

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E COMPORTAMENTO

RALPH VIGHI DA ROSA

ASPECTOS DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA EM UM CASO DE HIPERPIGMENTAÇÃO CUTÂNEA POR
HIDROXICLOROQUINA

Pelotas

2021

RALPH VIGHI DA ROSA

ASPECTOS DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA EM UM CASO DE HIPERPIGMENTAÇÃO CUTÂNEA POR
HIDROXICLOROQUINA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Comportamento da Universidade Católica de Pelotas como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Saúde e Comportamento.

Orientador: Prof. Dr. Hiram Larangeira de Almeida Júnior.

Pelotas

2021

Ficha Catalográfica

Rosa, Ralph Vighi da

Aspectos da microscopia eletrônica em um caso de hiperpigmentação cutânea por Hidroxicloroquina. / Ralph Vighi da Rosa. - Pelotas: UCPEL, 2021.

121 f.

Orientador: Hiram Laranjeira de Almeida Júnior.

Dissertação (mestrado) - Universidade Católica de Pelotas, Programa de Pós-Graduação em Saúde e Comportamento. - Pelotas, BR-RS, 2021.

1. Hidroxicloroquina. 2. antimaláricos. 3. hiperpigmentação. 4. microscopia eletrônica I. Almeida Júnior, Hiram Laranjeira de, orient. II. Título.

Bibliotecária responsável: Cristiane de Freitas Chim CRB 10/1233

ASPECTOS DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA EM UM CASO DE HIPERPIGMENTAÇÃO CUTÂNEA POR
HIDROXICLOROQUINA

Conceito final: _____

Aprovado em: _____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr.

Prof. Dr.

Orientador – Prof. Dr. Hiram Larangeira de Almeida Júnior

RESUMO

A Hidroxicloroquina é um fármaco antimalárico, utilizado frequentemente na Dermatologia para o tratamento de doenças autoinflamatórias. Entre outros efeitos, possui grande capacidade de depósito em tecidos com a capacidade de sintetizar melanina, levando com frequência ao efeito indesejável da hiperpigmentação de diversas áreas corporais. Esse efeito adverso, independe da dose e pode acontecer a qualquer momento durante o uso da medicação. A sua microscopia óptica é bem conhecida, estando a literatura rica de informações a esse respeito, no entanto, não existe até o momento na literatura, descrição ultraestrutural, através da microscopia eletrônica, do tecido com o depósito da substância.

Palavras-chave: Hidroxicloroquina, antimaláricos, hiperpigmentação, microscopia eletrônica.

ABSTRACT

Hydroxychloroquine is an antimalarial drug, frequently used in Dermatology for the treatment of autoinflammatory diseases. Among other effects, it has a great capacity for deposition in tissues with the ability to synthesize melanin, frequently leading to the undesirable effect of hyperpigmentation of several body areas. This adverse effect is dose-independent and can happen at any time during the use of the medication. Its optical microscopy is well known, and the literature is rich in information about it, however, there is no ultrastructural description through electron microscopy of the tissue with the deposition of the substance.

Keywords: Hydroxychloroquine, antimalarials, hyperpigmentation, electronic microscopy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 a 3 – Apresentação clínica.....	33 a 35
Figuras 4 a 33 – Microscopia óptica. HE.....	36 a 65
Figura 34 e 35 – Microscopia óptica. IHQ.....	66 e 67
Figura 36 a 59 – Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	68 a 91
Figura 60 a 77 – Microscopia Eletrônica de Varredura.....	92 a 109

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Descritores, artigos encontrados, repetidos, excluídos e utilizados na base de dados PubMed.....	21
Quadro 2 – Resumo dos artigos encontrados na revisão de literatura.....	22
Quadro 3 – Cronograma.....	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS:

AFF	Alopecia Fibrosante Frontal
AIJ	Artrite Idiopática Juvenil
AP	Anatomopatológico
AR	Artrite Reumatoide
CEME-SUL	Centro de Microscopia Eletrônica do Sul
COVID	Doença pelo Coronavírus
CPACT	Centro de Pesquisa Agropecuária Clima Temperado
CQ	Cloroquina
DEM	Dose Eritematosa Mínima
DITC	Doença Indiferenciada do Tecido Conjuntivo
DM	Dermatomiosite
DMTC	Doença Mista do Tecido Conjuntivo
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EUA	Estados Unidos da América
FURG	Fundação Universidade do Rio Grande
HCQ	Hidroxicloroquina
HE	Hematoxilina-Eosina
IHQ	Imunohistoquímica
LEC	Lúpus Eritematoso Cutâneo
LES	Lúpus Eritematoso Sistêmico
LP	Líquen Plano
LPA	Líquen Plano Actínico
ME	Microscopia Eletrônica
MET	Microscopia Eletrônica Transmissão

MEV	Microscopia Eletrônica Varredura
MMSS	Membros Superiores
MMII	Membros Inferiores
MO	Microscopia Óptica
MTX	Metotrexato
SSj	Síndrome de Sjögren
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TNF	Fator de Necrose Tumoral
UCPel	Universidade Católica de Pelotas

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO.....	13
PROJETO.....	14
1. IDENTIFICAÇÃO.....	15
1.1 Título.....	15
1.2 Mestrando.....	15
1.3 Orientador.....	15
1.4 Instituição.....	15
1.5 Curso.....	15
1.6 Linha de pesquisa.....	15
1.7 Data da defesa.....	15
2. INTRODUÇÃO.....	16
3. OBJETIVOS.....	17
3.1 Objetivo Geral.....	17
3.2 Objetivos Específicos.....	17
4. HIPÓTESES.....	18
5. REVISÃO DA LITERATURA.....	19
6. MÉTODOS.....	28
6.1 Delineamento.....	28
6.2 Participantes.....	28
6.3 Procedimentos.....	28
6.4 Aspectos éticos.....	28
6.5 Riscos.....	29
6.6 Benefícios.....	29
6.7 Cronograma.....	29
6.8 Orçamento.....	29
7. REFERÊNCIAS.....	30
8. RESULTADOS.....	33
8.1 Aspectos Clínicos.....	33
8.2 Microscopia Óptica (HE).....	35
8.3 Microscopia Óptica (IHQ).....	66

8.4 Microscopia Eletrônica Transmissão.....	68
8.5 Microscopia Eletrônica Varredura.....	92
9. CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO.....	110
10. PROPOSTA DE ARTIGO.....	111
ANEXO.....	119

APRESENTAÇÃO

Através desta dissertação, abordaremos os aspectos estruturais de um caso de Hiperpigmentação por Hidroxicloroquina com uso da Microscopia Eletrônica – de Transmissão e de Varredura.

A análise será baseada em um caso clínico atendido em consultório particular, após explicação e assinatura de consentimento livre e esclarecido (TCLE – em anexo).

Além da dissertação de Mestrado para o Programa de Pós-Graduação em Saúde e Comportamento da Universidade Católica de Pelotas (UCPel), existe a proposta de publicação de artigo em revista indexada internacional com o relato do caso e análise da ME, a fim de tornar tais achados de amplo conhecimento.

Uma vez que não existe na literatura tal descrição, este estudo é pioneiro e certamente acrescenta dados importantes para a melhor compreensão do comportamento da medicação na pele, assim como na busca por tratamentos para esse importante efeito adverso, que impacta negativamente a qualidade de vida dos pacientes.

PROJETO

1. IDENTIFICAÇÃO

1.1 Título: ASPECTOS DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA EM UM CASO DE HIPERPIGMENTAÇÃO CUTÂNEA POR HIDROXICLOROQUINA

1.2 Mestrando: Ralph Vighi da Rosa

1.3 Orientador: Hiram Larangeira de Almeida Júnior

1.4 Instituição: Universidade Católica de Pelotas (UCPel)

1.5 Curso: Mestrado em Saúde e Comportamento

1.6 Linha de pesquisa: Microscopia Eletrônica

1.7 Data de Defesa: 07/12/2021

2. INTRODUÇÃO

A Hidroxicloroquina (HCQ) é um fármaco da classe dos antimaláricos, desenvolvida ainda na década de 50, que segue sendo amplamente utilizada para um grande grupo de doenças autoinflamatórias, como exemplo podemos citar o Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES), Artrite Idiopática Juvenil (AIJ), Artrite Reumatóide (AR), Diabetes Mellitus (DM), Liquen Plano (LP), Fotodermatoses e as Alopecias Linfocíticas Cicatriciais (ALC).^{9,11,16,18,27,29}

Quanto ao seu perfil de segurança, tem sabidamente menos efeitos adversos que outros antimaláricos mais antigos, como a Cloroquina, como ficou claro após o uso profilático desta em larga escala por soldados americanos combatentes no Pacífico, na Segunda Guerra Mundial.²⁷ Entre esses efeitos, são atribuídos a sua grande capacidade de depósito nos tecidos que produzem melanina, destacando-se entre eles o ocular, representado classicamente pela retinopatia, a mucosa oral e a pele, tendo como exemplo principal a hiperpigmentação.^{5,23,26,27,28}

A hiperpigmentação causada pela HCQ acomete entre 10-30% dos usuários, pode acontecer a qualquer momento a partir do início do uso da medicação e independe da dose, além disso, não possui relação direta com a retinopatia causada pela droga.^{1-3,12,13,20,23}

Na microscopia óptica (MO), espera-se hiperpigmentação da camada basal epidérmica, além de depósitos de melanina na derme superficial. Pode-se, ainda, encontrar hemossiderina e melanofagocitose.^{12,14,16,23}

No que diz respeito à Microscopia Eletrônica (ME), não há registro, na base de dados pesquisada, de trabalhos publicados com tal informação, seja pelo método de Transmissão (MET), como pelo de Varredura (MEV).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem por objetivo principal, descrever um caso de Hiperpigmentação por Hidroxicloroquina, analisar seus aspectos epidemiológicos, clínicos e teciduais ultraestruturais.

3.2 Objetivos Específicos

- a) Descrever os achados da microscopia óptica com coloração convencional;
- b) Descrever a distribuição do pigmento melânico com imuno-histoquímica para marcadores melânicos;
- c) Descrever aspectos ultraestruturais bidimensionais com a microscopia eletrônica de transmissão;
- d) Descrever aspectos ultraestruturais tridimensionais com microscopia eletrônica de varredura.

4. HIPÓTESES

- a) Na microscopia óptica, haverá depósito de pigmento melânico e hemossiderótico na derme superficial, bem como melanofagocitose nesses depósitos dérmicos, além de hiperpigmentação da camada basal;
- b) Será observado aumento de melanina epidérmica;
- c) Serão observados depósitos dérmicos na microscopia eletrônica de transmissão;
- d) Será observada a mesma deposição tridimensionalmente na microscopia eletrônica de varredura.

5. REVISÃO DA LITERATURA:

Base de Dados

A busca foi feita na base de dados Pubmed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) em 04/05/2021, com novas pesquisas em 11/05/2021 e 06/06/2021.

Descritores

Foram utilizados os seguintes descritores:

Termos: Hydroxychloroquine induced hyperpigmentation

Resultado: 36 artigos (21 utilizados)

Descartados 15 artigos, 7 pelo título e 8 pelo resumo.

Termos: Hydroxychloroquine AND hyperpigmentation

Resultado: 62 artigos, sendo 36 os mesmos da pesquisa anterior (4 utilizados)

Descartados 21 artigos pelo título e 1 pelo resumo

Termos: Hydroxychloroquine OR antimalarials AND hyperpigmentation

Resultado: 170 artigos, sendo 62 da pesquisa anterior (2 utilizados)

Descartados 103 artigos pelo título e 3 pelo resumo

Termos: (Hydroxychloroquine OR antimalarials) AND hyperpigmentation

Resultado: 170 artigos. Sendo os mesmos 170 artigos da consulta anterior

Termos: Antimalarials hyperpigmentation

Resultado: 156 artigos, sendo 104 das consultas anteriores

Descartados 52 artigos pelo título

Termos: electronic microscopy hydroxychloroquine

Resultado: 17 artigos

Todos os artigos descartados pelo título

Termos: electronic microscopy hyperpigmentation hydroxychloroquine

Resultado: 0 artigos

Termos: electronic microscopy hyperpigmentation

Resultado: 65 artigos

Descartados 64 artigos pelo título e 1 pelo resumo.

Termos: frontal fibrosing alopecia treatment update

Resultado: 10 artigos (3 utilizados)

Descartados 6 artigos pelo título e 1 pelo resumo.

Total de artigos Selecionados: 30

Limites

A busca não teve nenhuma limitação, temporal ou de idioma, além dos descritores.

Descritores na pesquisa	Resultado	Repetidos	Excluídos pelo título	Excluídos pelo resumo	Utilizados
Hydroxychloroquine induced hyperpigmentation	36	-	7	8	21
Hydroxychloroquine AND hyperpigmentation	62	36	24	1	4
Hydroxychloroquinei OR antimalarials AND hyperpigmentation	170	62	103	3	2
(Hydroxychloroquine OR antimalarials) AND hyperpigmentation	170	170	-	-	0
Antimalarials hyperpigmentation	156	104	52	-	0
electronic microscopy hydroxychloroquine	17	-	17	-	0
electronic microscopy hyperpigmentation hydroxychloroquine	0	-	-	-	0
electronic microscopy hyperpigmentation	65	0	64	1	0
frontal fibrosing alopecia update	10	-	6	1	3
Total	686	372	273	14	30

Quadro 1: Descritores, artigos encontrados, repetidos, excluídos e utilizados na base de dados PubMed.

	Ano	Primeiro autor	Título	População/ Comorbidades	Tipo de estudo	Locais	Tempo de uso	AP/ME	Outras informações
01	2008	Amichai	Cutaneous Hyperpigmentation During Therapy With Hydroxychloroquine	Mulher 37 anos; AR	Relato de caso	Coxas	1 ano	AP	22 10-25% HCQ; palato duro; após meses; melhorou após cessar.
02	2017	Bahloul	Hydroxychloroquine-induced hyperpigmentation in systemic diseases: prevalence, clinical features and risk factors: a cross-sectional study of 41 cases	41 casos: 38 Mulheres e 3 Homens; LES, AR, LPA e Sarcoidose	Transversal	MMII	Média de 32 meses	-	29% HCQ; equimoses precedentes, antiagregante plaquetário; literatura 7-13%.
03	2020	Bajoghli	Hydroxychloroquine-induced Hyperpigmentation	Mulher 52 anos; LES	Relato de Caso	MMSS	12 anos	-	10-25% antimaláricos; equimoses; tibial é clássico; tempo de início é variável; melhora parcial ao cessar uso.
04	2019	Calheiros	Light and electron microscopy of chlorpromazine-induced hyperpigmentation	Homem 58 anos; Esquizofrenia	Relato de Caso	Face e pele exposta	5 anos	AP+ME	Clorpromazina, Fluoxetina e Risperidona.
05	2020	Chacon-Dulcey	Oral manifestations associated with antimalarial therapy in patients with systemic lupus erythematosus	105 casos; LES	Transversal	Oral	5 anos	AP	9,5% oral HCQ/CQ (palato duro principal local oral); oral é mais frequente.
06	2013	Cohen	Hydroxychloroquine-Associated Hyperpigmentation Mimicking Elder Abuse	Mulher 66 anos; LES	Relato de Caso	Cabeça e tronco superior	33 anos	AP	Unhas, mucosa e pele; até 33% HCQ; fronte, palato duro, tibial e antebraços; pode esmaecer ou ser contínuo; começa a partir de 1 ano uso.
07	2020	Doyno	Toxicity of chloroquine and hydroxychloroquine following therapeutic use or overdose	Revisão literatura; COVID	Revisão de Literatura	-	-	-	Cerca de 1%.
08	2020	Eljaaly	Hydroxychloroquine safety: A meta-analysis of randomized controlled trials	916 casos, média 60 anos	Metanálise	MMII, face e Oral	> 12 semanas	-	7% em LES; não foi dose nem tempo-dependente; MMII, face, lábios, gengivas e em asa de borboleta.
09	2016	Esteban-Lucía	Actualización en alopecia frontal fibrosante	-	Revisão de Literatura	-	-	-	Alternativa terapêutica eficaz, freiam a doença em até 48%, melhoria em até 20% dos casos.
10	2019	Horino	Hydroxychloroquine	Mulher 36 anos;	Relato de	MMII	1 ano	-	HCQ + prednisolona.

			-Associated Hyperpigmentation in Chilblain Lupus Erythematosus	Chilblain Lupus	Caso				
11	2019	Iorizzo	Frontal Fibrosing Alopecia: An Update on Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment	-	Revisão de Literatura	-	-	-	Primary lymphocytic cicatricial Alopecia. Devido aos efeitos antiinflamatórios, é uma opção válida.
12	2018	Ivo	Woman in grey: hydroxychloroquine -induced hyperpigmentation	Mulher 80 anos; LES e SSj	Relato de Caso	MMII e antebraços	11 anos	-	HCQ + prednisolona; HCQ 7-29%; Mucosa oral, unhas, tibial, antebraços; FR: Equimose; geralmente há depósito de melanina e hemossiderina; melhora total é rara.
13	2013	Jallouli	Hydroxychloroquine -Induced Pigmentation in Patients With Systemic Lupus Erythematosus A Case-Control Study	24 pacientes: 23 Mulheres e 1 Homem; LES e Hiperpigmentação por HCQ versus 517 LES com HCQ controle	Caso- Controle	Todos com face anterior das pernas, alguns braços e apenas um no palato	3-22 meses (média 6,1)	AP	Uso de outros imunossupressores; Secundária à equimoses e hematomas; 92% em áreas de equimose prévia; FR: anticoagulantes, antiagregantes plaquetários e HCQ sérica elevada; 10-25% antimaláricos.
14	2010	Kalabalikis	Hyperpigmented Forearms and Nail: A Quiz	Mulher 75 anos; LEC	Relato de Caso	Antebraços e melanoníq uia	8 anos	AP	HP: hiperpigmentação da basal da epiderme e depósito difuso de melanina e hemossiderina na derme.
15	2012	Kalampaliki s	Isolated hyperpigmentation of the oral mucosa due to hydroxychloroquine	Mulher 55 anos; SSj	Relato de Caso	Mucosa oral	7 meses	AP	HCQ + metilprednisolona; 25% antimaláricos.
16	2014	Kasper	Hydroxychloroquine -induced hyperpigmentation	Mulher 49 anos; AR	Relato de Caso	Rosto, pescoço, ombros, antebraços e mãos	13 meses	AP	HCQ + prednisolona + AINE; uso em geral: LES, AR e fotodermatoses. Sem hemossiderina no AP; Em 25% antimaláricos, em caucasianos após 4 meses; Grânulos de pigmento consistem em melanina ou hemossiderina? Aqui, apenas melanina, assim como outros estudos; HCQ reduz a DEM; áreas fotoexpostas.
17	2016	Lau	Serpentine supravenous	Homem 53 anos; DITC	Relato de Caso	MMII	10 anos	-	Serpiginosa: Antimaláricos e quimioterápicos.

			hyperpigmentation due to hydroxychloroquine							
18	2020	Leung	Hydroxychloroquine-induced hyperpigmentation in a 14-year-old female with systemic lupus erythematosus	Mulher 14 anos; LES	Relato de Caso	MIII e dorso pé	3 anos	-	HCQ usada em: LES, AIJ, AR, SSj, Dermatomiosite, LPA, LP oral e Sarcoidose; tibial, MMSS, face, mucosa oral, tronco, unhas e axila. HCQ em 10-25%, podendo chegar a 29% pacientes (Bahloul2017); Q-switched 755-nm alexandrite laser; mais em fototipo alto.	
19	2017	Manger	Hard palate hyperpigmentation - a rare side effect of antimalarials.	Mulher 50 anos; SSj	Relato de Caso	Palato duro	4 anos	AP	Melhora total após cessar.	
20	2004	Melikoglu	Hydroxychloroquine-induced hyperpigmentation: a case report	Mulher 48 anos; SSj	Relato de Caso	Dorso mãos	2 anos	-	4-70 meses; tibial, face, palato duro, tronco leito ungueal; 10-25% antimaláricos.	
21	2004	Millard	Cutaneous hyperpigmentation during therapy with hydroxychloroquine	Mulher 48 anos; DITC	Relato de Caso	Face, tronco, pescoço, axila e coxa posterior	9 meses	AP	Pele fotoexposta e fotoprotetida	
22	2013	Mir	Hydroxychloroquine-induced hyperpigmentation	Mulher 57 anos; LES, SSj e Hiperglobulinemia	Relato de caso	Face, dorso superior e dorso dos pés	7 anos	AP	13% com HCQ; qualquer parte; pode ser irreversível.	
23	2015	Puri	Hydroxychloroquine-induced hyperpigmentation: the staining pattern	1) Mulher 50 anos; DMTC 2) Mulher 78 anos; LES e AR	Relato de 2 Casos	1) Dorso superior e ombros; 2) Cabeça;	1)4-5 anos; 2)18 meses;	AP	1) HCQ; 2) HCQ + Prednisona Apenas melanina, sem hemossiderina; 10-25% antimaláricos; palato duro é o local mais acometido	
24	2008	Rood	Hyperpigmentation of the skin due to hydroxychloroquine	Mulher 92 anos; AR	Relato de Caso	Antebraços	4 anos	AP	HCQ + prednisolona; Melanina + hemossiderina	
25	2015	Sawalha	Hydroxychloroquine-induced Hyperpigmentation of the Skin	Mulher 32 anos; AR	Relato de Caso	Pescoço, antebraços e dorso pé	18 meses	-	HCQ + MTX; HCQ: 3 meses a 22 anos (6,1 anos média)	
26	2020	Sharma	Characterizing the adverse dermatologic effects of	Com 94 artigos, 3578 pacientes, 83% mulheres e 116 casos	Revisão Sistemática		-	-	Reações adversas cutâneas em 94,4% dos casos de efeitos adversos totais com a HCQ; Hiperpigmentação só teve menos	

hydroxychloroquine :
A systematic review

hiperpigmentação;
72% dos pacientes
era tratado para LES

que erupções/rash; todas hiperpigmentações
Foram descritas como descoloração cinza-azulada.
Quase toda a face e corpo, com 1
apresentação serpentina supravenosa; Em geral, após 4 meses; Um estudo coorte retrospectivo (Jallouli): 96% com hiperpigmentação por HCQ tinham condição predisponente a equimoses, mais comumente anticoagulante ou antiagregante oral.

27	2021	Shippey	Hydroxychloroquine : An old drug with new relevance	-	Revisão Literatura	-	-	-	HCQ suprime receptores Toll-like e produção de TNF, que são fundamentais na resposta inflamatória mediada por células. Os medicamentos antimaláricos foram descobertos pouco antes da Segunda Guerra Mundial. A malária era uma das principais causas de doenças entre os soldados, especialmente aqueles destacados para o Pacífico Sul; cloroquina, pelo Exército dos EUA em 1943; hidroxiclороquina em 1955; Hiperpigmentação e retinopatia podem ocorrer independentemente uma da outra, mas alta dose cumulativa é um fator de risco para ambas; A irreversibilidade da retinopatia - a ameaça de perda permanente da visão - marcaram a retinopatia como a toxicidade potencial mais preocupante.
28	2011	Skare	Antimalarial cutaneous side effects: a study in 209 users	209 pacientes	Transversal	-	-	-	Dos efeitos adversos aos antimaláricos, 76% foram cutâneos (xerose, hiperpigmentação-33%, sendo 35% dos usuários de CQ e 13% dos HCQ); Os antimaláricos se depositam em tecidos, 20–200.000 vezes sua concentração plasmática, sendo a maior concentração, em células da pele

e da retina contendo melanina. Cinzento-azulado a preto, a pigmentação é detectada em 10-30% dos pacientes e normalmente aparece no rosto, palato duro, antebraços e canelas; mais em caucasianos; Tanto áreas Fotoexpostas, como protegidas; Hiperpigmentação em 10-25% antimaláricos (Millard).

29	2019	Tavakolpour	Frontal fibrosing alopecia: An update on the hypothesis of pathogenesis and treatment	-	Revisão de Literatura	-	-	-	Eficácia potencial
30	2019	Tracy	Hydroxychloroquine-Induced Hyperpigmentation	Mulher 48 anos; LES	Relato de Caso	Face, dorso superior e tórax	18 anos	AP	Em 3% com HCQ; Melanina e hemossiderina.

Quadro 2: Resumo dos artigos encontrados na revisão de literatura.

Achados da Revisão de Literatura

Na pesquisa de revisão da literatura referente ao tema, encontram-se artigos de 2009 a 2021, discriminando um total de 4894 indivíduos estudados, mas vale ressaltar que alguns artigos de revisão não especificam o número de sujeitos de cada trabalho incluso, compreendendo-se então que o número é muito maior. Ambos os sexos foram contemplados, dos 14 aos 80 anos de idade.

Os artigos em sua maioria são Relatos de Caso e Revisão da Literatura, mas há Estudos Transversais, uma Metanálise e um Estudo de Caso-Controle.

Além da Hidroxicloroquina, parte dos estudos avaliou conjuntamente o mesmo efeito sob uso da Cloroquina, outro antimalárico.

No que se refere à prevalência de hiperpigmentação, encontra-se desde trabalhos com apenas 1% dos usuários, a valores altos, com cerca de 30% dos pacientes estudados. Existe uma quase unanimidade, que tal efeito adverso independe da dose a qual o paciente está exposto.¹⁻

3,12,13,20,23

Além da dose, parece que tal manifestação também não possui relação com o tempo exposta à medicação. Porém, é possível dividirmos em grupos, por tempo de tratamento. A faixa entre 1 e 5 anos de uso destaca-se pelo momento que mais frequentemente inicia a hiperpigmentação. Também

foi frequente o aparecimento já nos primeiros meses de uso, assim como entre 5 e 10 anos de uso, mas há relato de aparecimento tão tardio quanto 33 anos de uso da medicação.^{6,8,13,15,21}

Em relação às comorbidades, estão inclusos indivíduos com AR, LES, Liqueficação Plano Actínico (LPA), Sarcoidose, Esquizofrenia, Síndrome de Sjögren (SSj), Lupus Eritematoso Cutâneo (LEC), Doença Indiferenciada do Tecido Conjuntivo (DITC), Doença Mista do Tecido Conjuntivo (DMTC), Hiper-gamaglobulinemia, Lupus Pérnio e Alopecia Fibrosante Frontal.^{9,11,16,18,27,29}

A localização corporal mais comumente acometida foram os membros inferiores (MMII), seguidos pelos membros superiores (MMSS), sendo a face a terceira área mais envolvida. Tronco superior, mucosa oral e em raras vezes outras áreas corporais foram também relatadas. Existem dois relatos de apresentação serpiginosa supravenosa, uma apresentação rara, mas muito característica.^{1-4,8,10,12,13,17,18,26}

Muitos Relatos de Caso referem melhora da hiperpigmentação com a suspensão da medicação, mas o tempo para essa melhora é incerto, podendo ocorrer ao longo de muitos anos. Mas há também relatos de hiperpigmentação permanente, a despeito da suspensão da medicação.^{1,3,6,19,22}

Uma informação importante, é a de que a hiperpigmentação foi em muitos casos precedida de equimoses, inclusive sendo citado que alguns desses pacientes faziam uso de antiagregantes plaquetários e anticoagulantes, o que poderia justificar tal associação como fator desencadeante.^{2,3,13,26}

Conforme especificado acima, na busca da literatura não se encontra qualquer artigo com hiperpigmentação por antimaláricos ou hidroxicloroquina e avaliação pelo método de ME, o que torna esse trabalho único até o momento. Já a descrição do anatomopatológico por biópsia de pele e coloração por HE, é vasta e tem como característica sempre presente a hiperpigmentação da camada basal epidérmica acompanhada de melanina na derme superficial. No entanto, algumas análises evidenciaram hemossiderina presente na derme papilar, juntamente com a melanina.^{1,5,6,12,13-16,23,30}

6. MÉTODOS

6.1 Delineamento

Estudo qualitativo de caso.

6.2 Participante

Paciente de 65 anos, sexo feminino, atendida em consultório particular na cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

6.3 Procedimentos

A biópsia de pele foi realizada com instrumento punch 4.0mm, enviada ao Centro de Anatomia Patológica (CAP), Pelotas – RS, para análise em microscopia óptica. A coloração padrão para biópsia de pele é a de hematoxilina e eosina (HE). Foi realizada imuno-histoquímica com marcadores de antígenos melânicos (HMB-45, Melan-A e S-100).

