração pela condição de sua pele	1	2	3	4	5	6	7
3. Constrangimento pela condição de sua pele	1	2	3	4	5	6	7
4. Sentindo-se depressivo pela condição de sua pele	1	2	3	4	5	6	7
5. Os efeitos da condição de sua pele no relacionamento com outras pessoas (por ex: interação com a família, amigos, relacionamentos íntimos)	1	2	3	4	5	6	7
6. Os efeitos da condição de sua pele sobre o seu desejo de estar com as pessoas	1	2	3	4	5	6	7
7. A condição de sua pele dificulta a demonstração de afeto	1	2	3	4	5	6	7
8. As manchas da pele fazem você se não sentir atraente para os outros	1	2	3	4	5	6	7
9. As manchas de pele fazem você se sentir menos importante ou produtivo	1	2	3	4	5	6	7
10. As manchas de pele afetam seu senso de liberdade	1	2	3	4	5	6	7

Somatório das respostas: \_\_\_\_\_