Uma parte do fragmento da biópsia de pele foi separada, fixada não em formol, mas sim em glutaraldeído, para posterior análise em microscopia eletrônica de transmissão e de varredura. Após preparo, conforme rotina na EMBRAPA-CPACT-Pelotas, as análises de MET e MEV foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica do Sul (CEME-SUL), da Universidade Federal do Rio Grande (FURG).

6.4 Aspectos Éticos

O projeto foi encaminhado para análise e aprovado pelo Comitê de Ética da UCPel.

Foi explicado à paciente, de forma pormenorizada, sobre o seu caso, sua importância acadêmica e sobre a pesquisa realizada a partir deste. Após ler junto com a paciente o TCLE, tirar todas as dúvidas, inclusive orientação sobre o direito de recusar sua participação no estudo e a utilização dos seus dados, a paciente procedeu com assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (em anexo).

6.5 Riscos

Os riscos eram pequenos e momentâneos, como desconforto no local da biópsia, vermelhidão e equimose, bem como diminuta cicatriz, de caráter permanente. Existe, mesmo que mínima, a chance de identificação do paciente relatado no caso, gerando algum desconforto para o paciente, do ponto de vista social e/ou emocional.

6.6 Benefícios

Esse estudo irá contribuir para que a afecção cutânea em questão seja discutida entre pesquisadores e profissionais atuantes da área, elucidando aspectos tridimensionais ainda não documentados na literatura, o que irá promover melhor entendimento da condição e poderá auxiliar em pesquisas de possíveis tratamentos para a condição.

6.7 CRONOGRAMA

	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
ATENDIMENTO DA PACIENTE COM HIPERPIGMENTAÇÃO	X								
QUALIFICAÇÃO							X		
BIÓPSIA PELE							X		
MO							X		
TCLE							X		
MO								X	
MET E MEV								X	
DEFESA FINAL									X

6.8 ORÇAMENTO

Este trabalho foi custeado inteiramente pelo autor e pela verba de pesquisa do orientador.

7. REFERÊNCIAS:

1. Amichai B, Gat Andera, Grunwald MH. Cutaneous Hyperpigmentation During Therapy With Hydroxychloroquine. *Journal of Clinical Rheumatology*. Volume 13, Number 2, April 2007.
2. Bahloul E, Jallouli M, Garbaa S, et al. Hydroxychloroquine-Induced Hyperpigmentation in Systemic Diseases: Prevalence, Clinical Features and Risk Factors: A Cross-Sectional Study of 41 Cases. *Lupus*, 26, 1304-1308.
3. Bajoghli A, Hernandez G, Cardis MA. Hydroxychloroquine-induced Hyperpigmentation. *The Journal of Rheumatology* 2020;47:1721–2.
4. Calheiros T, de Almeida Jr. HL, Jorge VM, et al. Light and electron microscopy of chlorpromazine-induced hyperpigmentation. *J Cutan Pathol*. 2019;1–4.
5. Chacón-Dulcey V, López-Labady J, Villarroel-Dorrego M, et al. Oral manifestations associated with antimalarial therapy in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2020;29(7):761–766.
6. Cohen PR. Hydroxychloroquine-associated hyperpigmentation mimicking elder abuse. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2013;3(2):203-210.
7. Doyno C, Sobieraj DM, Baker WL. Toxicity of chloroquine and hydroxychloroquine following therapeutic use or overdose, *Clinical Toxicology*.
8. Eljaaly K, Alireza KH, Alshehri S, et al. Hydroxychloroquine safety: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Travel Medicine and Infectious Disease* 36 (2020) 101812.
9. Esteban-Lucía L, Molina-Ruiz AM, Requena L. Actualización en alopecia frontal fibrosante. *Actas Dermosifiliogr*. 2017.

10. Horino T, Osamu I, Terada Y. Hydroxychloroquine-Associated Hyperpigmentation in Chilblain Lupus Erythematosus. *Journal of Clinical Rheumatology*: September 2020 - Volume 26 - Issue 6 - p e192.
11. Iorizzo M, Tosti A. Frontal Fibrosing Alopecia: An Update on Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment. *Am J Clin Dermatol*. 2019 Jun;20(3):379-390.
12. Ivo R, Lopes CA, Reis R. Woman in grey: hydroxychloroquine-induced hyperpigmentation. *BMJ Case Rep* 2018;11:e227305.
13. Jallouli M, Francès C, Piette JC, et al. Hydroxychloroquine-induced pigmentation in patients with systemic lupus erythematosus: a case-control study. *JAMA Dermatol*. 2013 Aug;149(8):935-40.
14. Kalabalikis D, Patsatsi A, Trakatelli M, et al. Hyperpigmented Forearms and Nail: A Quis. *Acta Derm Venereol* 2010; 90: 657-659.
15. Kalampalikis A, Goetze S, Elsner P. Isolated hyperpigmentation of the oral mucosa due to hydroxychloroquine. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 10: 921-922.
16. Kasper RS, Flueckiger B, Gobbi S, et al. Hydroxychloroquine-induced hyperpigmentation. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2014 Feb;12(2):158-61.
17. Lau JF, Dean SM, Rooke TW, et al. Serpentine supragenous hyperpigmentation due to hydroxychloroquine. *Vasc Med*. 2016 Dec;21(6):558-559.
18. Leung AKC, McMillan T, Human A, et al. Hydroxychloroquine-induced hyperpigmentation in a 14-year-old female with systemic lupus erythematosus. *Drugs in Context* 2020; 9: 2020-5-8.
19. Manger K, von Streitberg U, Seitz G, et al. Hard palate hyperpigmentation-a rare side effect of antimalarials. *Arthritis Rheumatol*. 2018 Jan;70(1):152.

20. Melikoglu MA, Melikoglu M, Gurbuz U, et al. Hydroxychloroquine-induced hyperpigmentation: a case report. *J Clin Pharm Ther*. 2008 Dec;33(6):699-701.
21. Foti C, Cassano N, Conserva A, et al. Allergic contact dermatitis due to diclofenac applied with iontophoresis. *Clinical and Experimental Dermatology*, 29, 91–99.
22. Mir A, Boyd KP, Meehan SA, et al. Hydroxychloroquine-induced hyperpigmentation. *Dermatology Online Journal* 19 (12): 19.
23. Puri PK, Lountzis NI, Tyler W, et al. Hydroxychloroquine-induced hyperpigmentation: the staining pattern. *J Cutan Pathol* 2008; 35: 1134–1137.
24. Rood MJ, Vermeer MH, Huizinga TMJ. Hyperpigmentation of the skin due to hydroxychloroquine. *Scand J Rheumatol* 2008;37:158–160.
25. Sawalha AH. Hydroxychloroquine-induced hyperpigmentation of the skin. *J Rheumatol*. 2015 Jan;42(1):135-6.
26. Sharma AN, Mesinkovska NA, Paravar T. Characterizing the adverse dermatologic effects of hydroxychloroquine: A systematic review. *J Am Acad Dermatol*. 2020 Aug;83(2):563-578.
27. Shippey EA, Wagler VD, Collamer AN. Hydroxychloroquine: An old drug with new relevance. *Cleve Clin J Med*. 2018 Jun;85(6):459-467.
28. Millard, TP, Kirk A, Ratnavel R. Cutaneous hyperpigmentation during therapy with hydroxychloroquine. *Clinical and Experimental Dermatology*, 29: 92-93.
29. Tavakolpour S, Mahmoudi H, Abedini R, et al. Frontal fibrosing alopecia: An update on the hypothesis of pathogenesis and treatment. *Int J Womens Dermatol*. 2019 Jan 23;5(2):116-123.
30. Tracy CL, Blakey B, Parker G, et al. Hydroxychloroquine-induced hyperpigmentation. *J Clin Rheumatol*. 2013 Aug;19(5):292.

8 .RESULTADOS

8.1 Aspectos Clínicos

Paciente de 65 anos, feminina, iniciou tratamento com hidroxicloroquina em agosto de 2018 para Alopecia Fibrosante Frontal na dose de 400 mg ao dia. Apresentou boa resposta dos sintomas e regressão de sinais da doença já nos primeiros 3 meses de tratamento, porém começou a manifestar pigmentação castanho-acinzentada difusa, com predomínio em áreas foto-expostas e coxas, aos 6 meses de tratamento (fevereiro de 2019).

Não havia alteração do pigmento da íris, retina ou mucosa oral.

Teve então reduzida a dose para dias alternados e orientada quanto à fotoproteção.

Com piora progressiva do quadro de pigmentação da pele, à despeito das medidas, optou-se por biópsia de pele em agosto de 2019 e suspensão da medicação em outubro de 2019, com consequente melhora gradual da hiperpigmentação após a suspensão do medicamento.



Figura 1. Pigmentação castanho-acinzentada em face, com predomínio pré-auricular.



Figura 2: Pigmentação castanho-acinzentada discreta em antebraços, entremeada por Leucodermia Gutata.



Figura 3: Local da biópsia de pele, onde havia pigmento castanho-acinzentado.

8.2. Microscopia Óptica

O exame de MO, corado pela técnica com HE, evidenciou hiperpigmentação na camada basal da epiderme, sem alterações estruturais.

Em grande aumento, notou-se pequenas estruturas de formato oval, basofílicas, em meio aos feixes de colágeno. Estas estruturas não correspondem à qualquer componente anatômico dérmico.

Anexos cutâneos como glândulas sudoríparas, glândulas sebáceas e músculo eretor do pelo não são afetados.

Segue documentação fotográfica desses achados.

Na técnica de IHQ, através de HMB-45/Melan-A, fica evidente o aumento de melanina na camada basal da epiderme, com pequenos focos do pigmento na derme superficial, demonstrando também número normal de melanócitos.

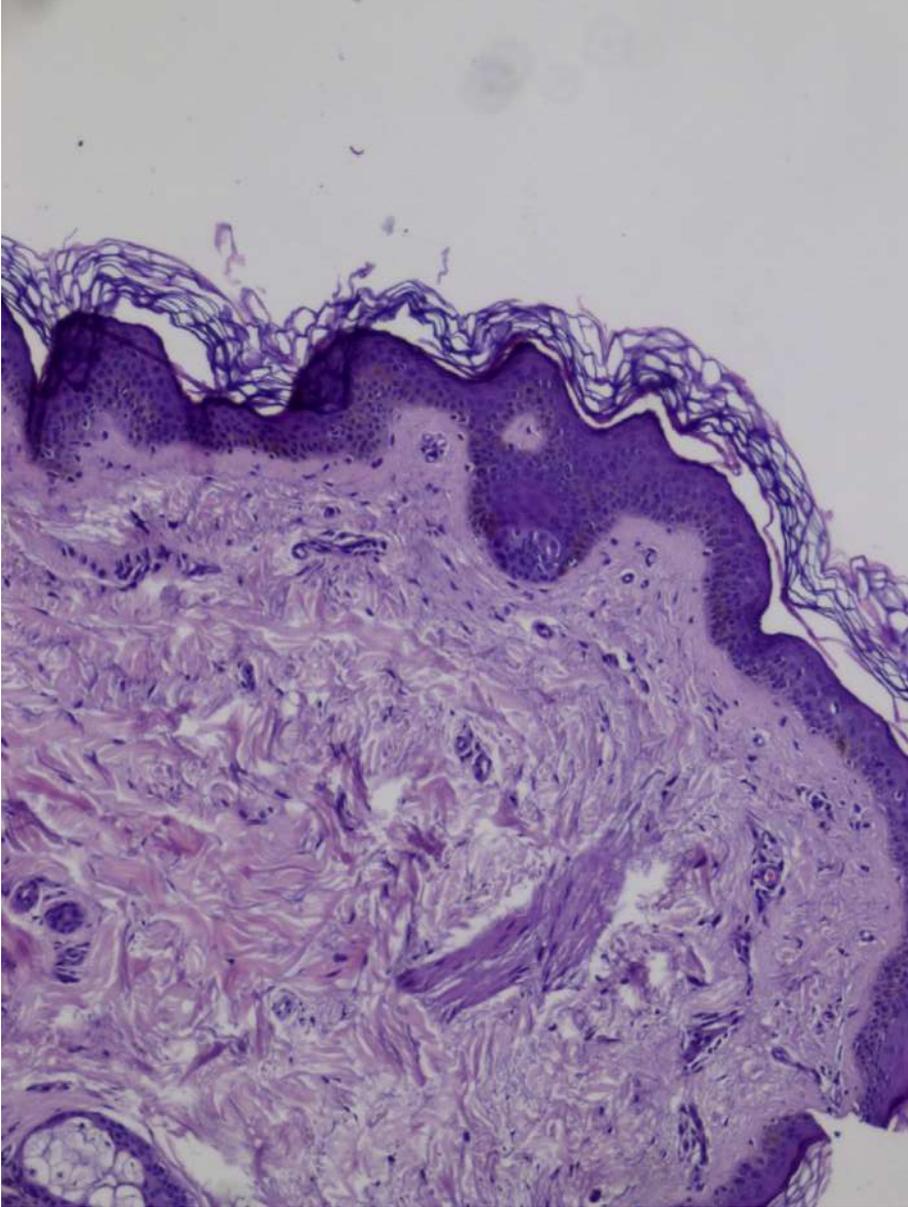


Figura 4: Microscopia Óptica. Pequeno aumento demonstrando epiderme normal (HE x 100).

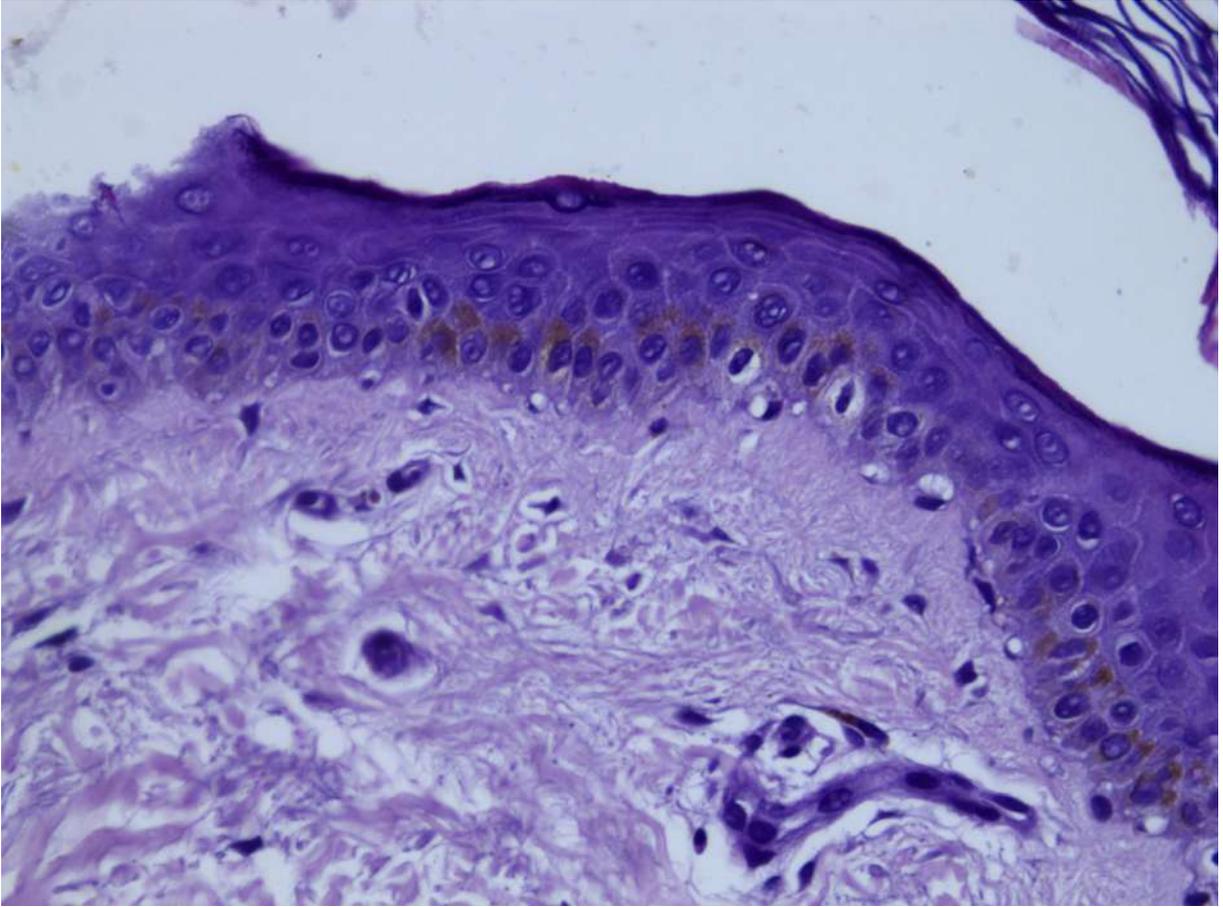


Figura 5: Microscopia Óptica. Pequeno aumento demonstrando epiderme normal com pigmentação basal (HE x 200).

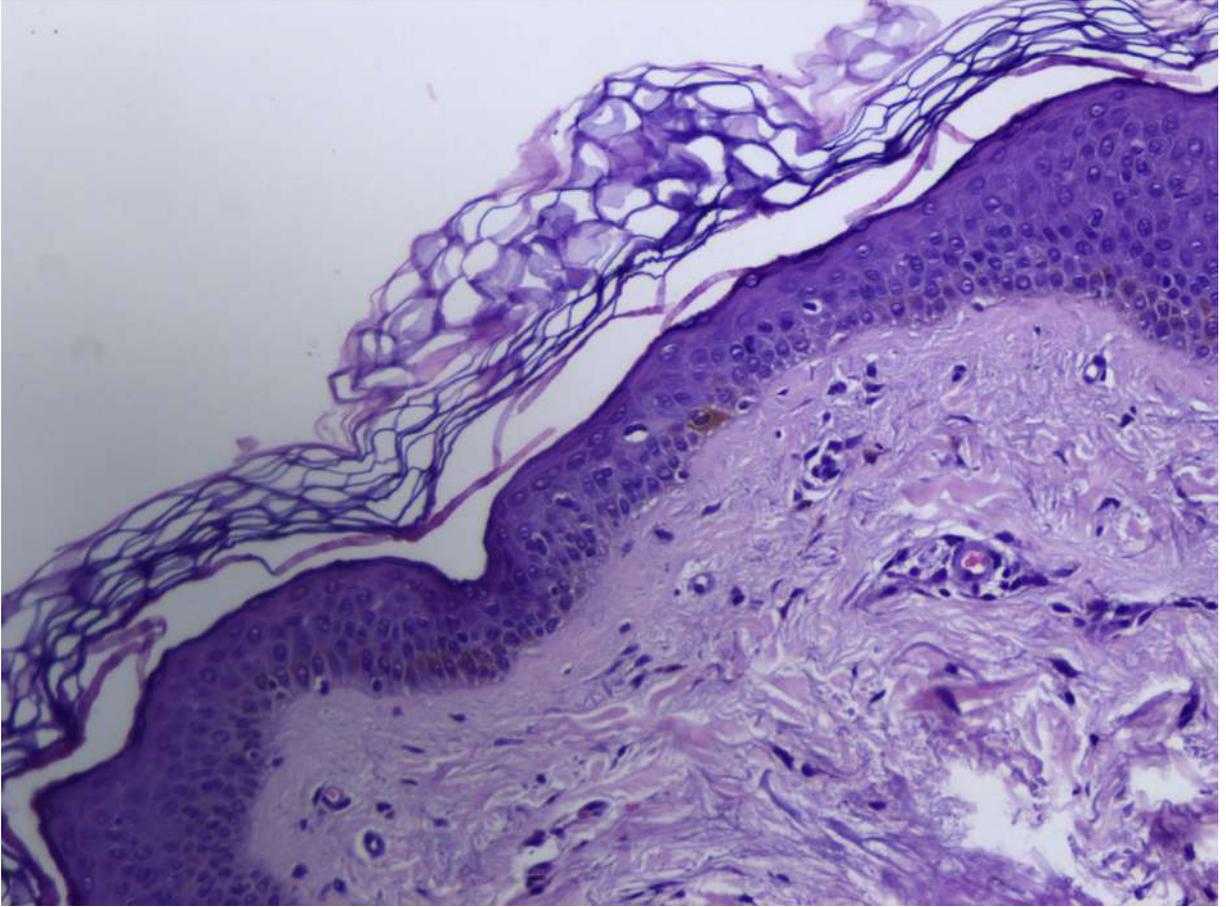


Figura 6: Microscopia Óptica. Pequeno aumento demonstrando epiderme normal (HE x 100).

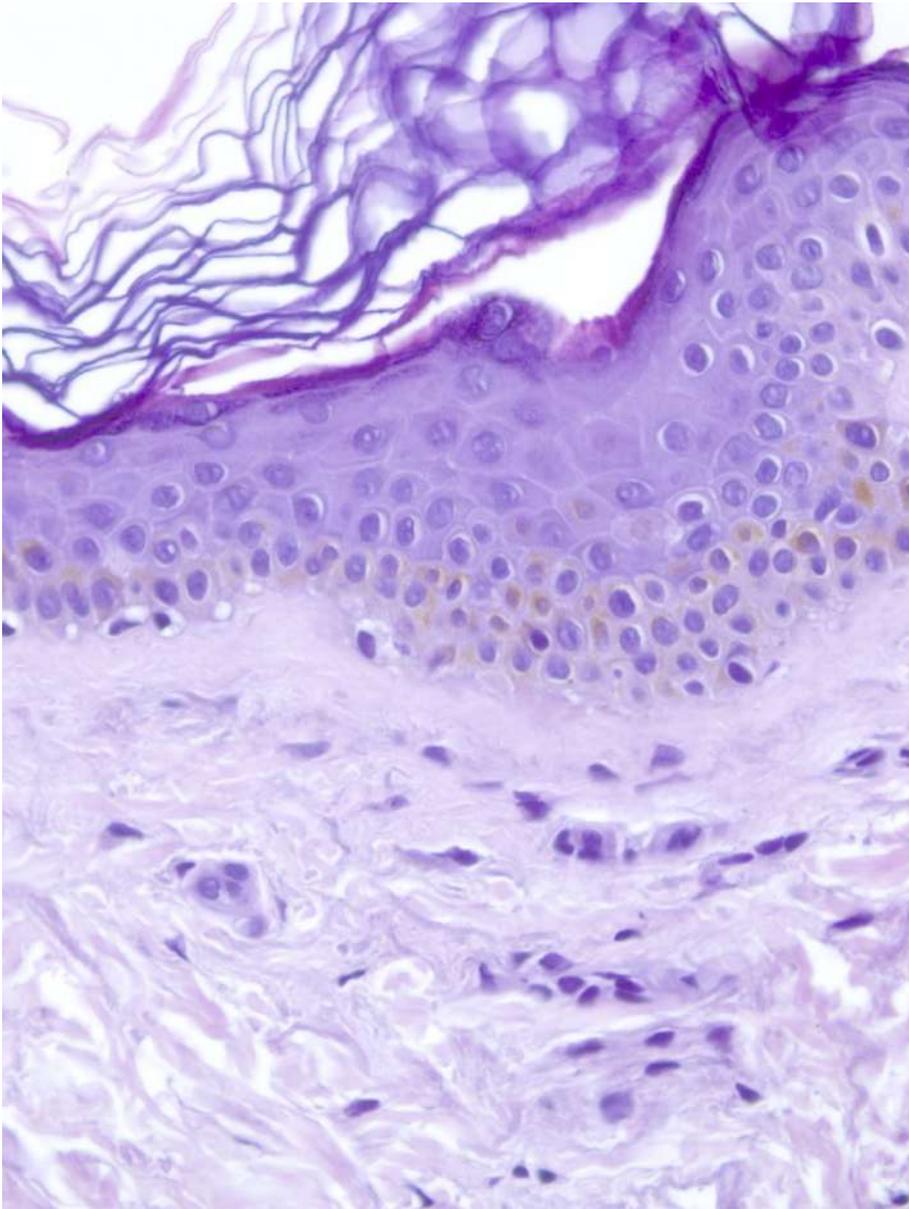


Figura 7: Microscopia Óptica. Detalhe da pigmentação basal (HE x200).

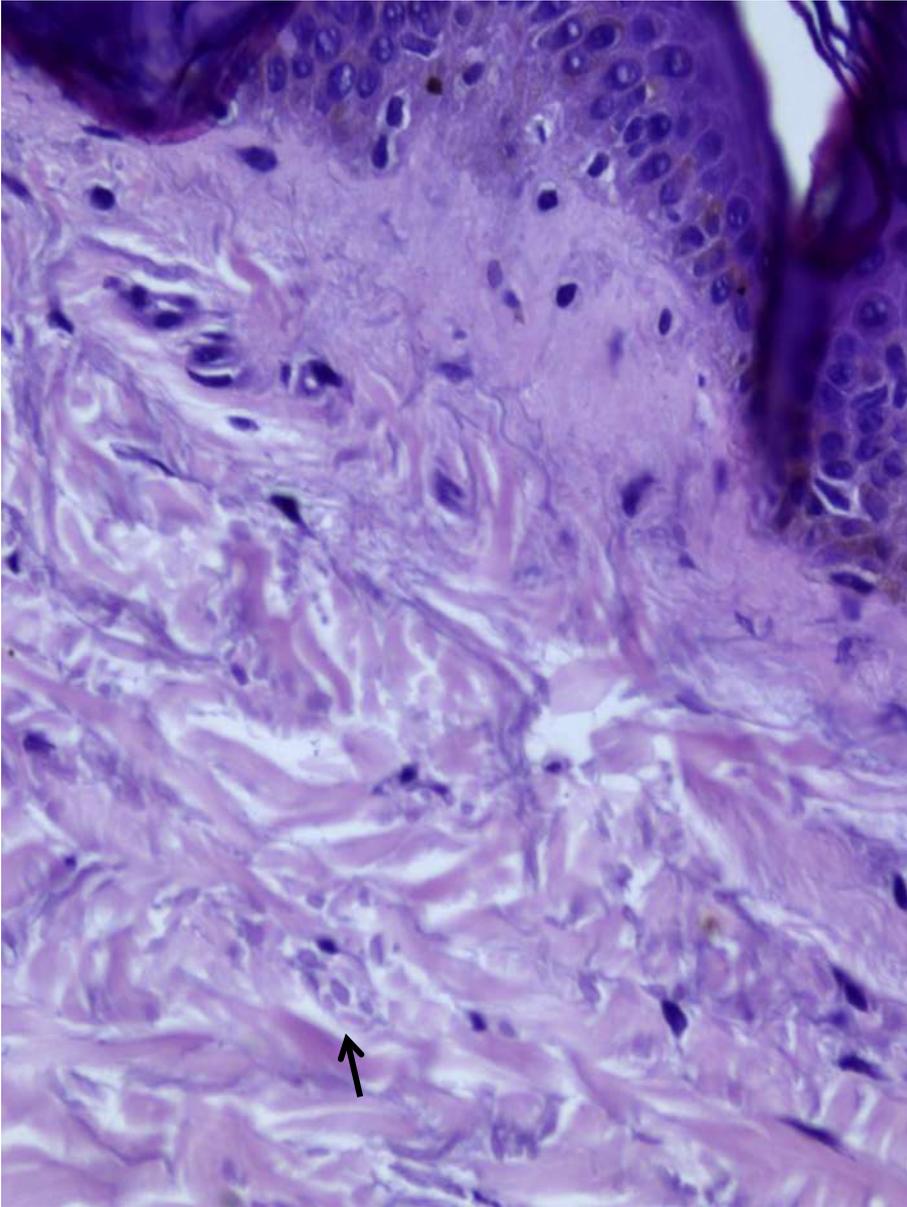


Figura 8: Microscopia Óptica. Exame da derme identificando estruturas ovais (HE x200).

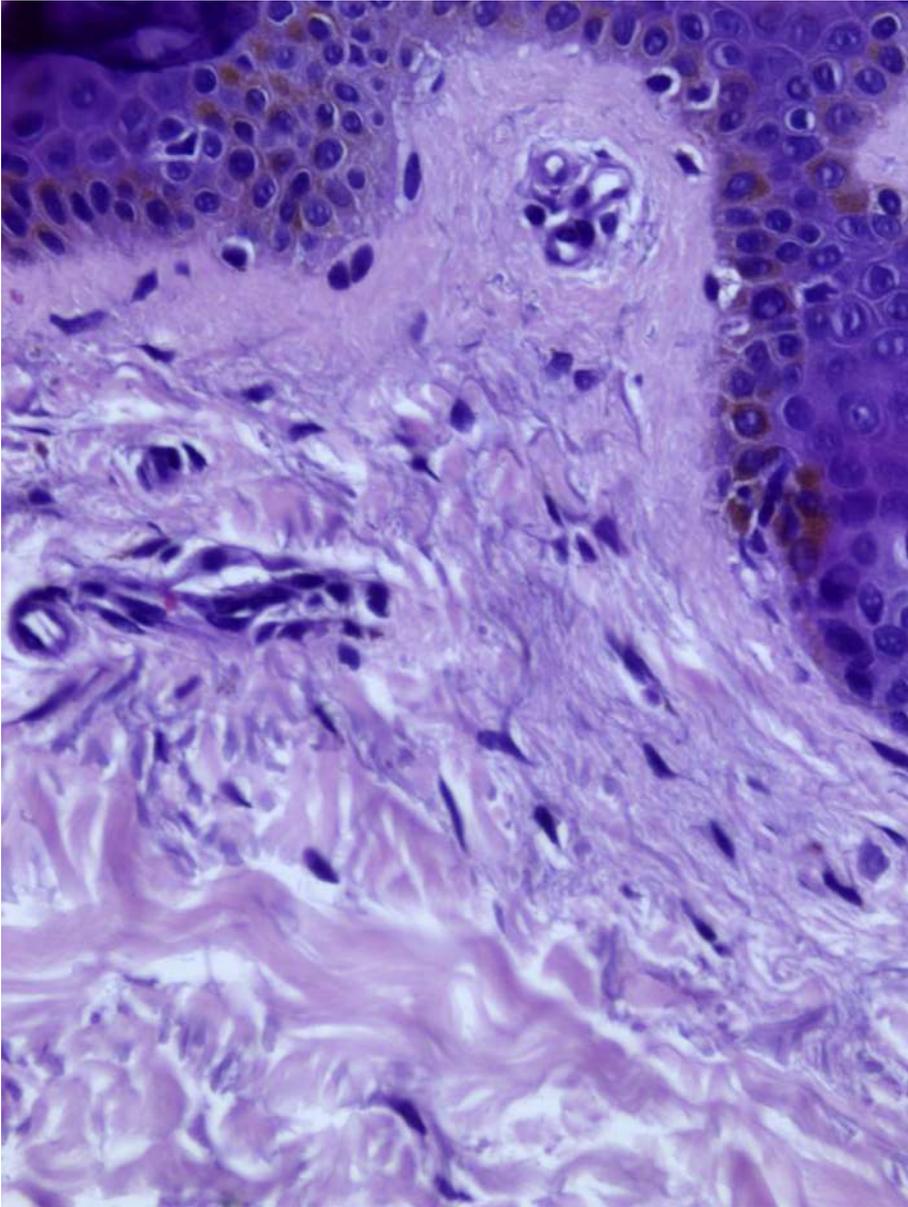


Figura 9: Microscopia Óptica. Derme Papilar sem alterações (HE x200).

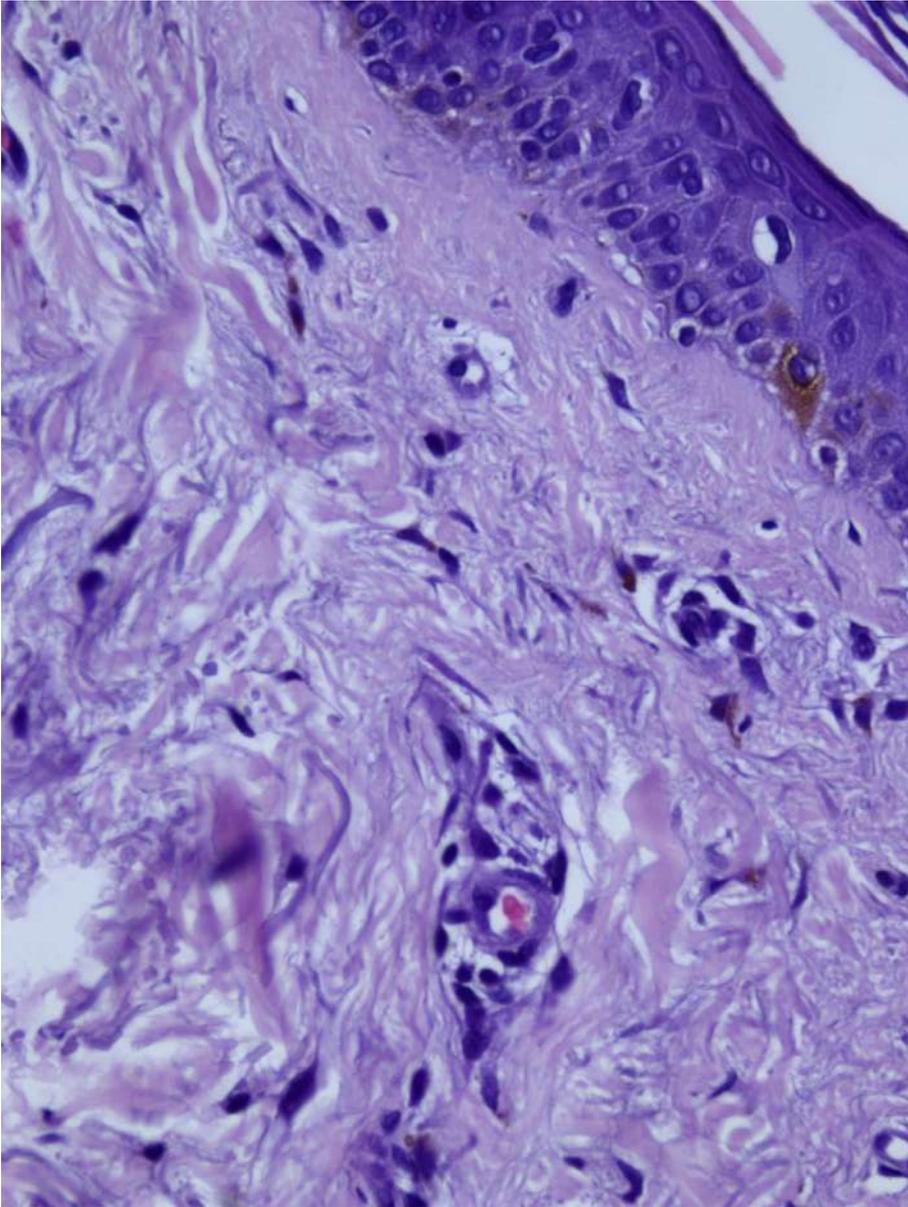


Figura 10: Microscopia Óptica. Derme média sem alterações (HE x200).

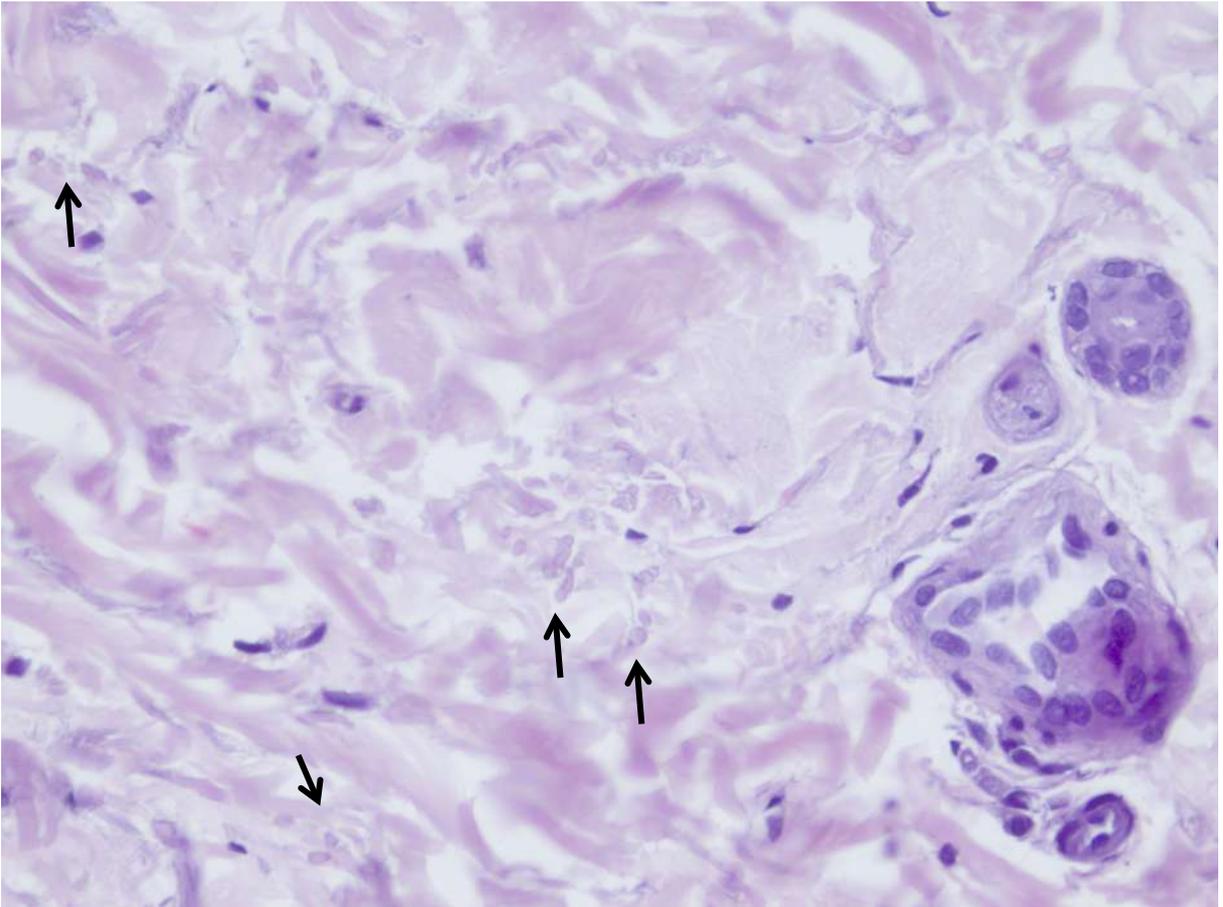


Figura 11: Microscopia Óptica. Detalhe da derme média com identificação de várias estruturas ovais (HEx200).

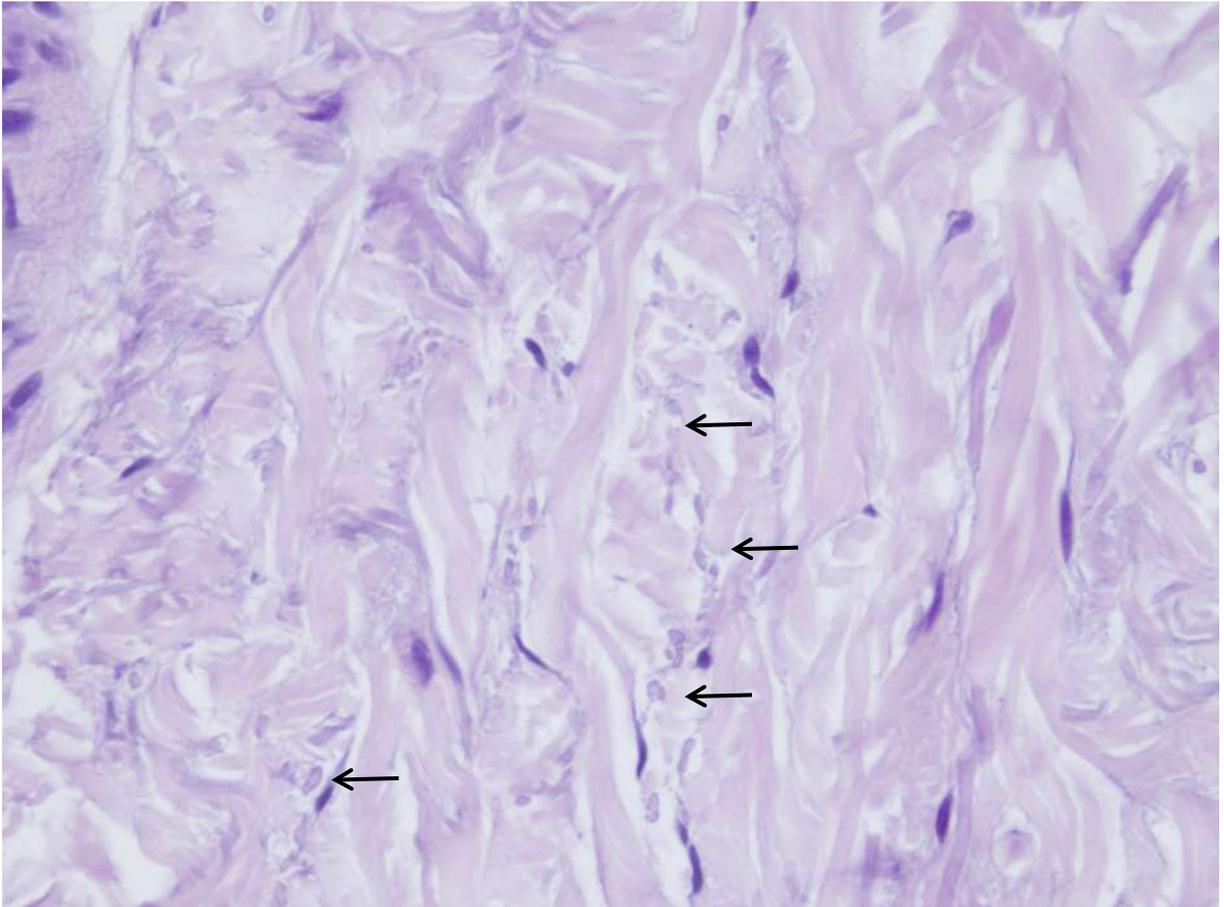


Figura 12: Microscopia Óptica. Detalhe da derme média com identificação de várias estruturas ovais (HEx200).

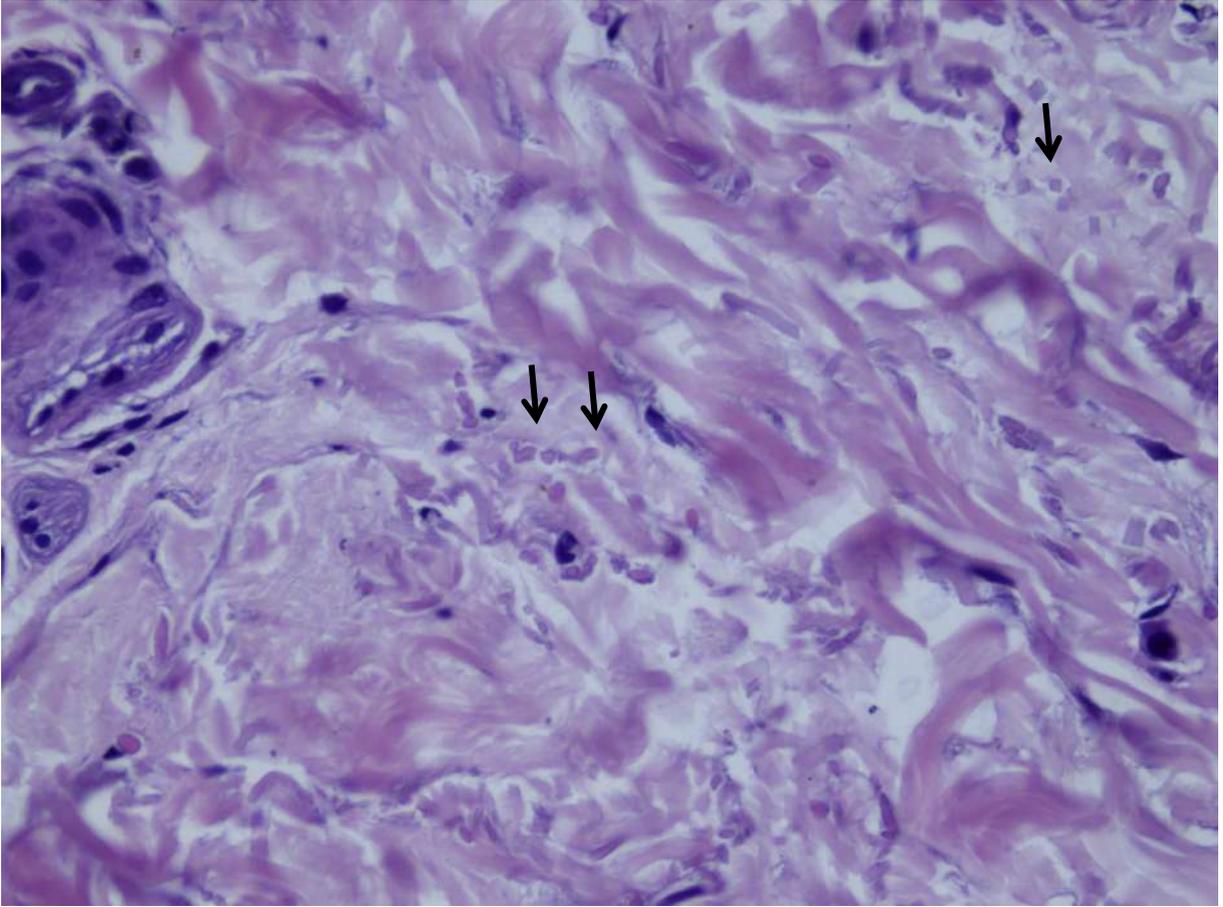


Figura 13: Microscopia Óptica. Detalhe da derme média com identificação de várias estruturas ovais (HEx200).

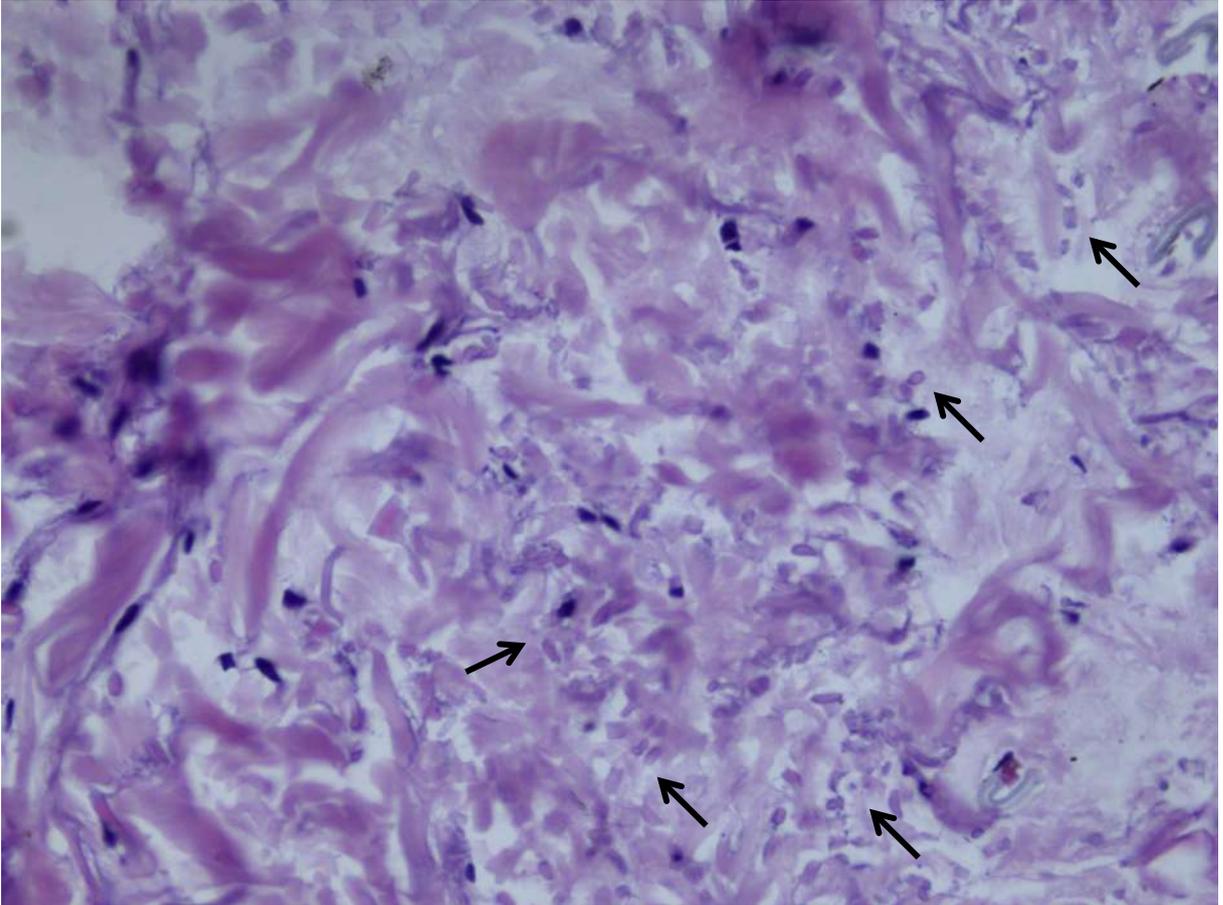


Figura 14: Microscopia Óptica. Outro detalhe da derme média com identificação de inúmeras estruturas ovais (HEx200).

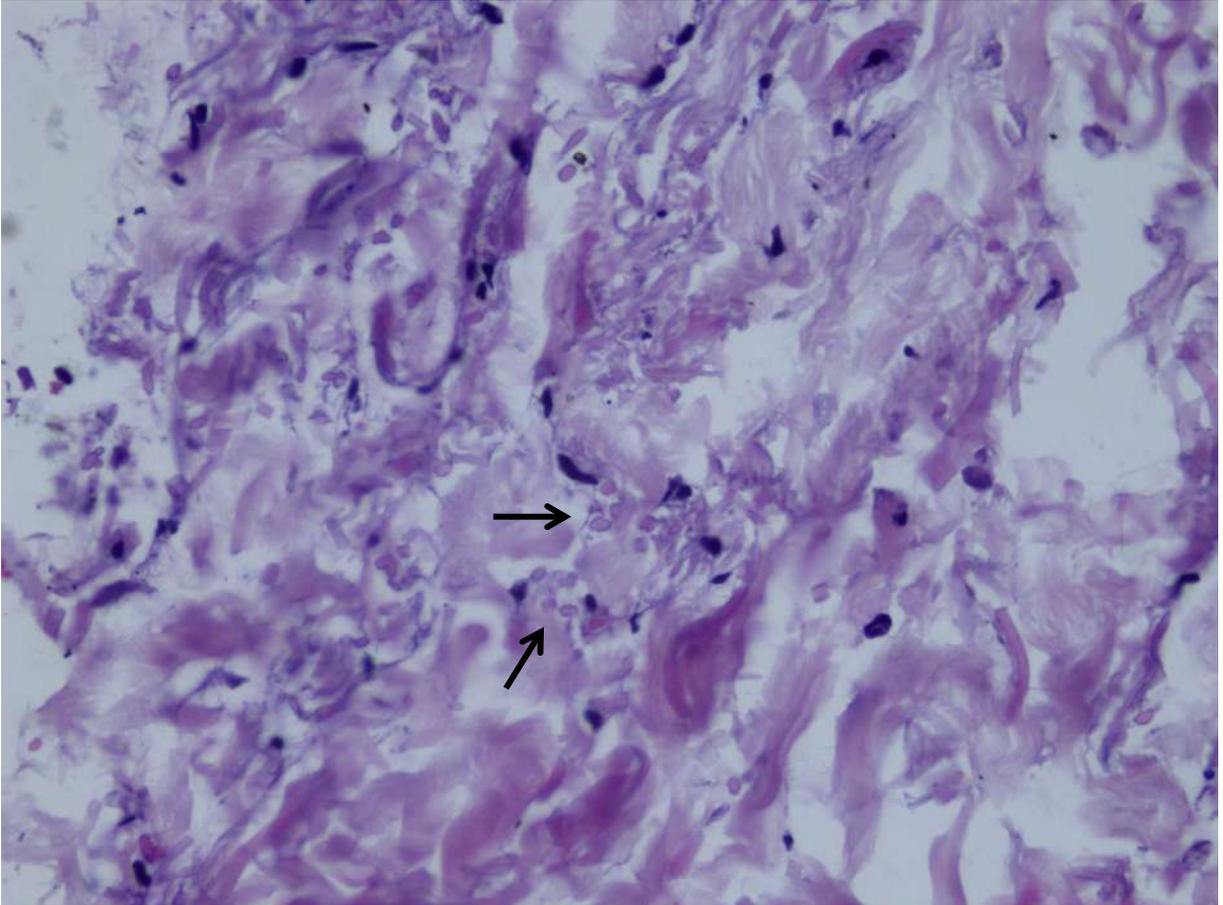


Figura 15: Microscopia Óptica. Outro detalhe da derme média com identificação de inúmeras estruturas ovais (HEx200).

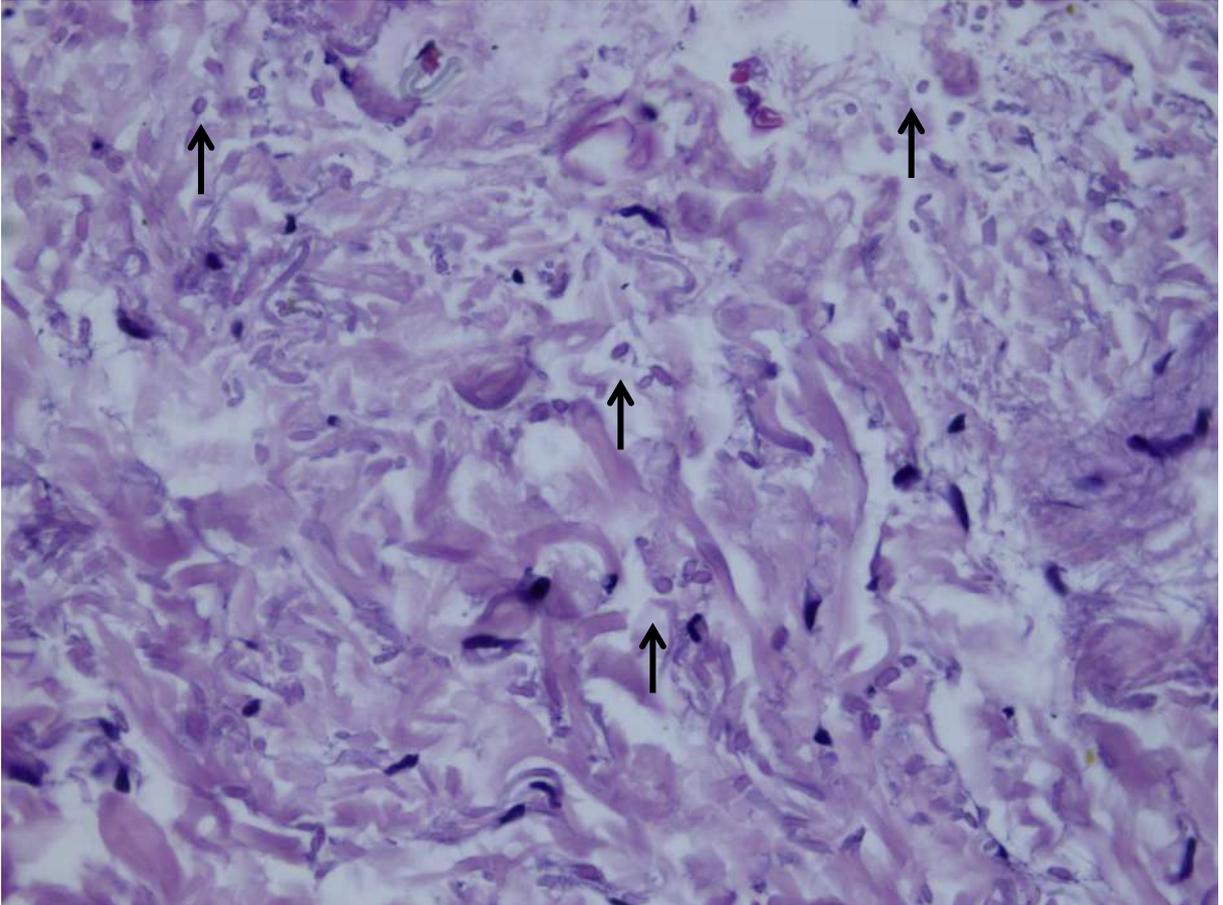


Figura 16: Microscopia Óptica. Outro campo da derme média com identificação de inúmeras estruturas ovais (HEx200).

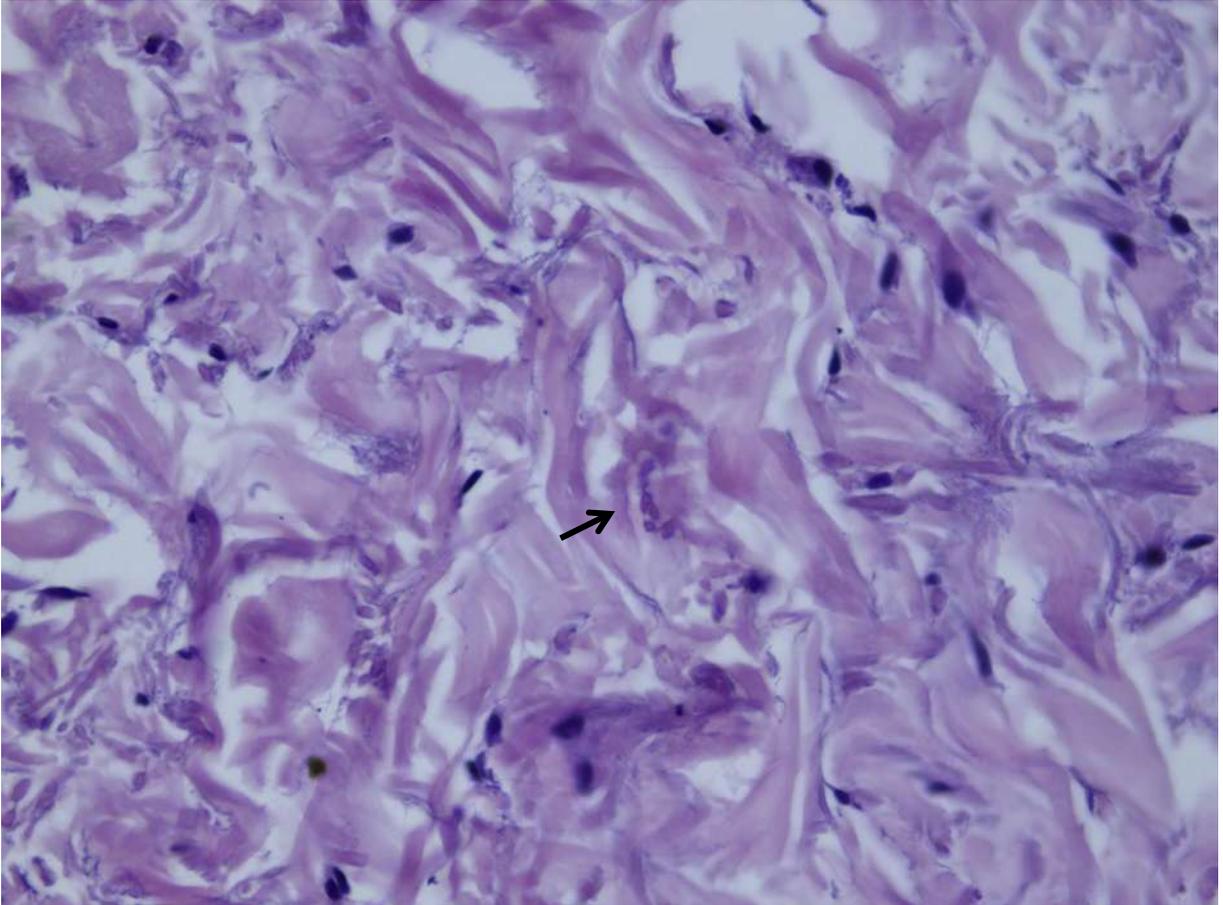


Figura 17: Microscopia Óptica. Outro campo da derme média com identificação das estruturas ovais, aqui formando um “colar de pérolas” (HEx200).

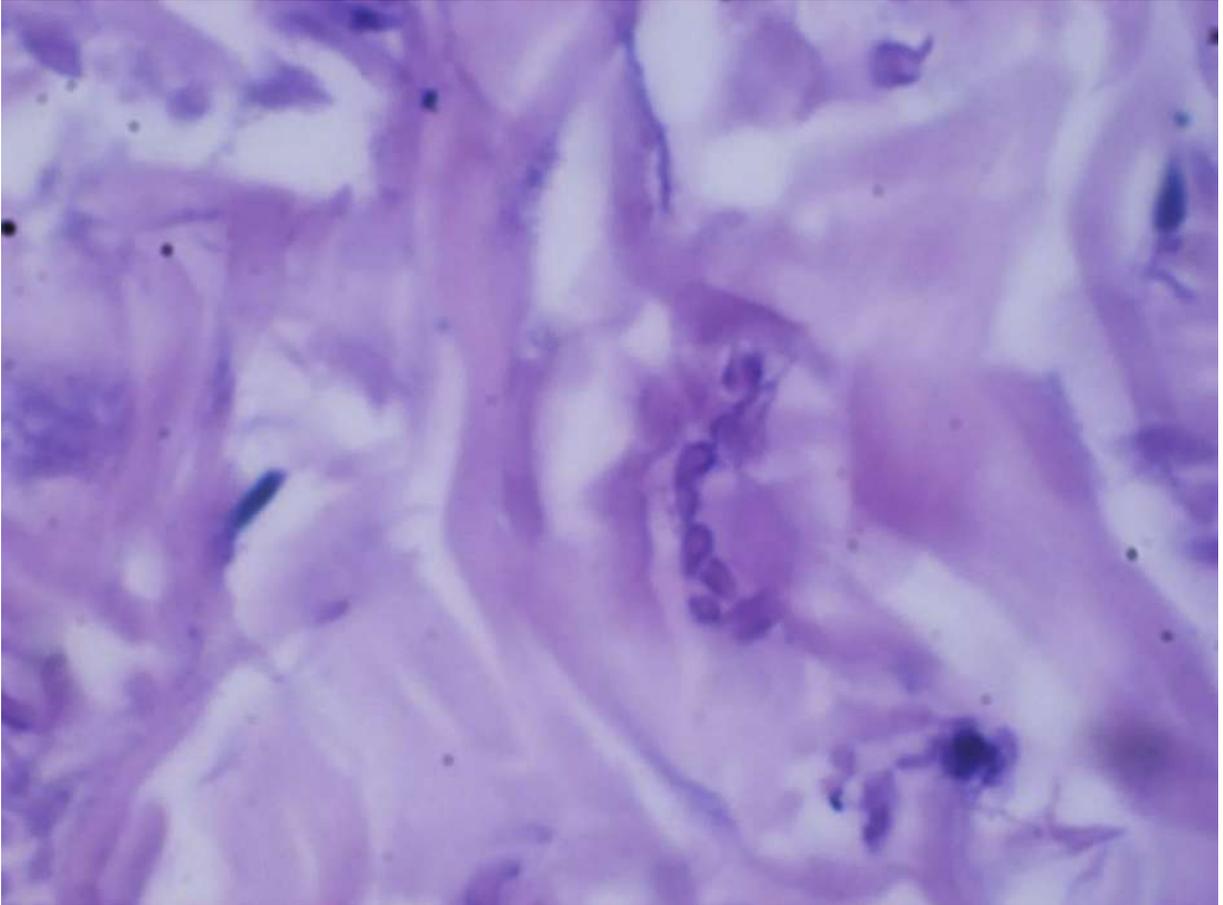


Figura 18: Microscopia Óptica. Detalhe em grande aumento da figura anterior (HE x400).

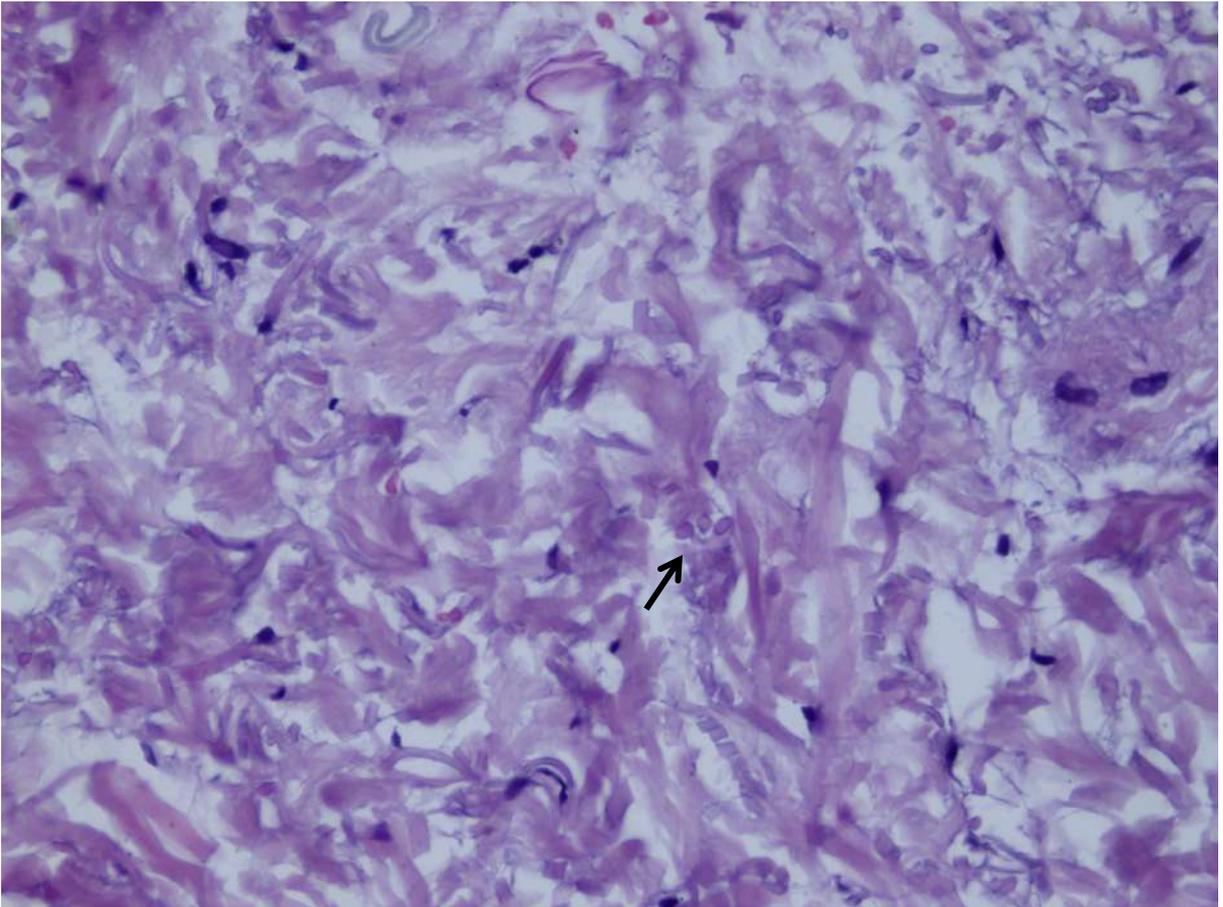


Figura 19: Microscopia Óptica. Outro campo da derme média com identificação das estruturas ovais (HEx200).

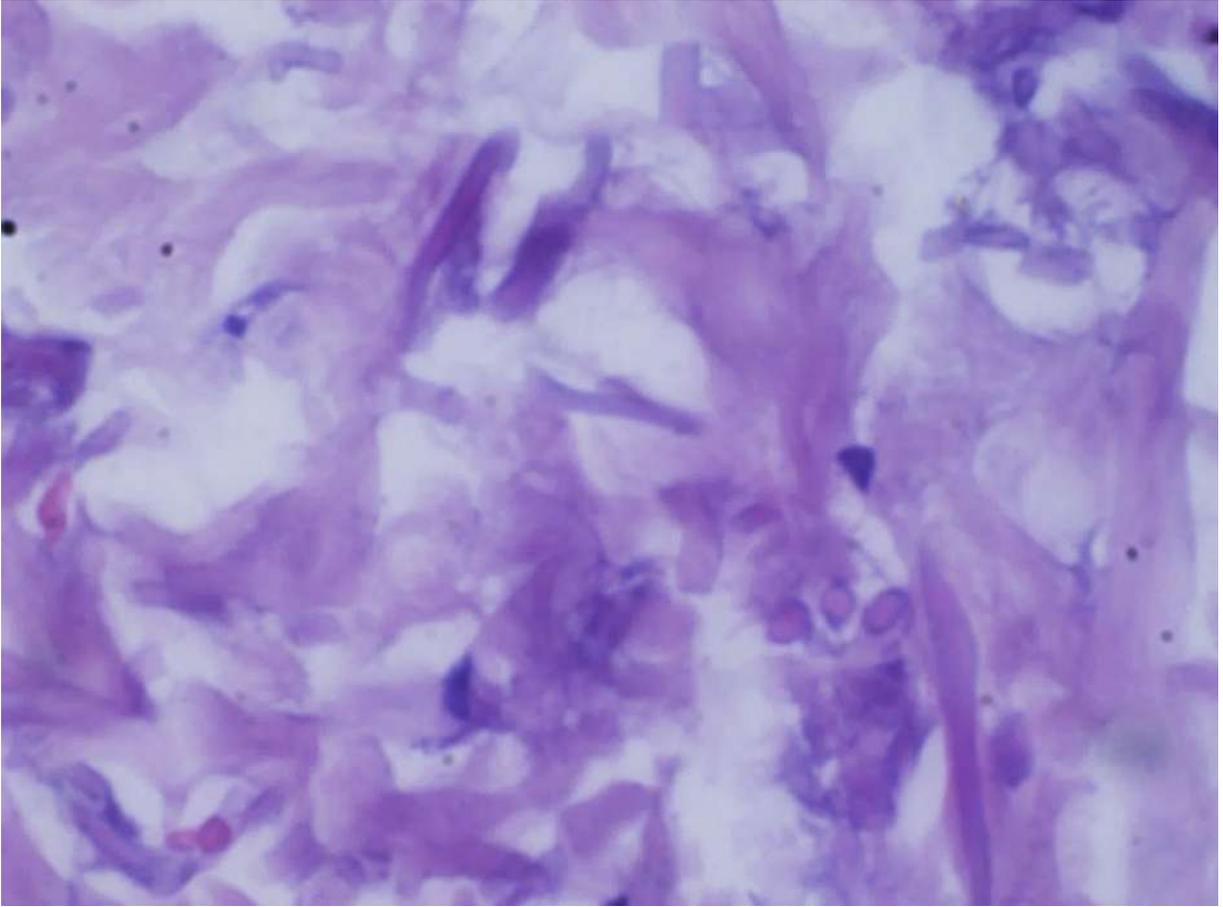


Figura 20: Microscopia Óptica. Detalhe em grande aumento da figura anterior (HE x400).

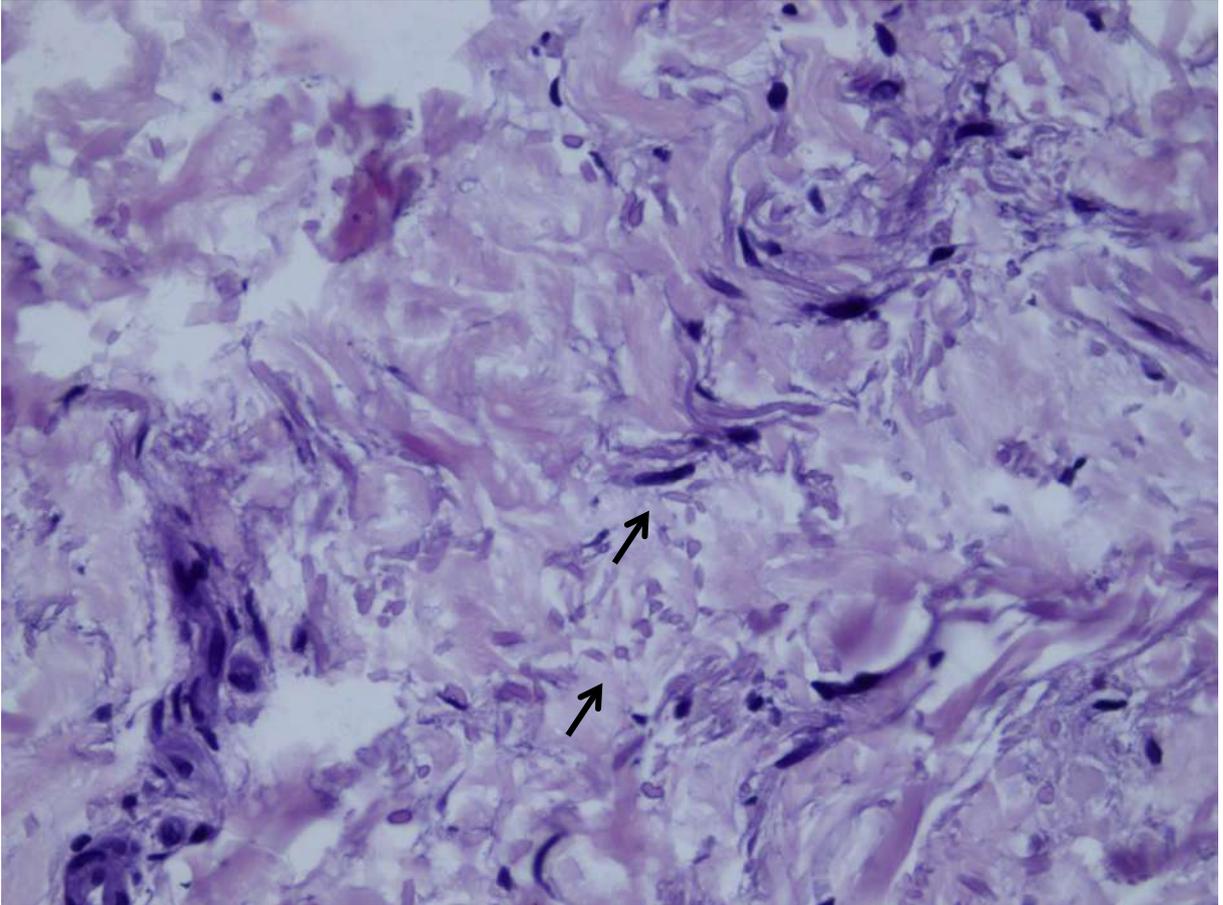


Figura 21: Microscopia Óptica. Outro campo com estruturas depositadas ovais (HE x200).

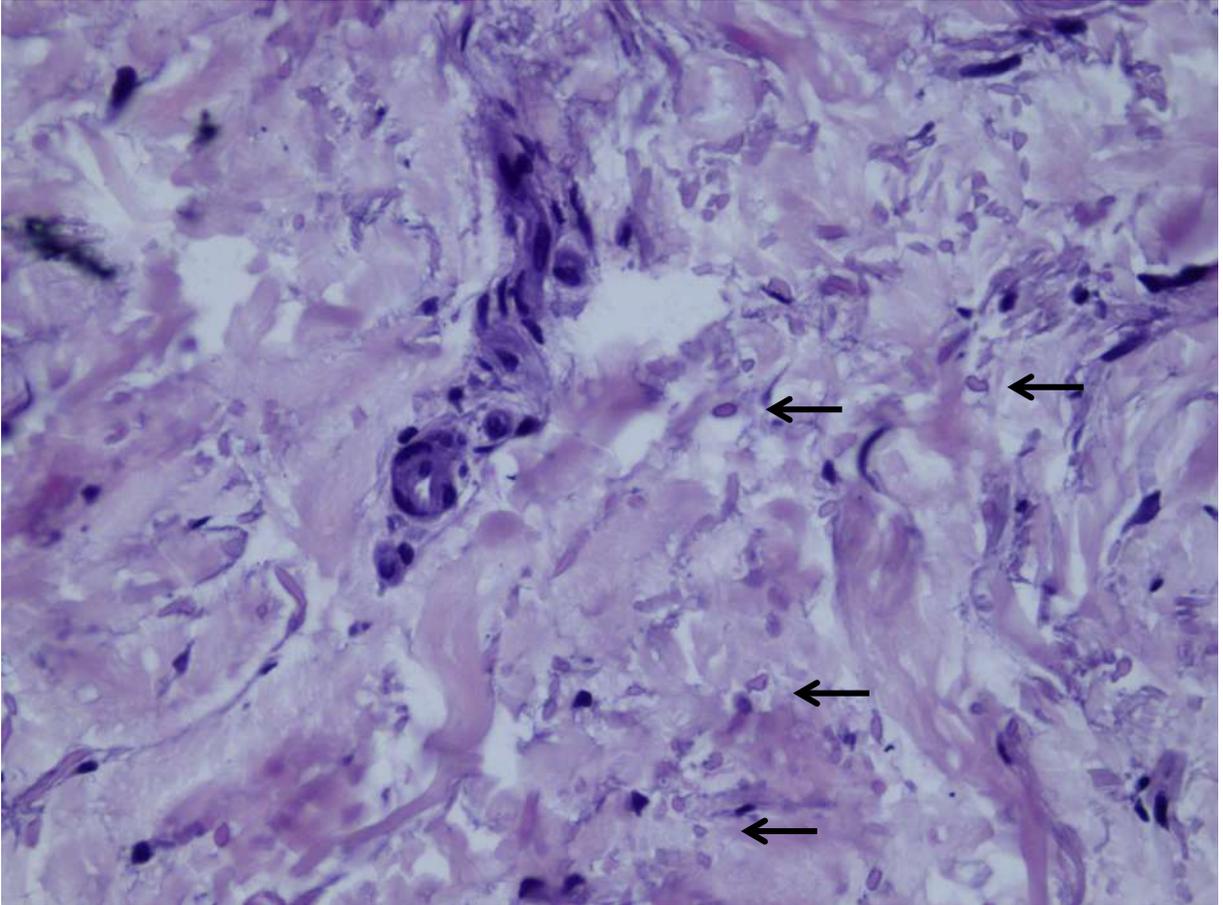


Figura 22: Microscopia Óptica. Outro campo – abaixo do anterior - com estruturas depositadas ovais (HE x200).

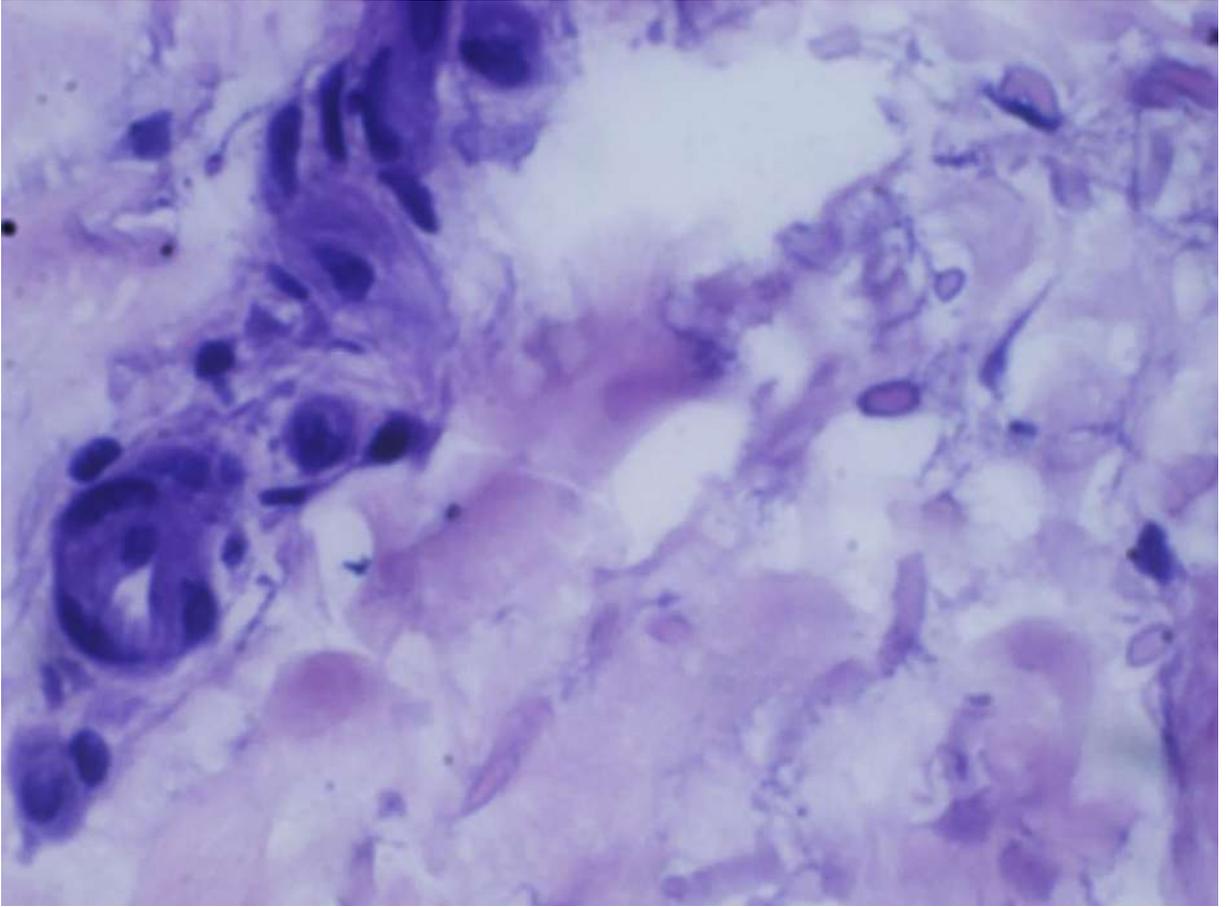


Figura 23: Microscopia Óptica. Detalhe em grande aumento de estrutura oval da figura anterior (HE x400).

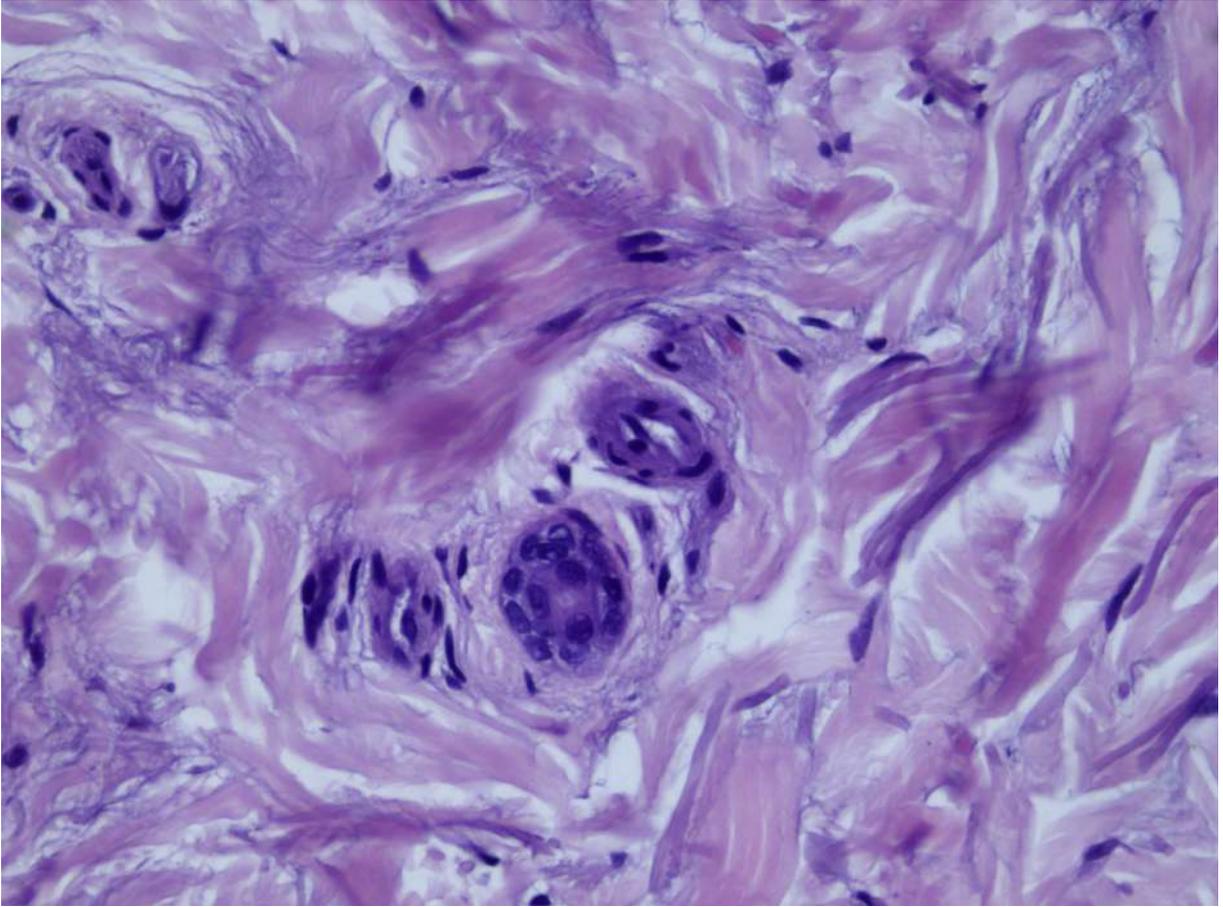


Figura 24: Microscopia Óptica. Glândula sudorípara normal (HE x200).

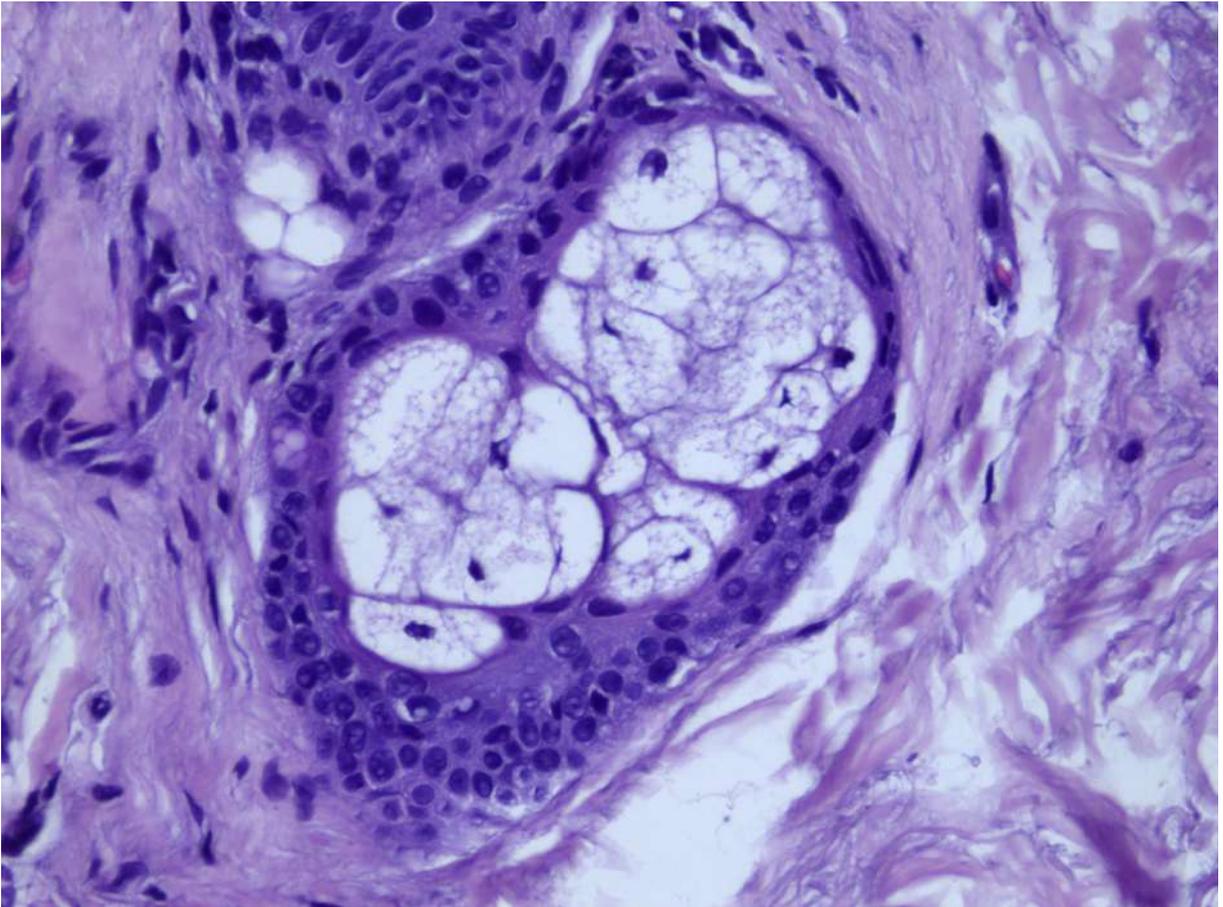


Figura 25: Microscopia Óptica. Glândula sebácea normal (HE x200).

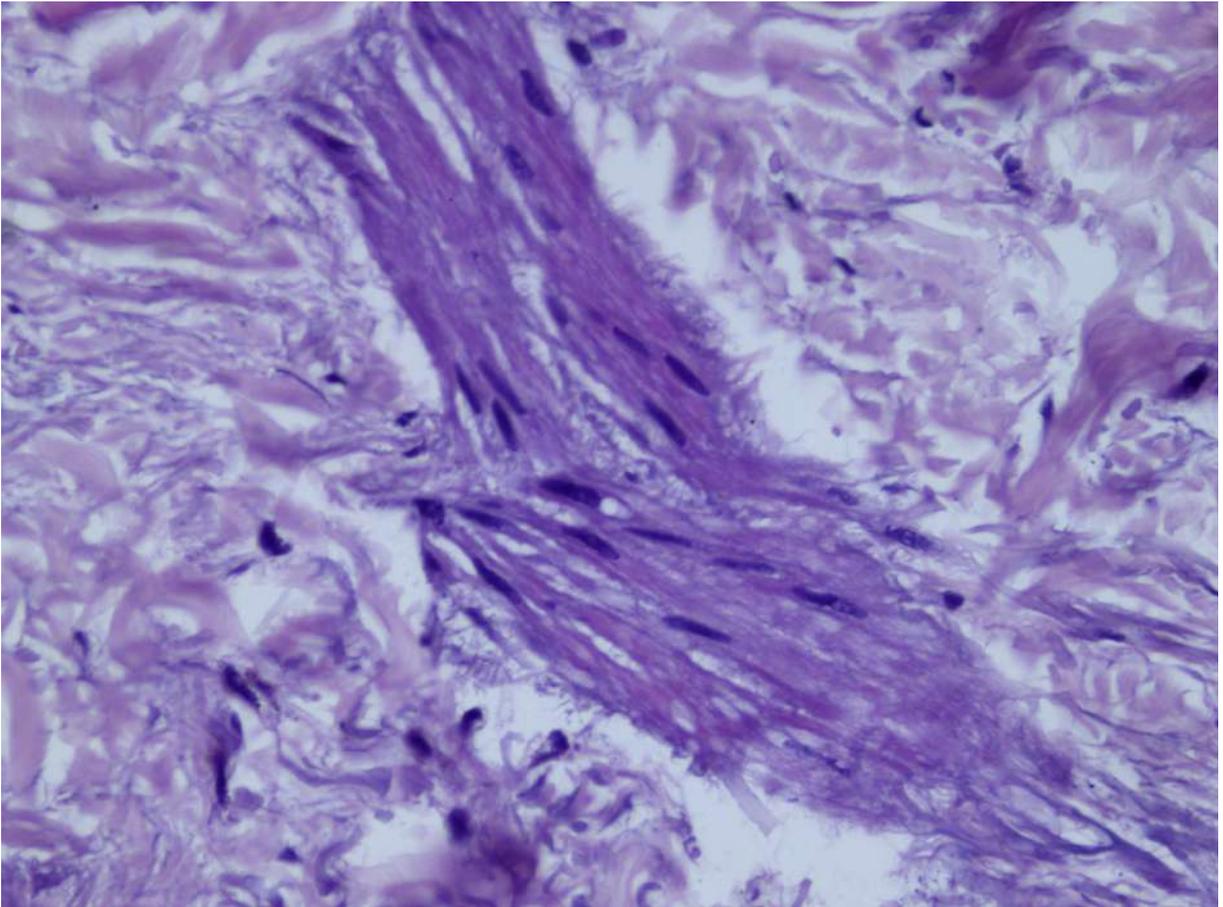


Figura 26: Microscopia Óptica. Músculo eretor do pelo normal (HE x200).

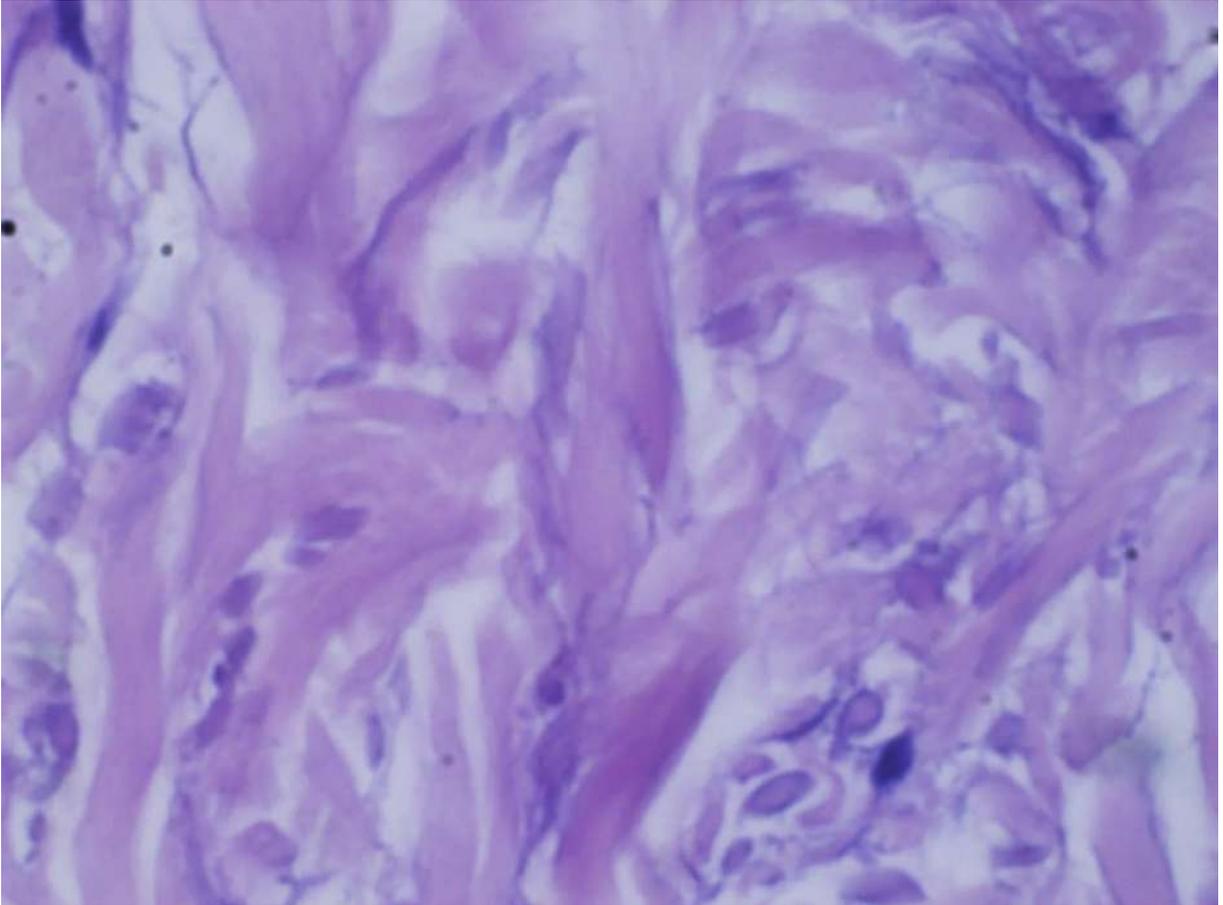


Figura 27: Microscopia Óptica. Grande aumento documentando as estruturas ovais (x400).

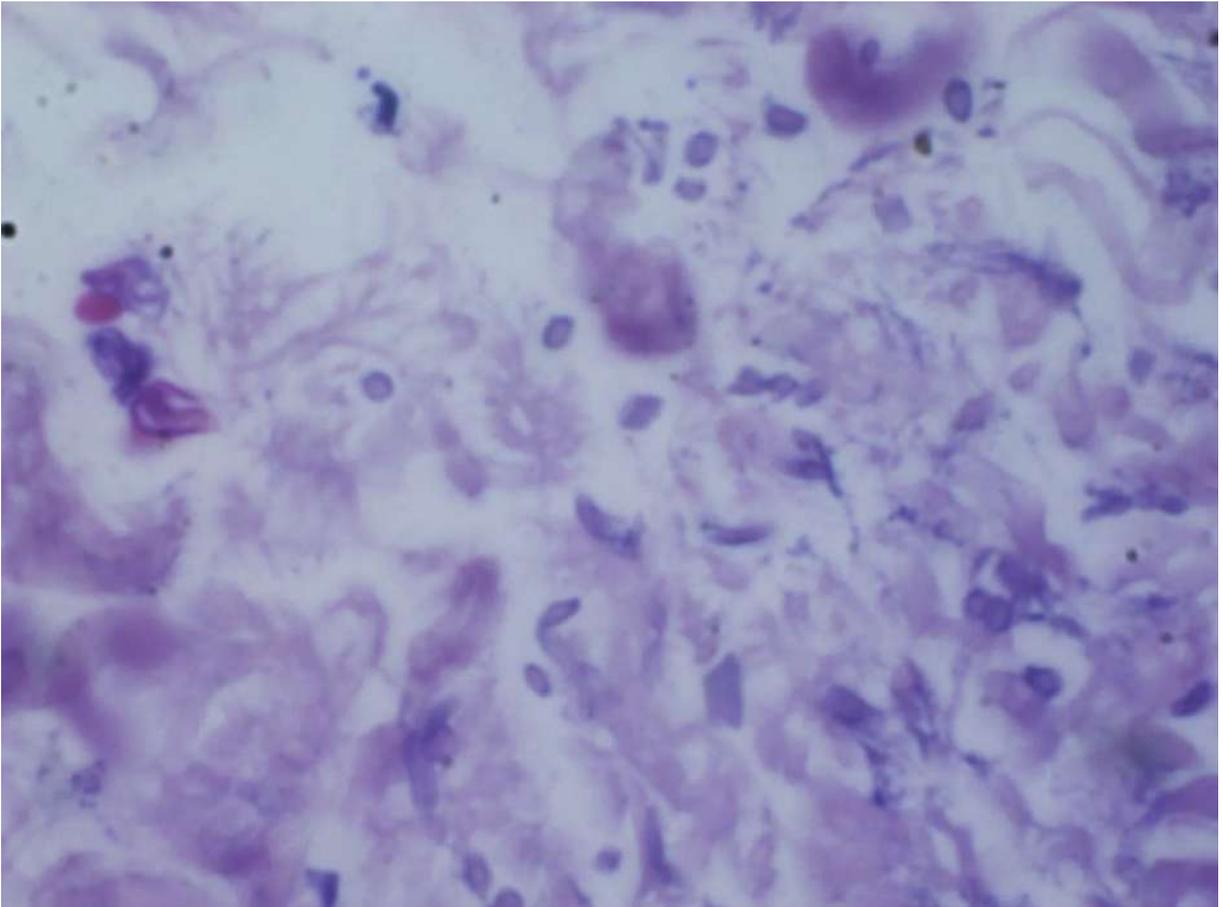


Figura 28: Microscopia Óptica. Grande aumento documentando as estruturas ovais (x400).

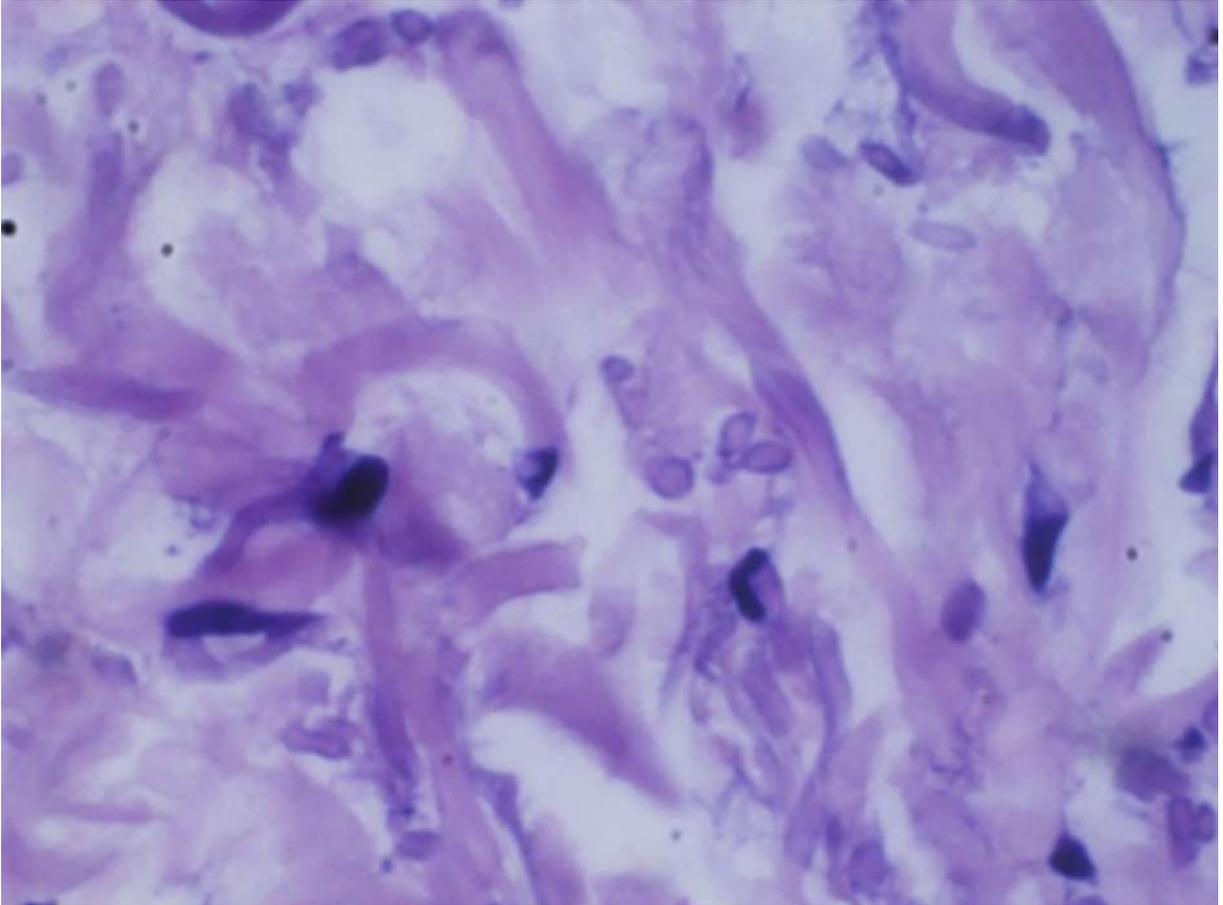


Figura 29: Microscopia Óptica. Grande aumento documentando as estruturas ovais (x400).

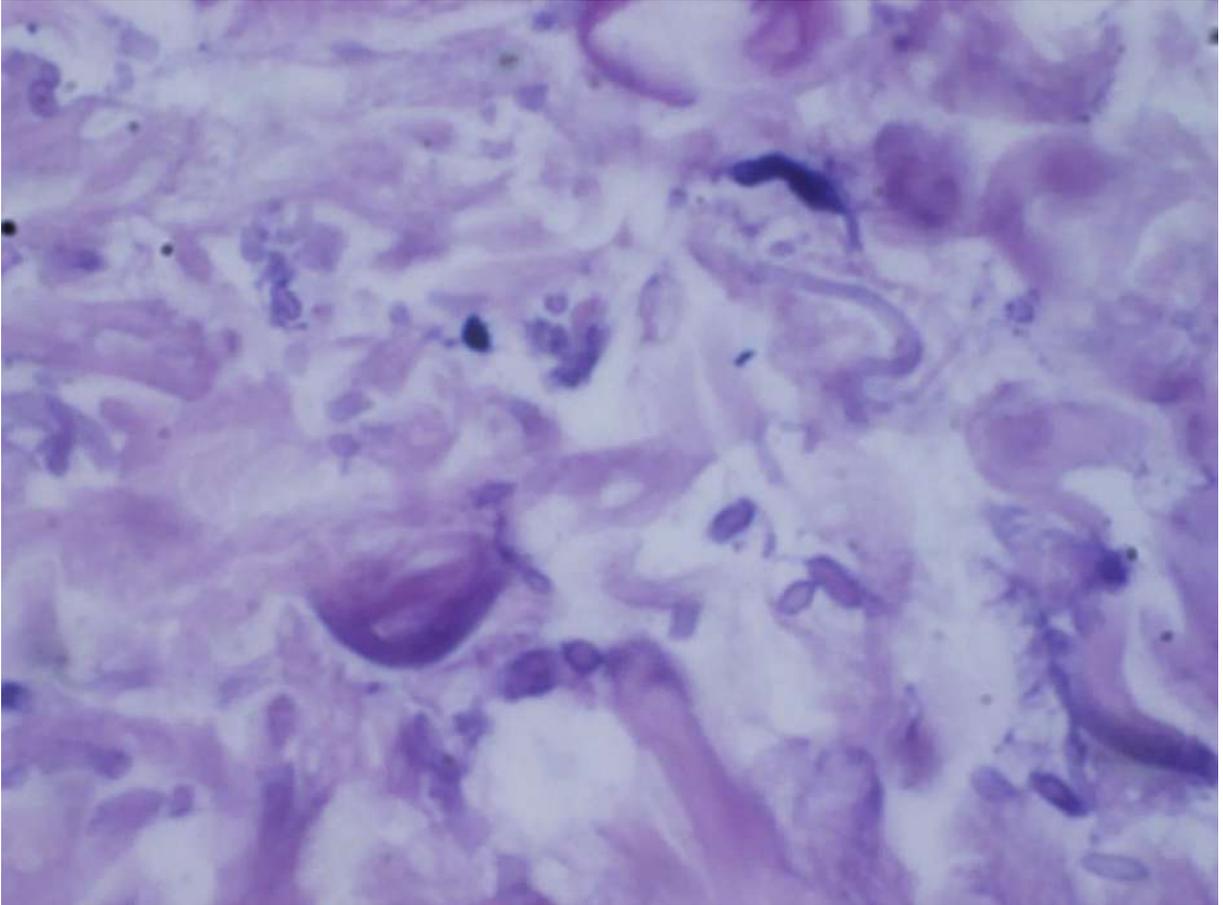


Figura 30: Microscopia Óptica. Grande aumento documentando as estruturas ovais (x400).

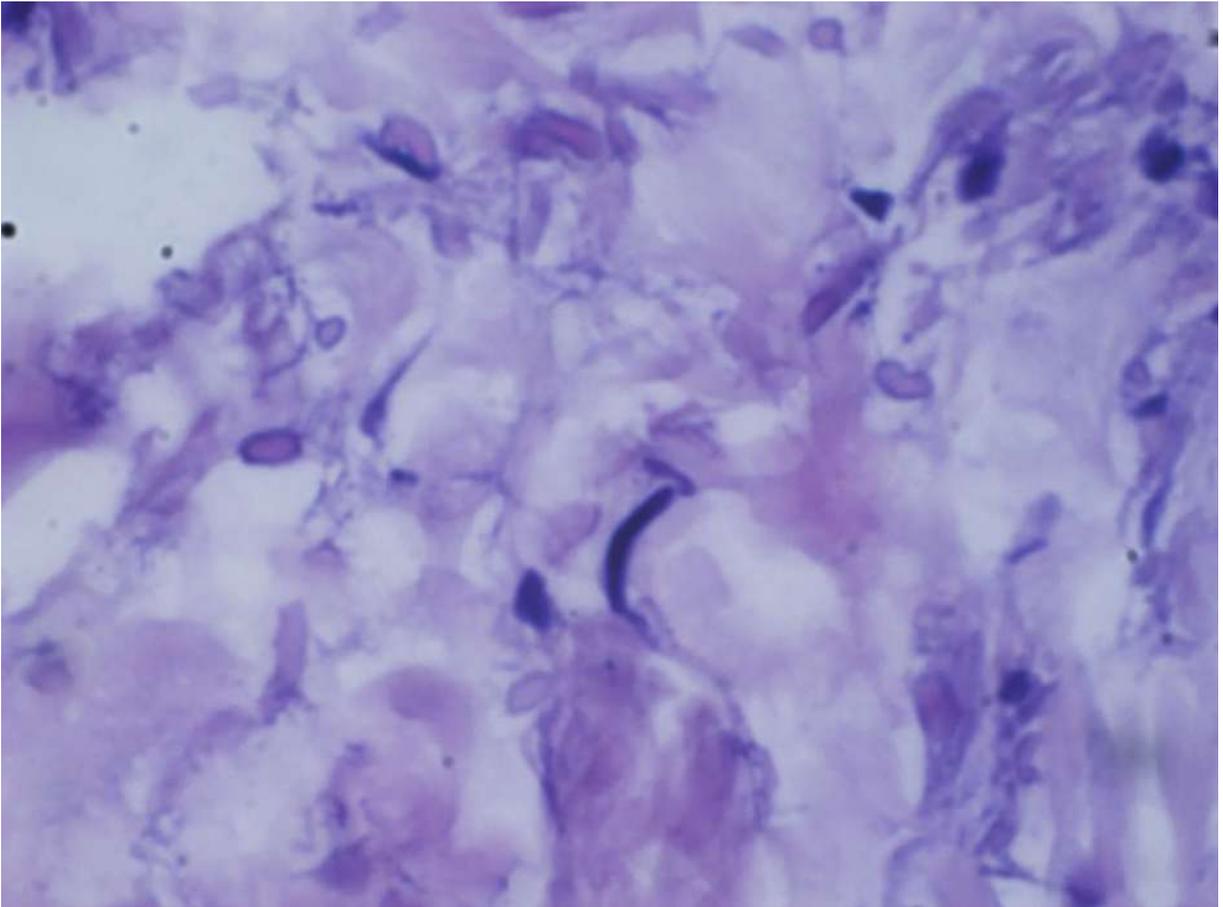


Figura 31: Microscopia Óptica. Grande aumento documentando as estruturas ovais (x400).

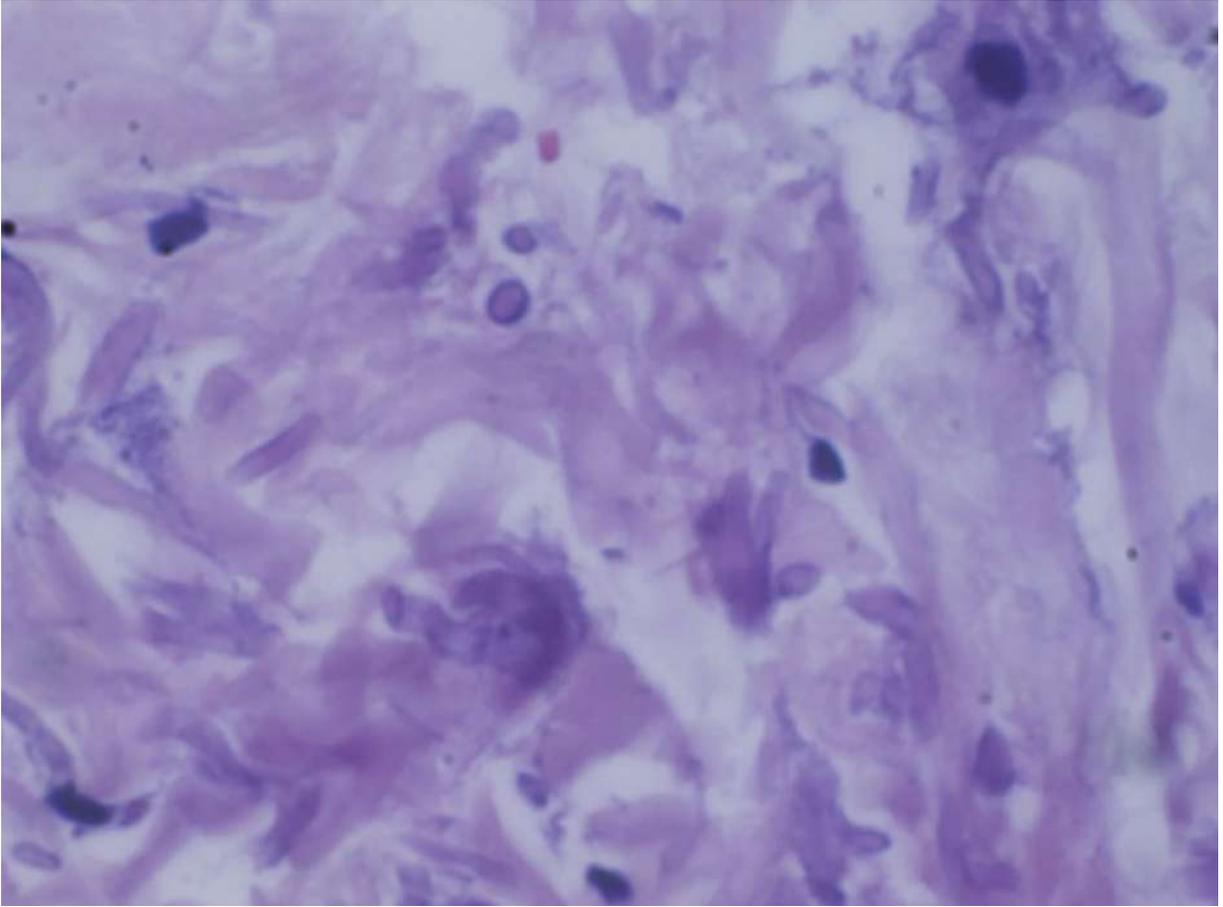


Figura 32: Microscopia Óptica. Grande aumento documentando as estruturas ovais (x400).

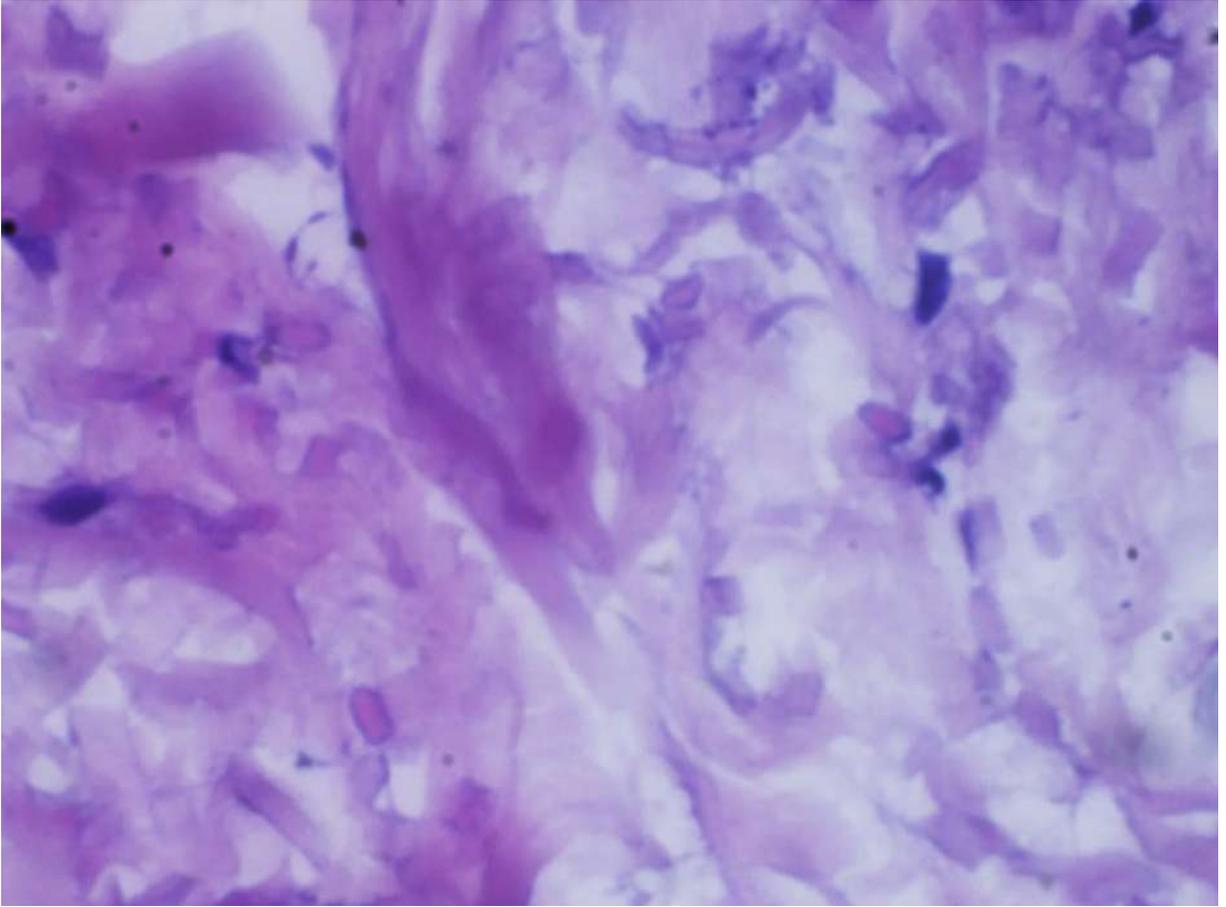


Figura 33: Microscopia Óptica. Grande aumento documentando as estruturas ovais (x400).

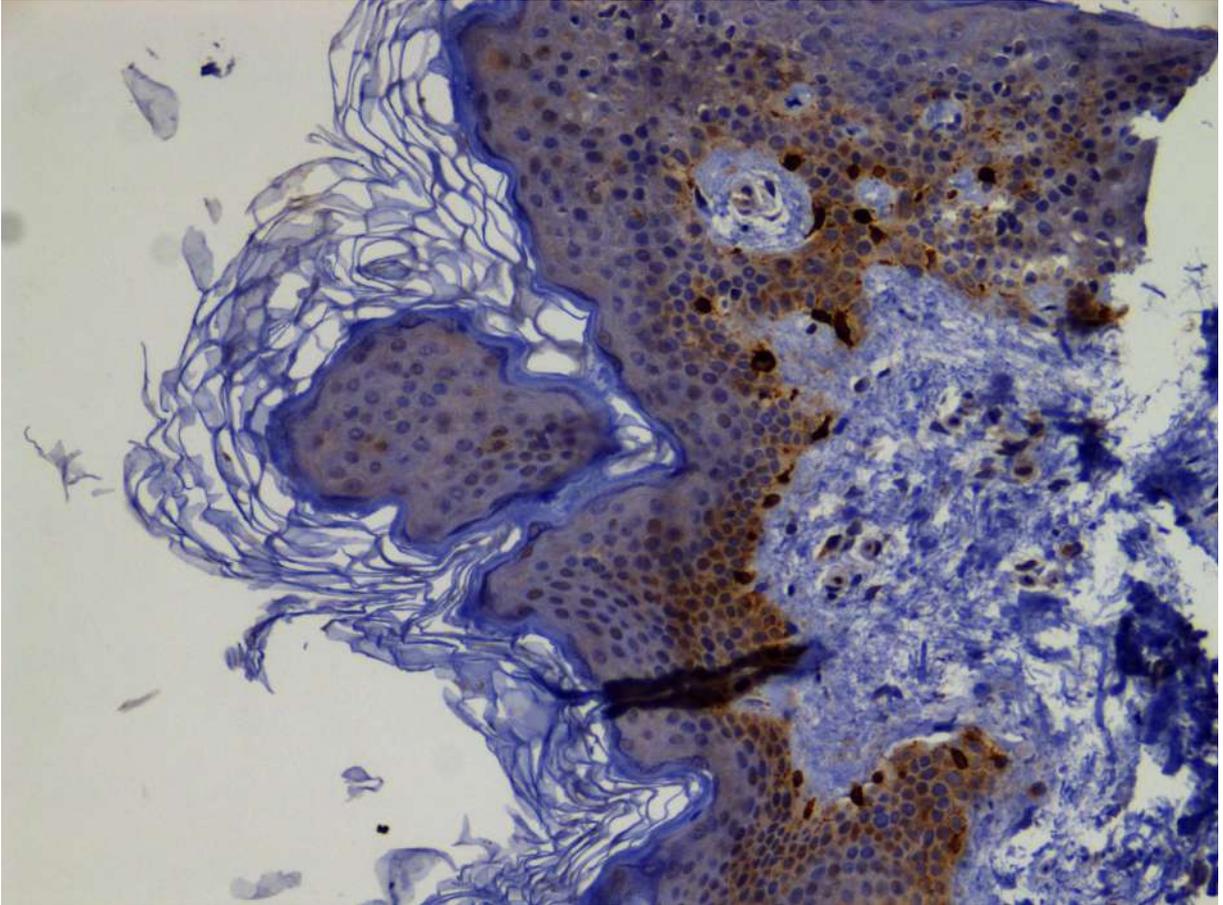


Figura 34: Microscopia Óptica. Imunohistoquímica com detalhe para melanina na camada basal da epiderme, com anticorpo Melan-A (x200).

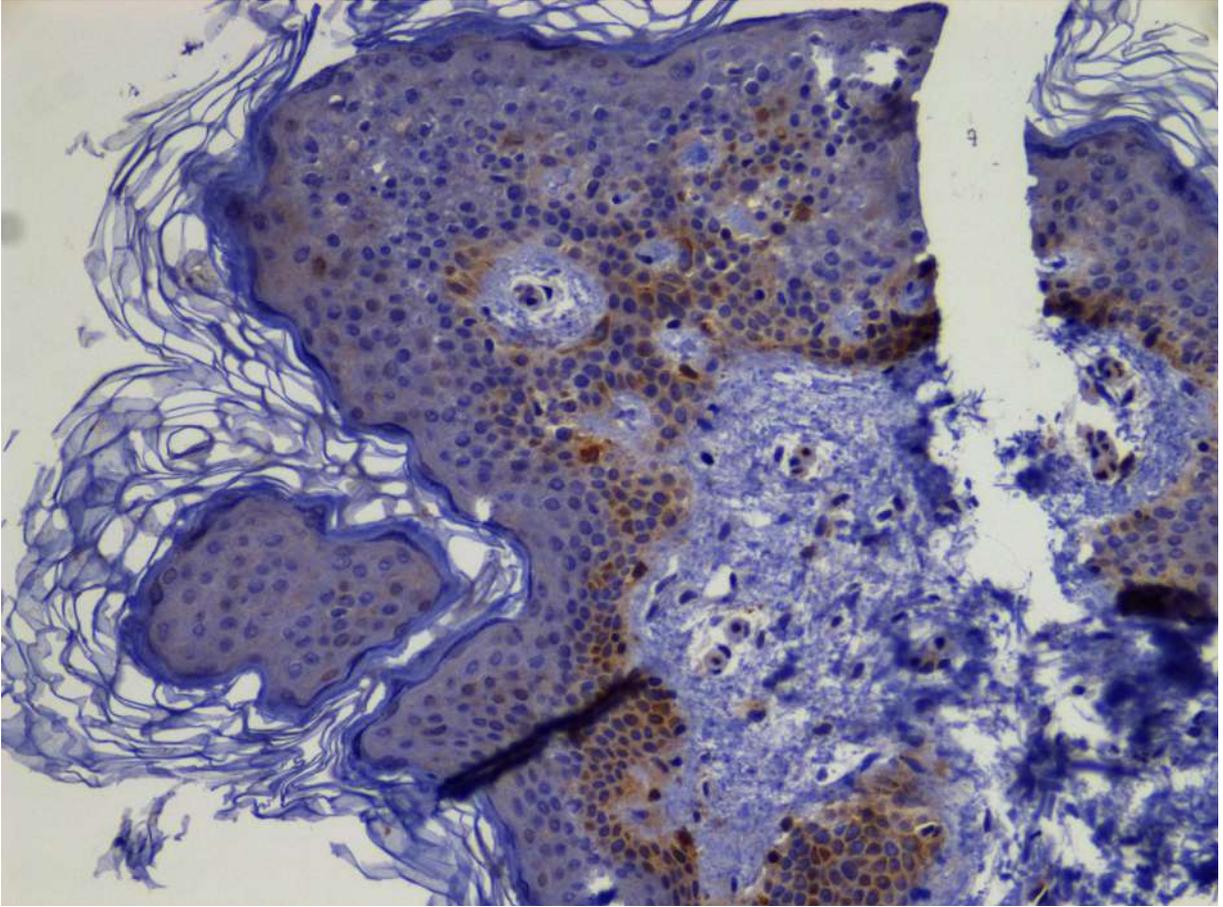


Figura 35: Microscopia Óptica. Imunohistoquímica com detalhe para melanina na camada basal da epiderme com anticorpo HMB-45 (x200).

a. Microscopia Eletrônica de Transmissão

Os cortes ultrafinos para a MET foram direcionados à derme média baseado nos achados da microscopia óptica.

Foram encontradas estruturas, a maior parte delas ovóides, geralmente agrupadas, de superfície irregular e aspecto interno com pontos elétron-densos, que correspondem às estruturas pequenas ovais vistas na derme com a técnica de MO, principalmente vistas em grande aumento.

Não há qualquer outra alteração estrutural visível das estruturas da derme.

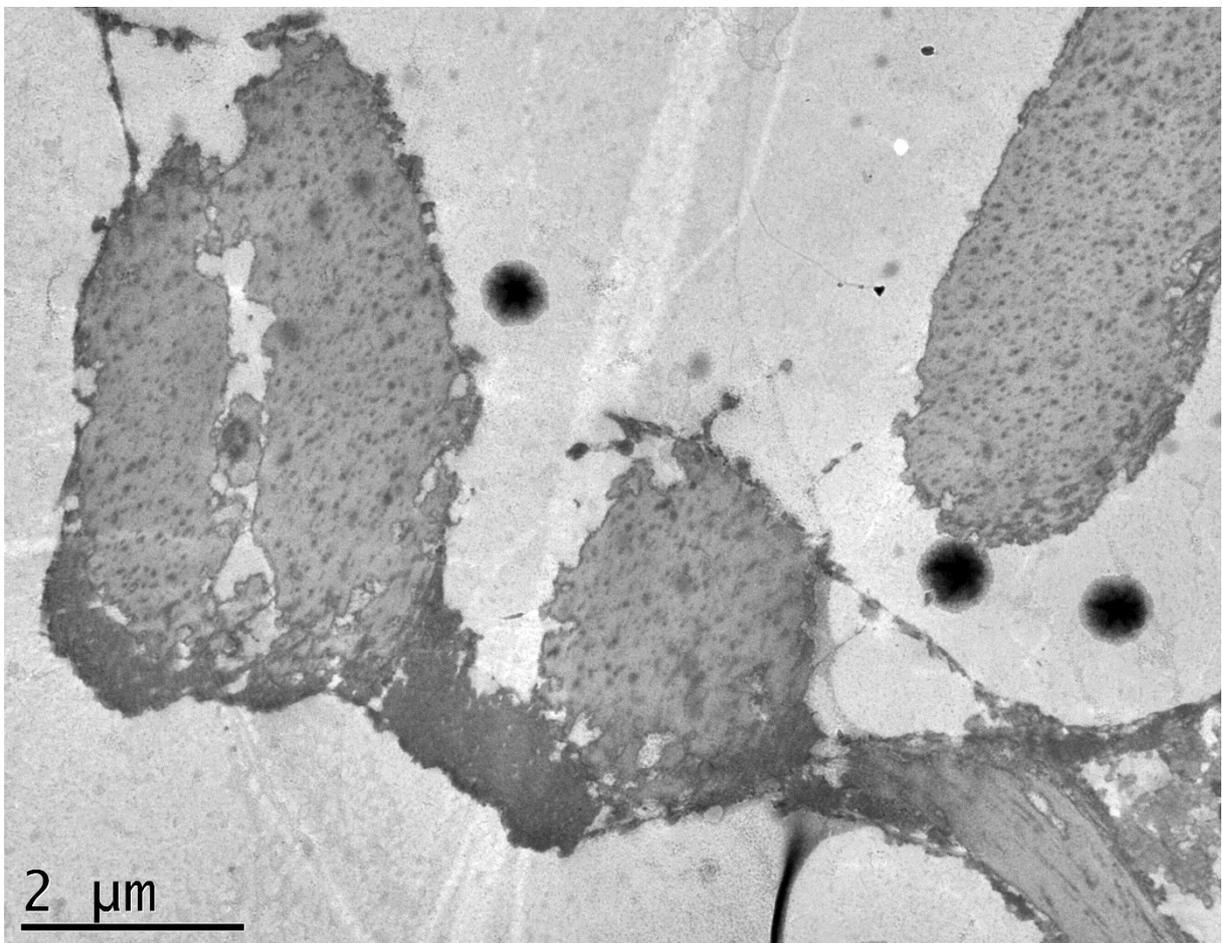


Figura 36: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Estruturas ovais com pontos elétron-densos no interior (15.000x).

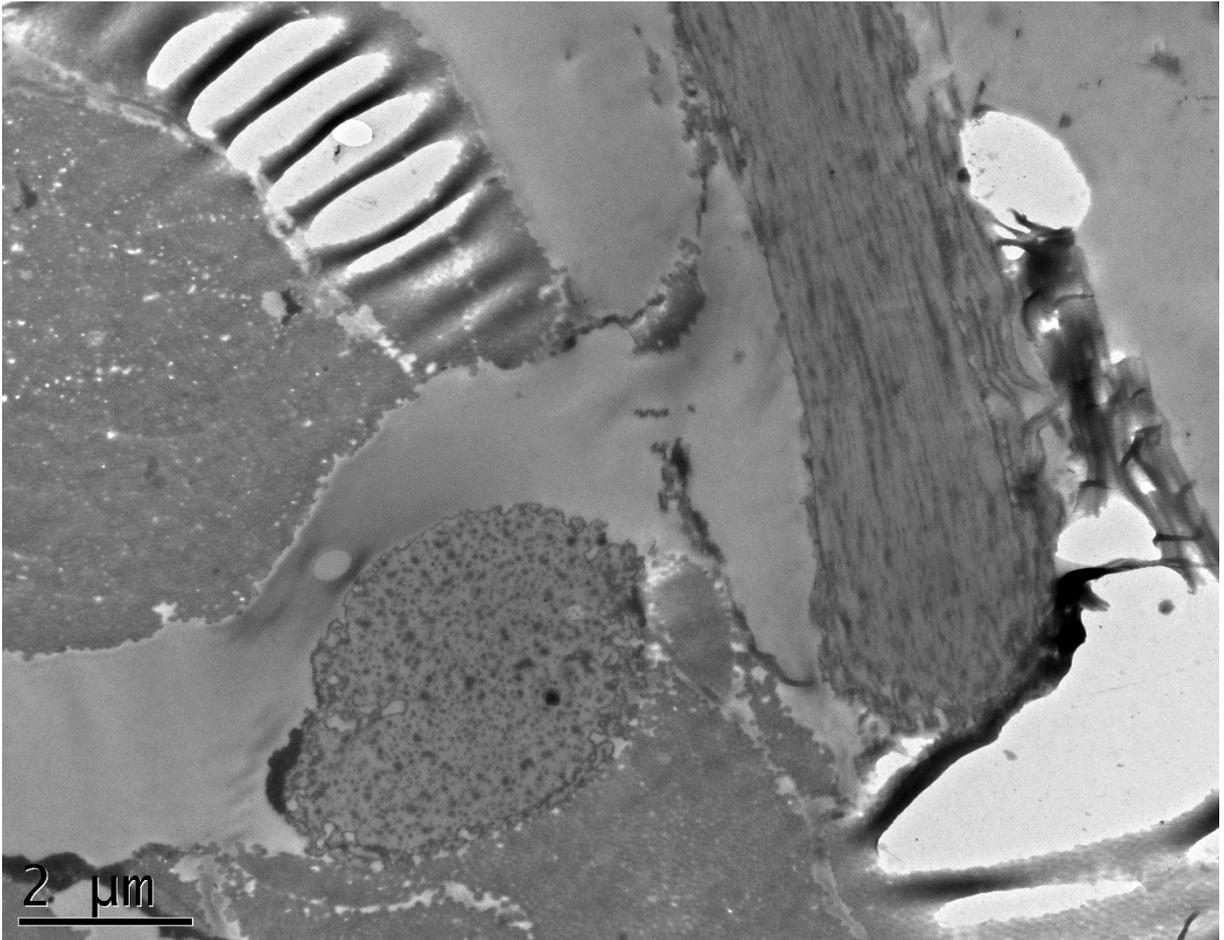


Figura 37: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Uma estrutura oval com pontos elétron-densos no interior, com fibra elástica normal à direita (15.000x).

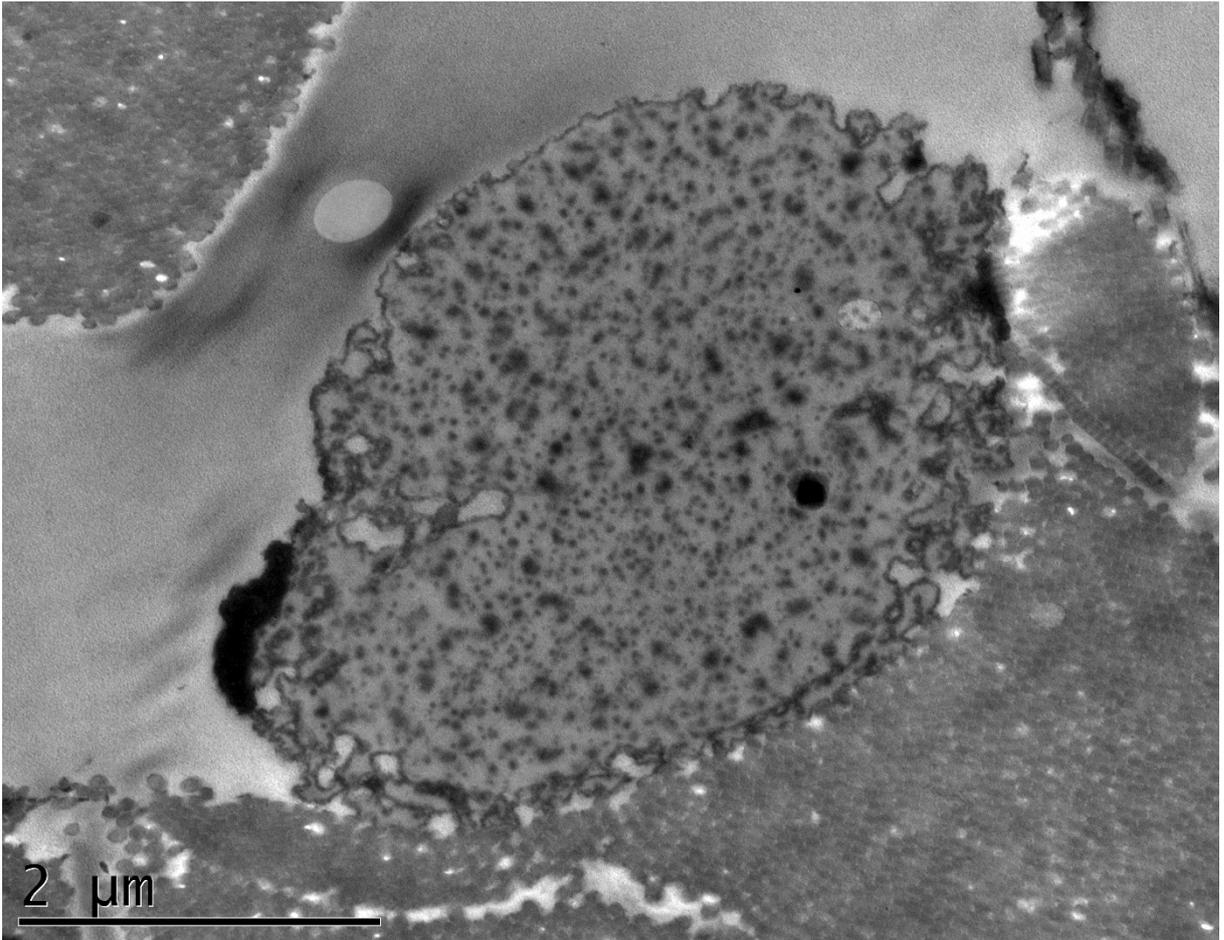


Figura 38: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Detalhe de uma dessas estruturas, com inúmeros pontos elétron-densos no interior e feixe colágeno normal à direita (25.000x).

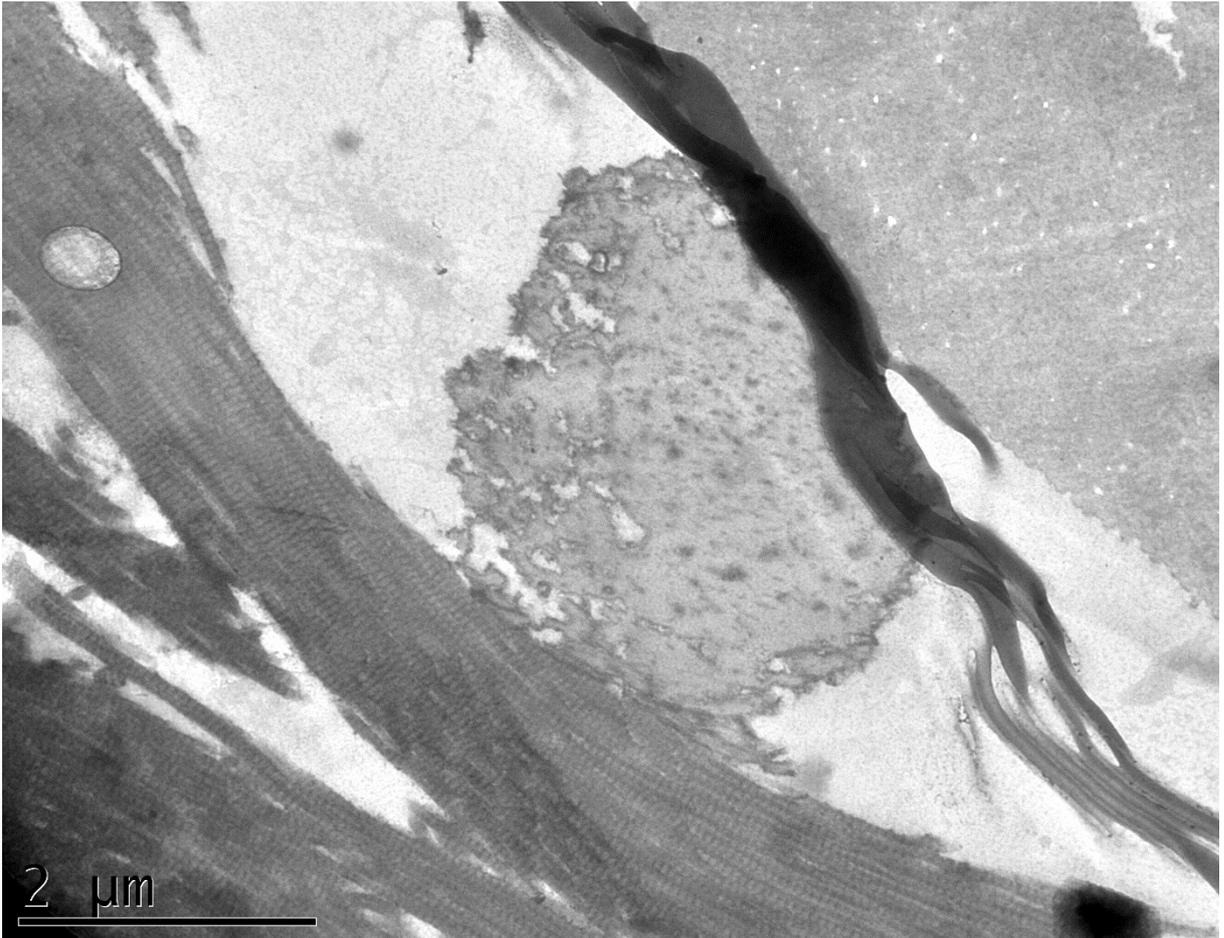


Figura 39: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Detalhe de uma dessas estruturas, e feixe colágeno normal à esquerda (20.000x)

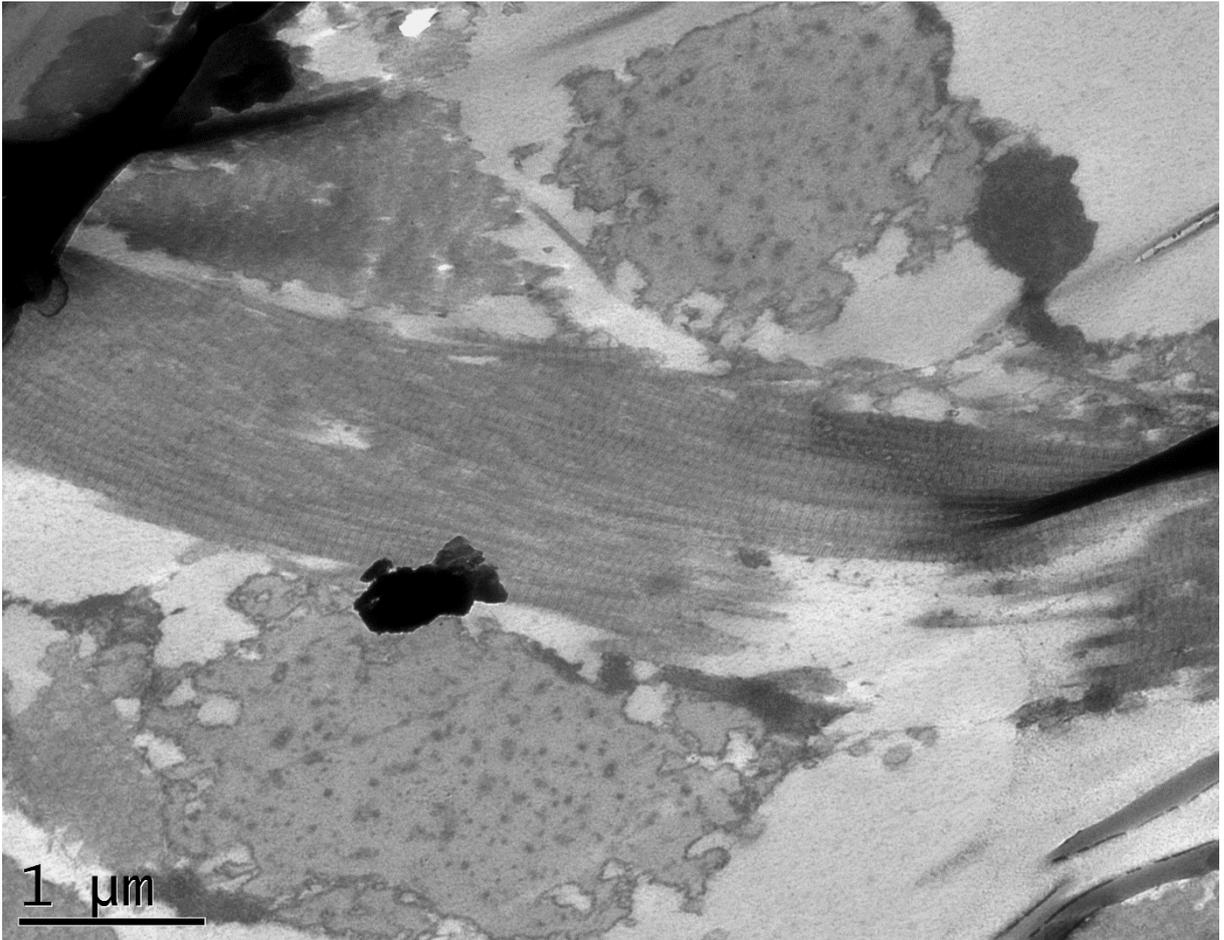


Figura 40: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Duas estruturas com mesmo aspecto (25.000x).

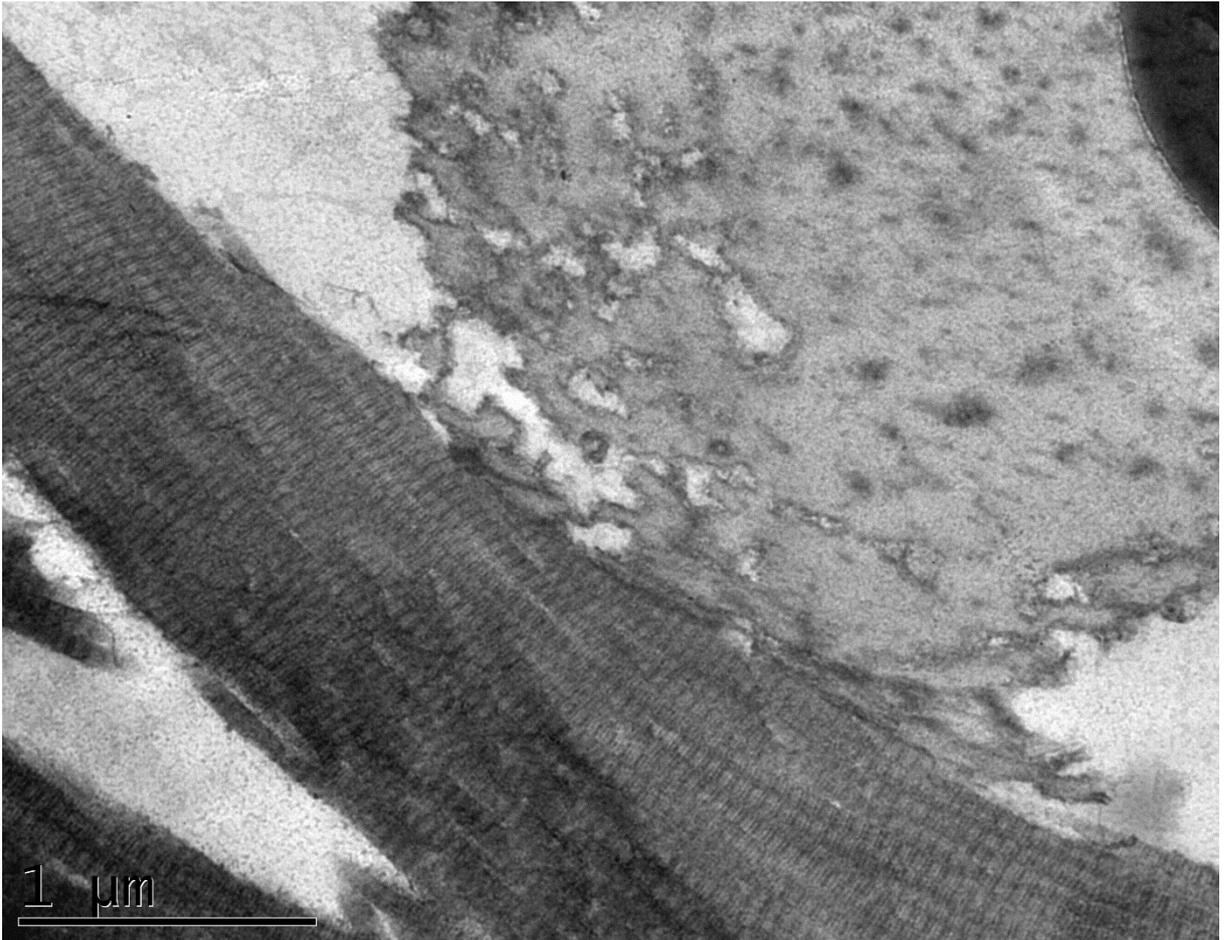


Figura 41: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Grande aumento com colágeno de periodicidade normal à esquerda e detalhe da superfície de um depósito (40.000x).

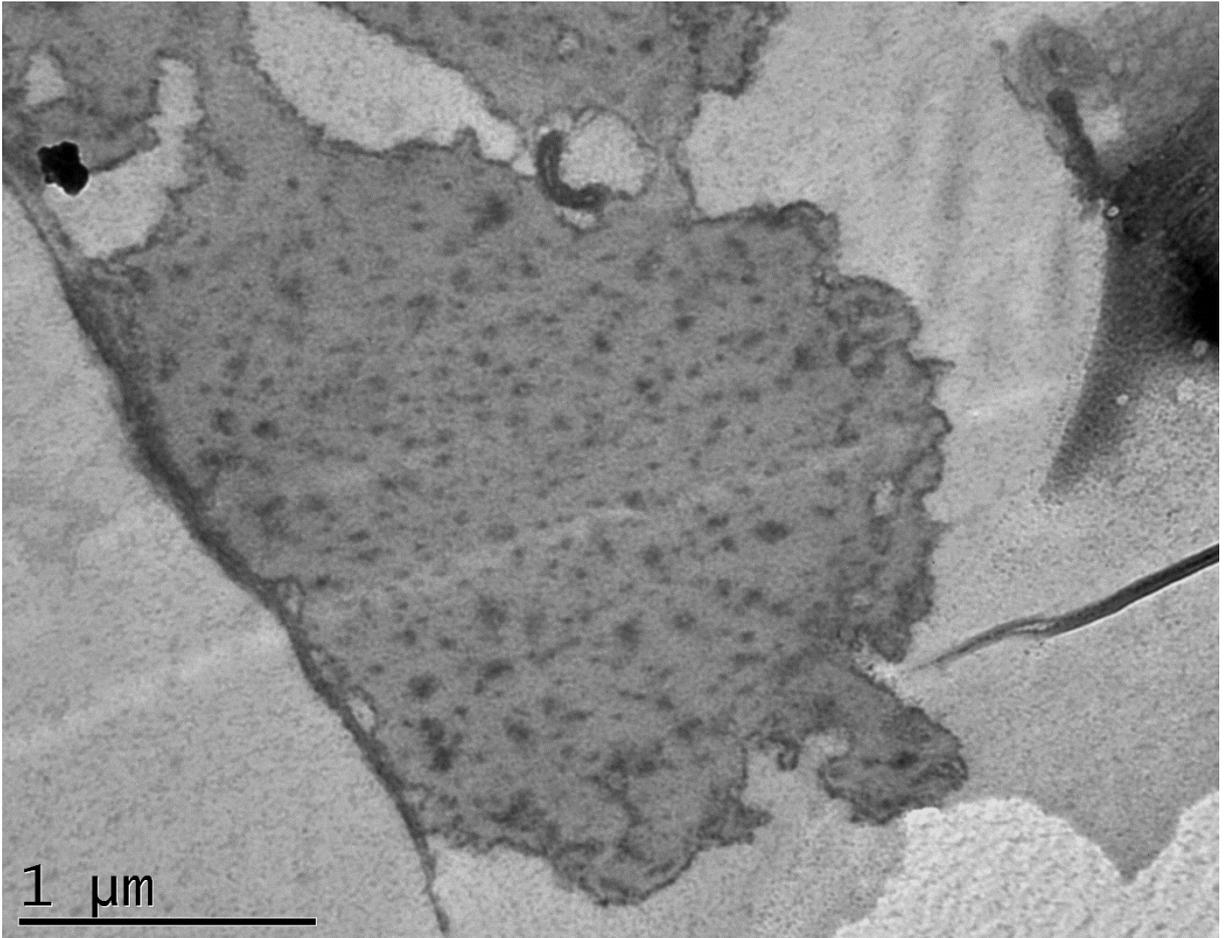


Figura 42: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Detalhe de um depósito (40.000x).

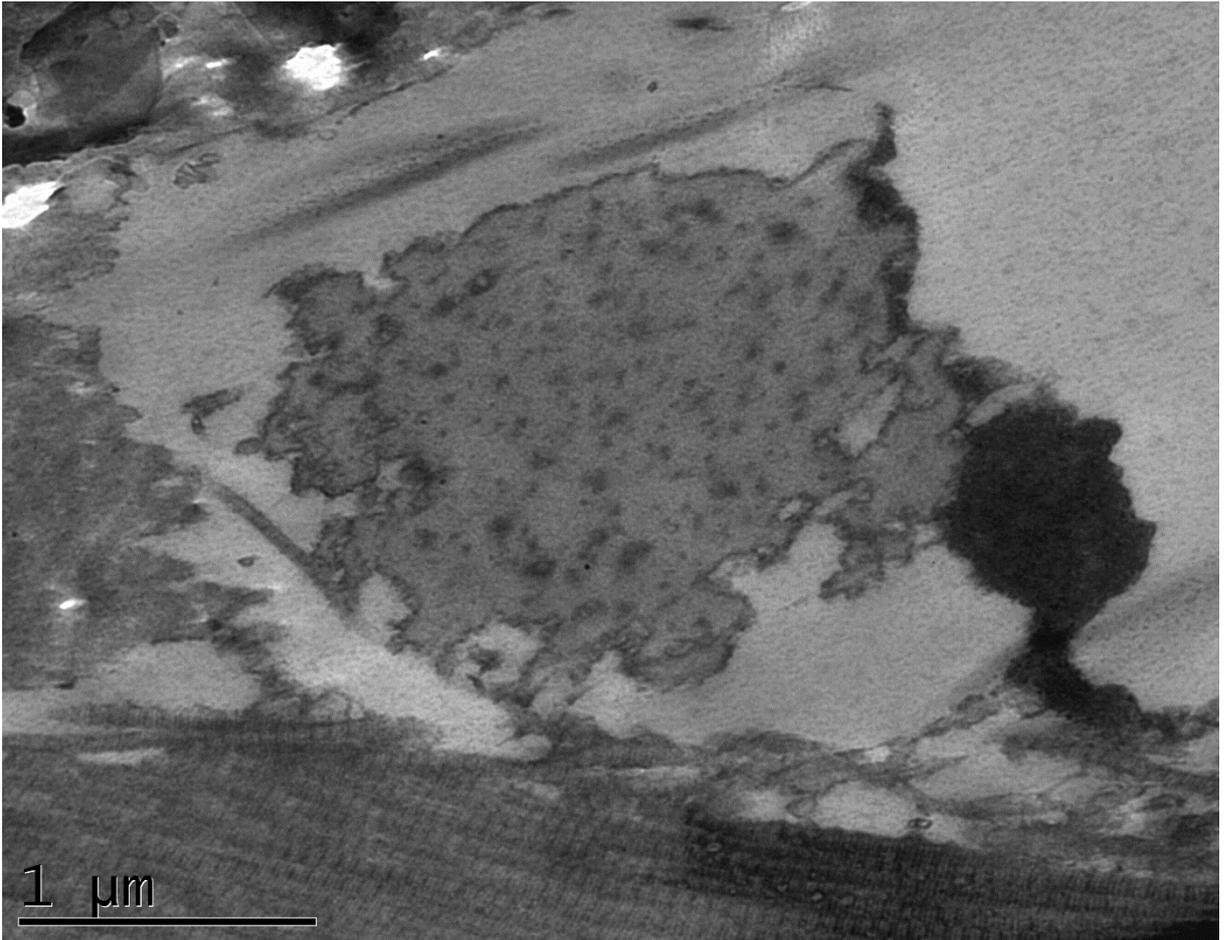


Figura 43: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Detalhe de um depósito com superfície irregular (40.000x).

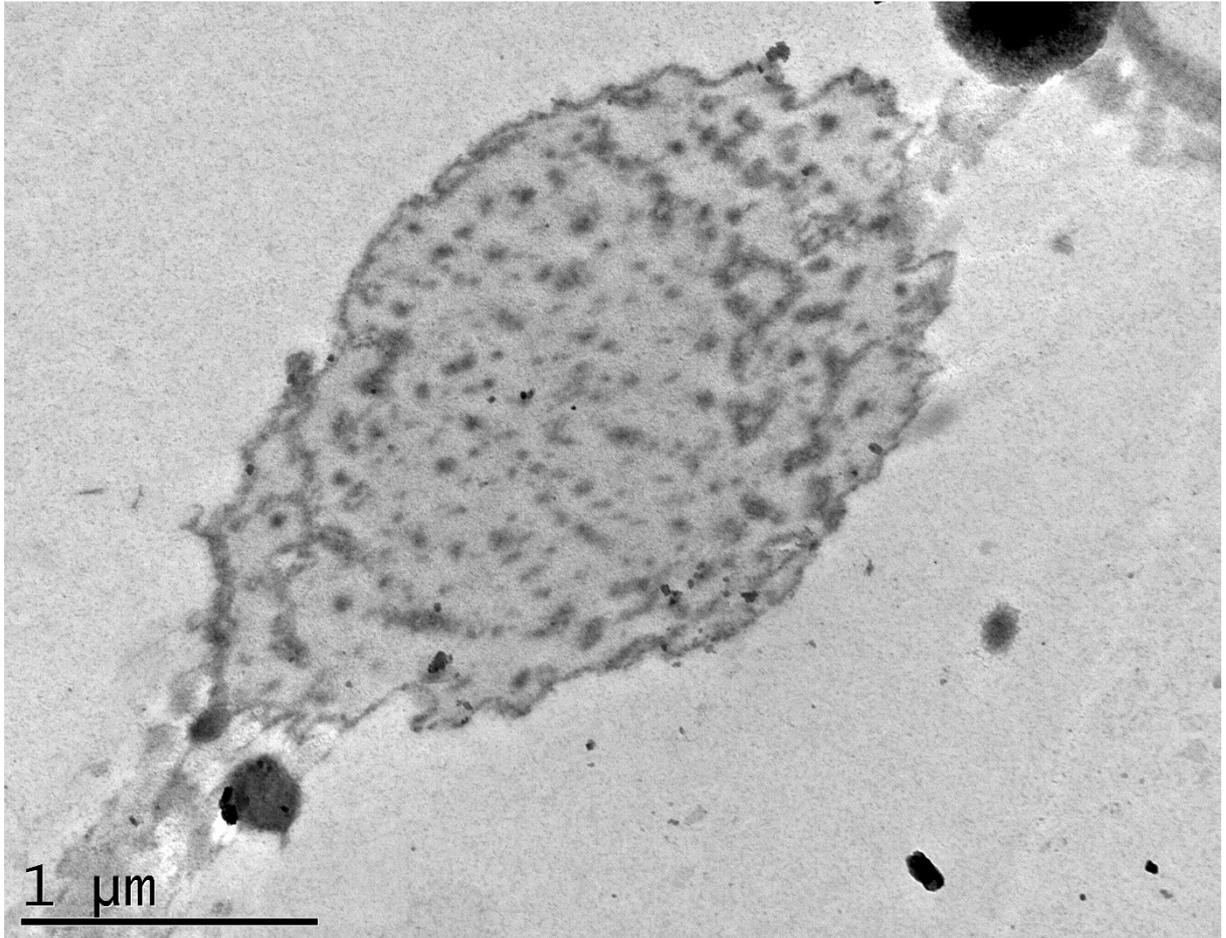


Figura 44: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Detalhe de depósito bem oval (40.000x).

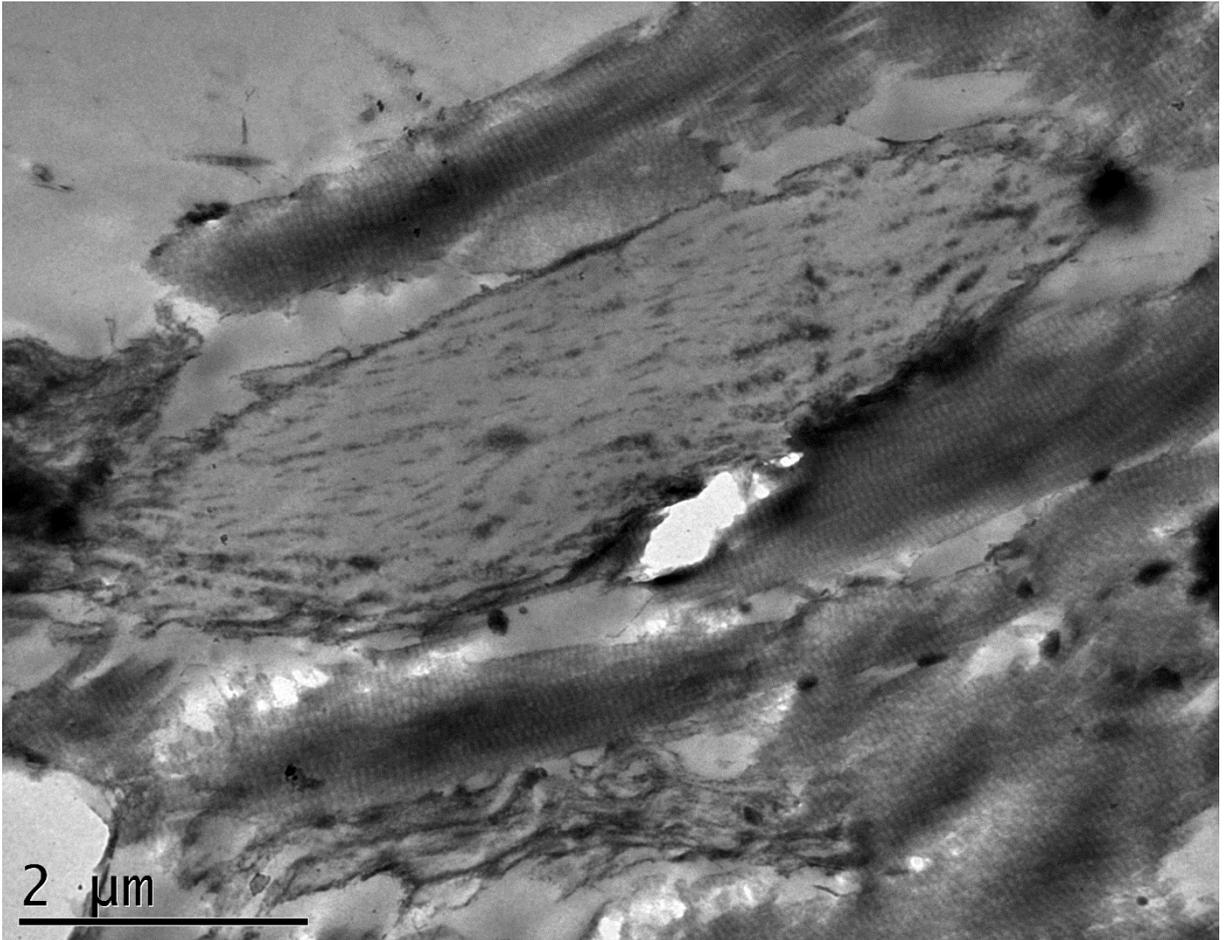


Figura 45: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Fibra elástica normal (25.000x).

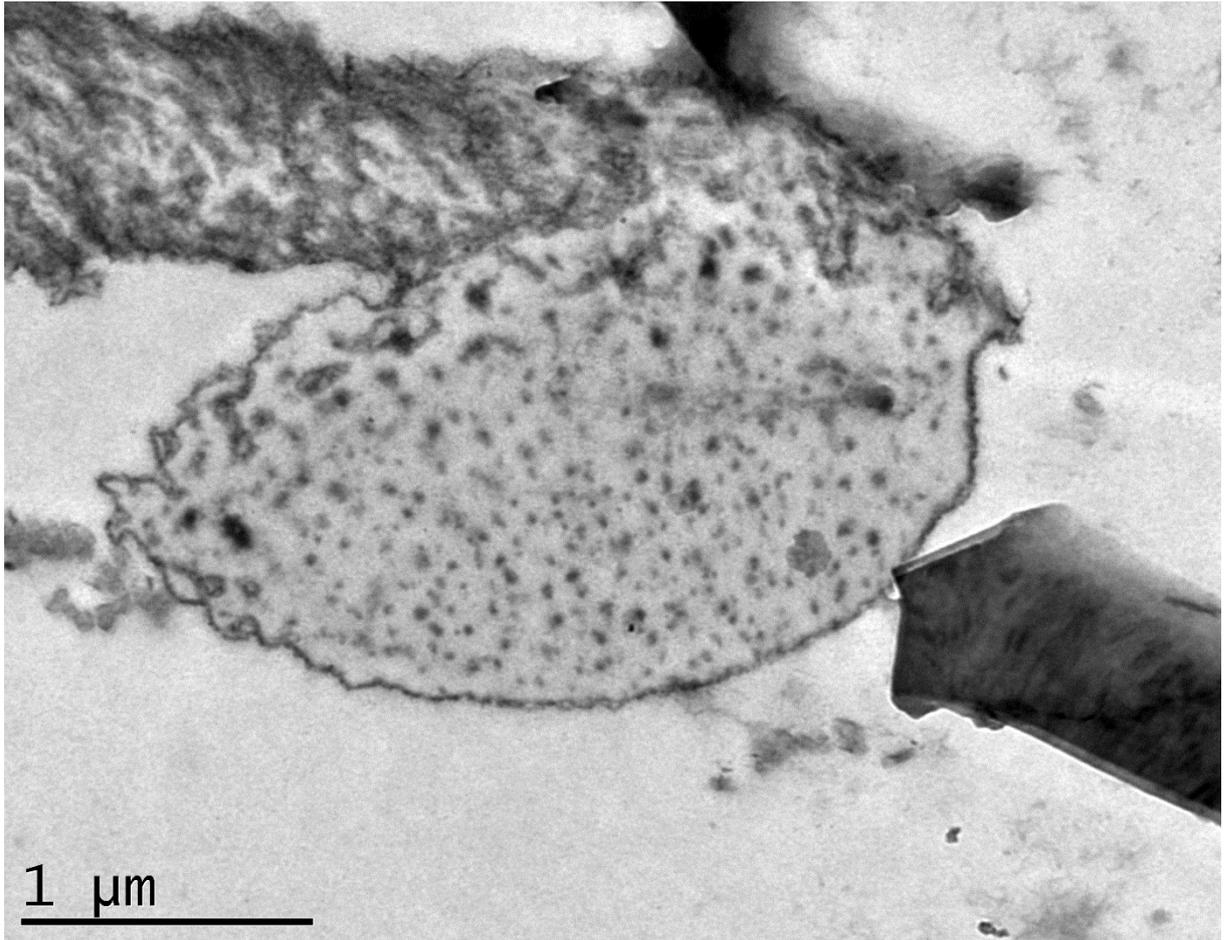


Figura 46: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Detalhe de outro depósito (40.000x).

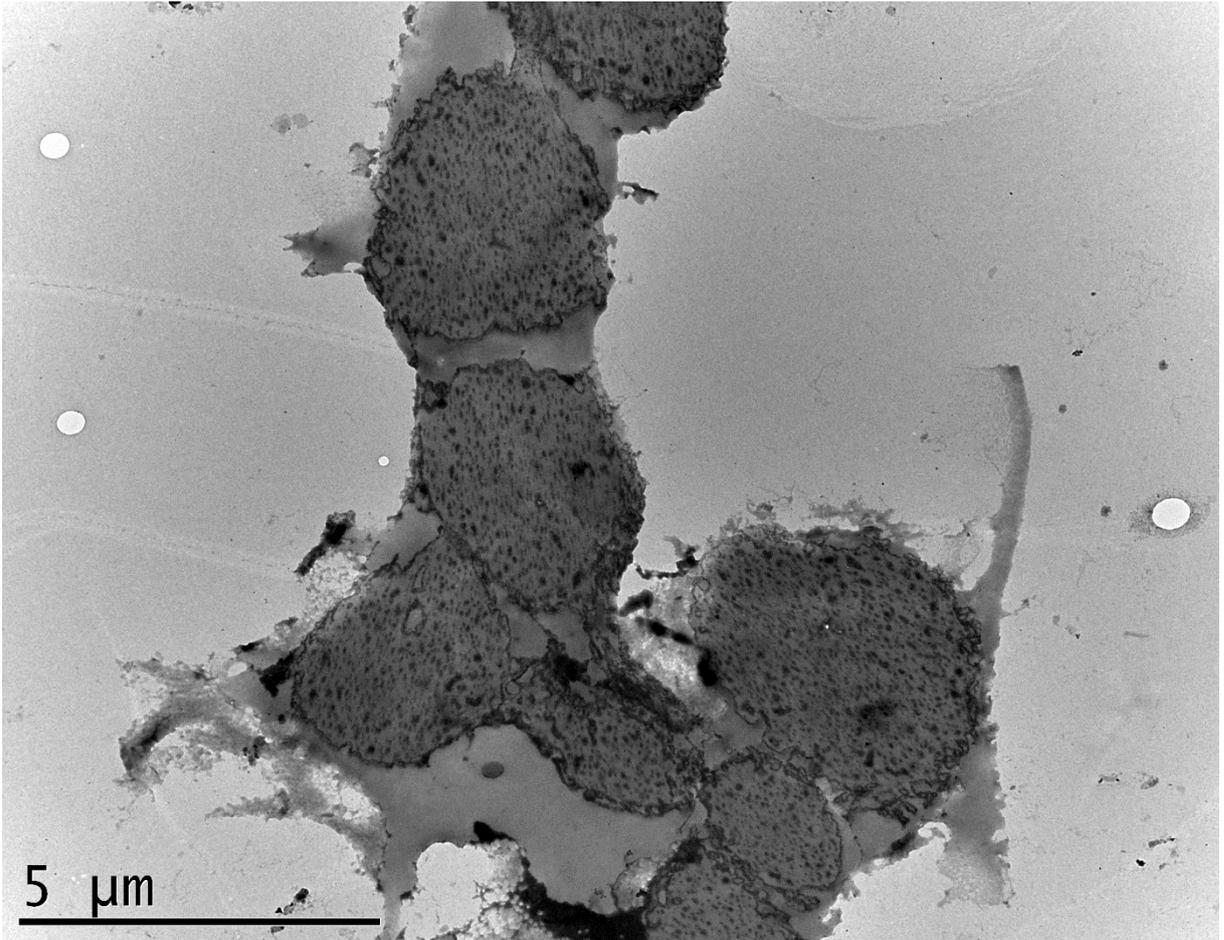


Figura 47: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Área com várias estruturas ovais, formando “colar de pérolas”, semelhante às figuras 17 e 18 da microscopia óptica (10.000x).

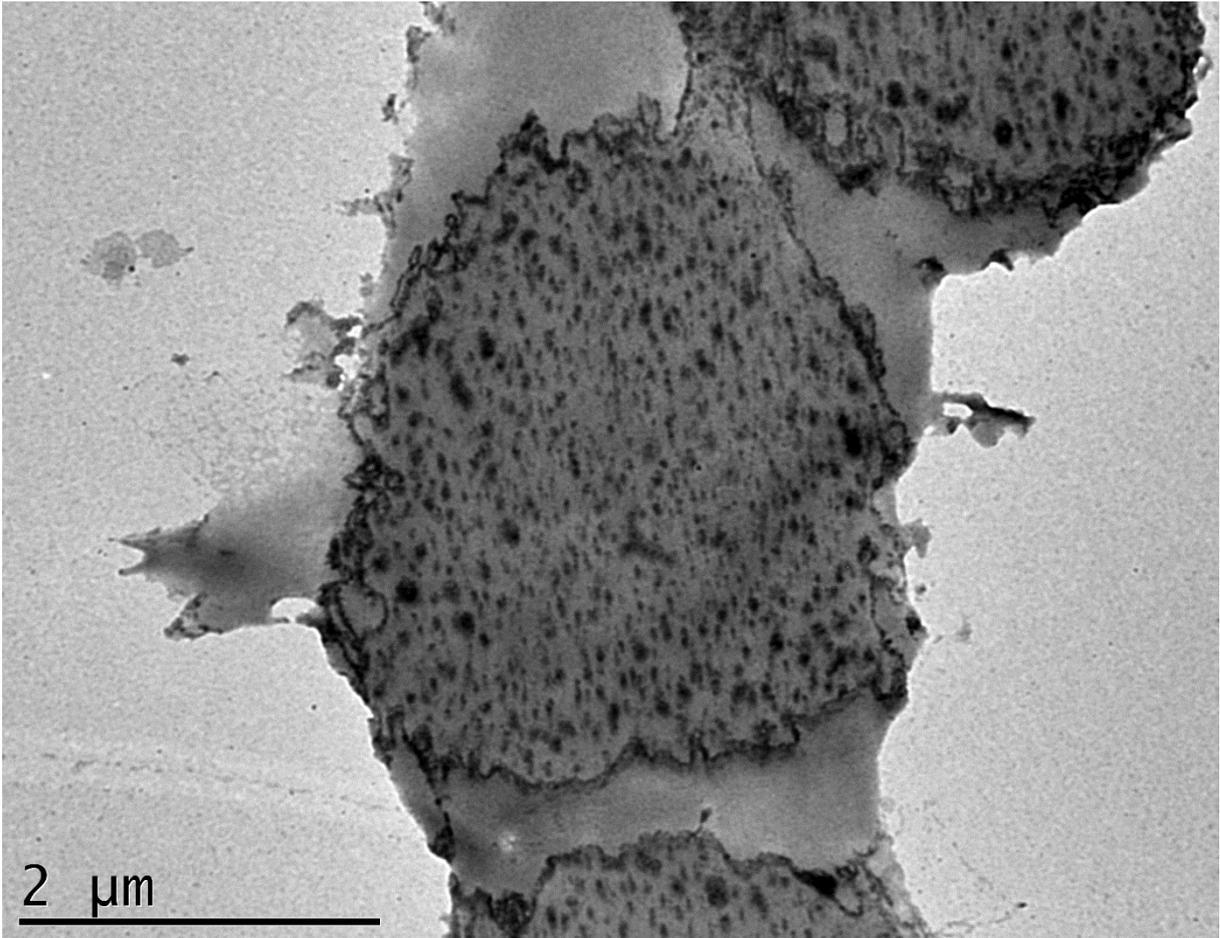


Figura 48: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Detalhe de estrutura da figura anterior (25.000x).

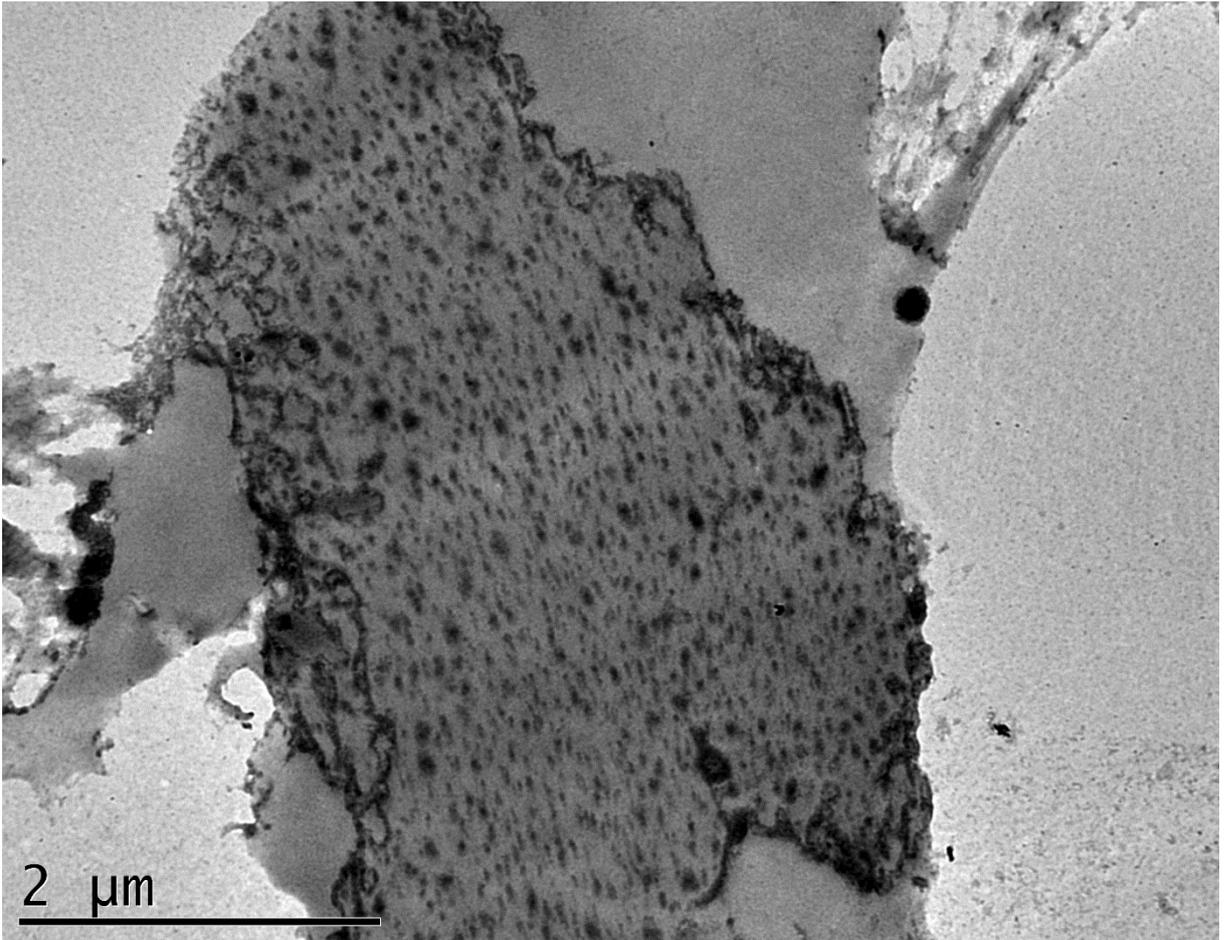


Figura 49: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Detalhe de estrutura da figura 50 (25.000x).

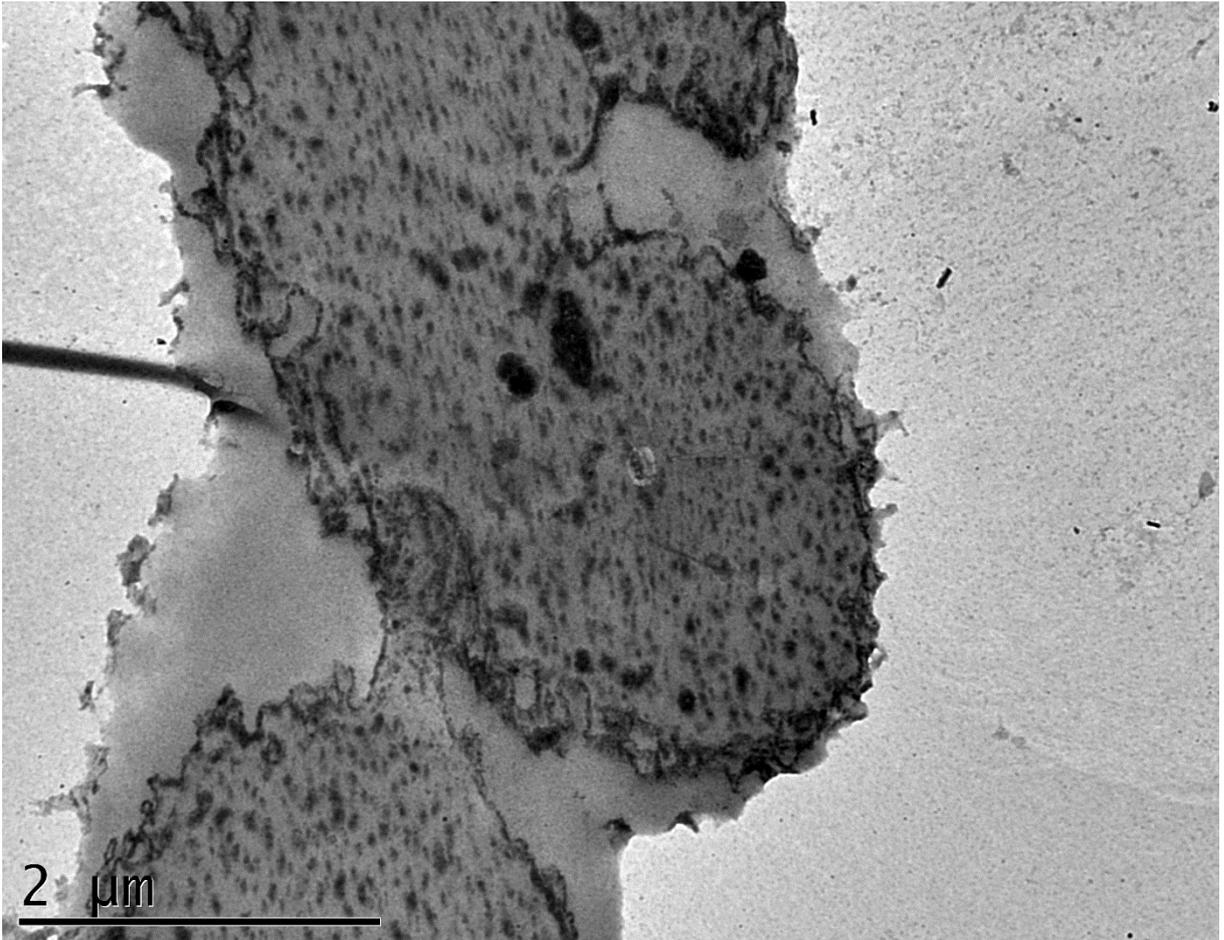


Figura 50: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Outro detalhe de estrutura da figura 50 (25.000x)

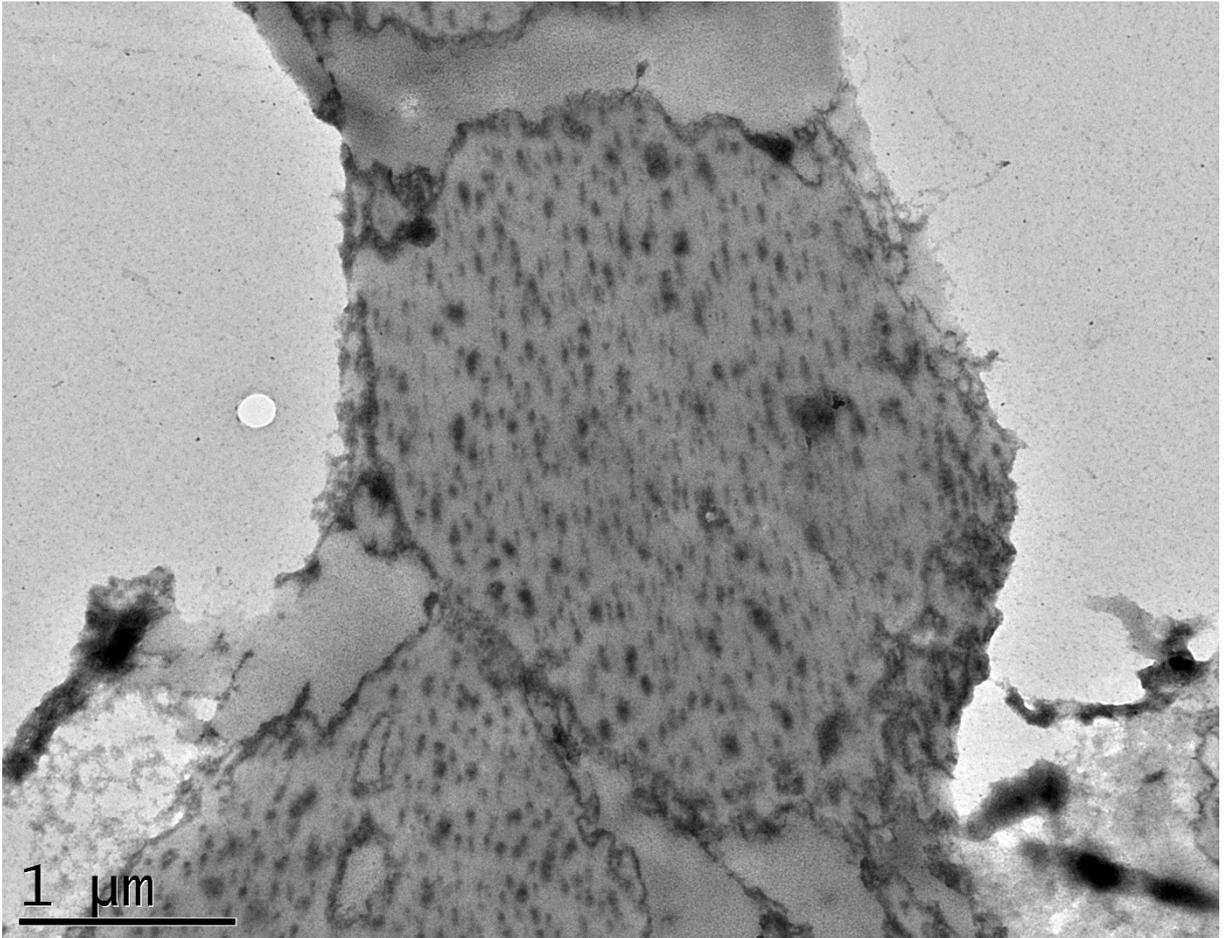


Figura 51: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Outro detalhe de estrutura da figura 50 (30.000x).

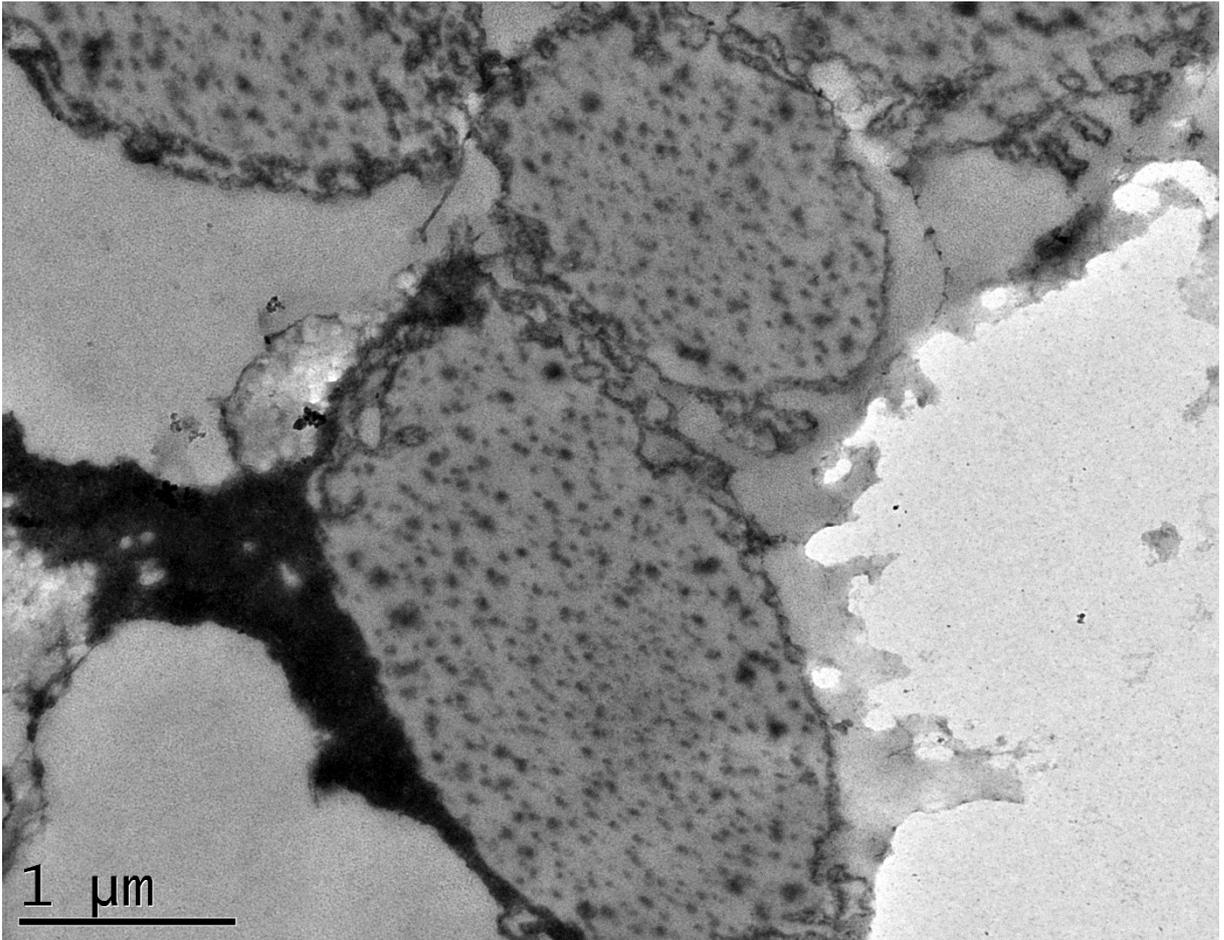


Figura 52: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Outro detalhe de estrutura da figura 50 (30.000x).

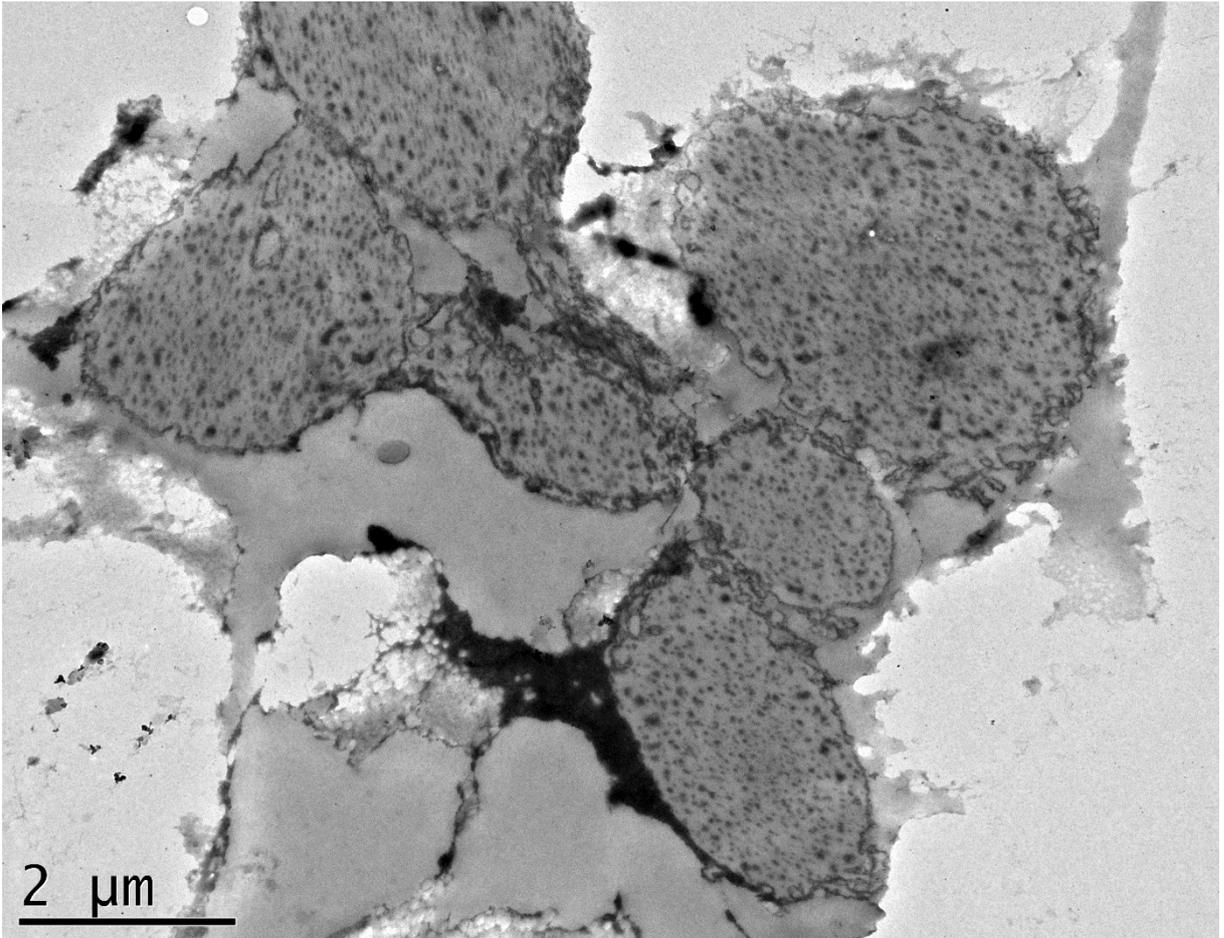


Figura 53: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Outro campo com agrupamento de estruturas ovais (15.000x).

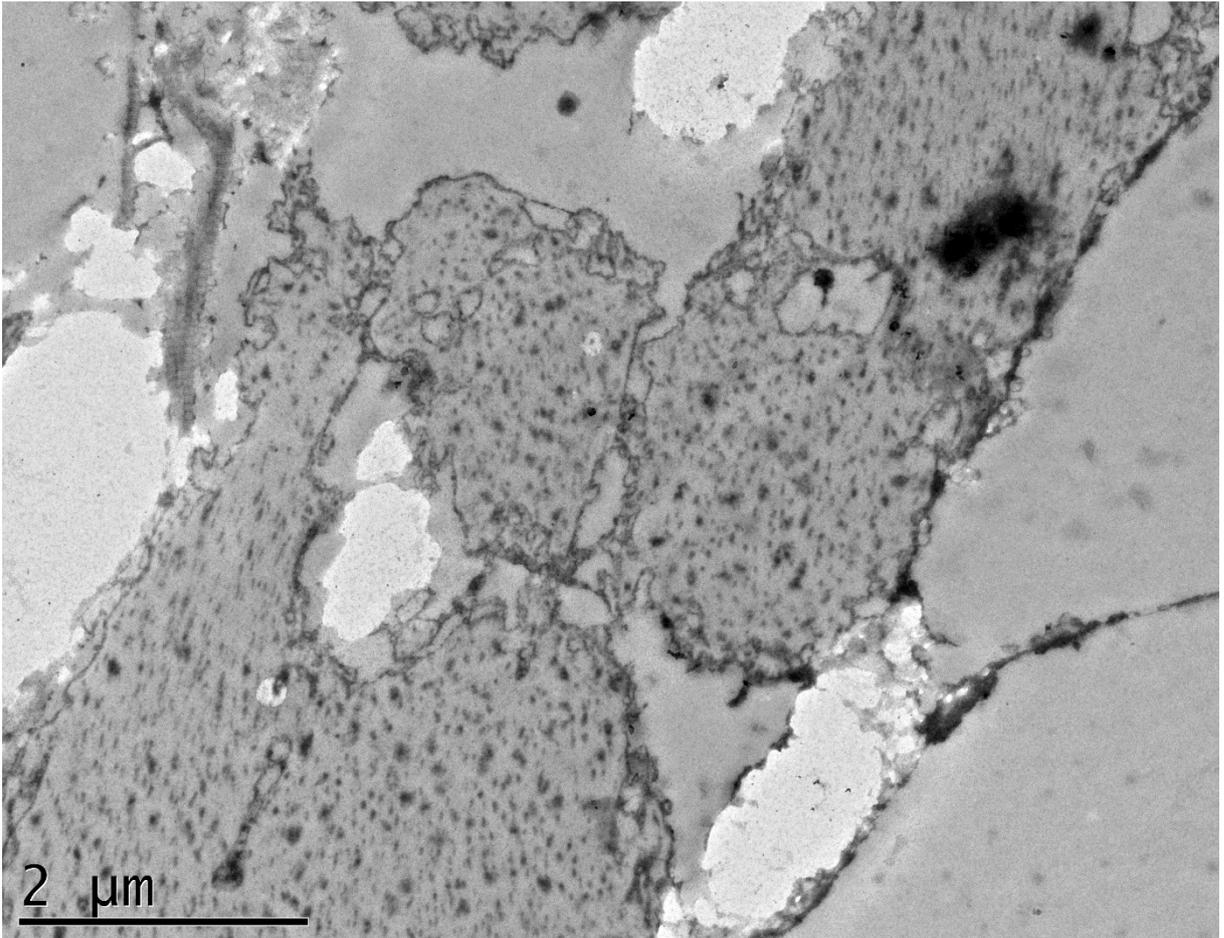


Figura 54: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Outro campo com agrupamento de estruturas ovais (20.000x).

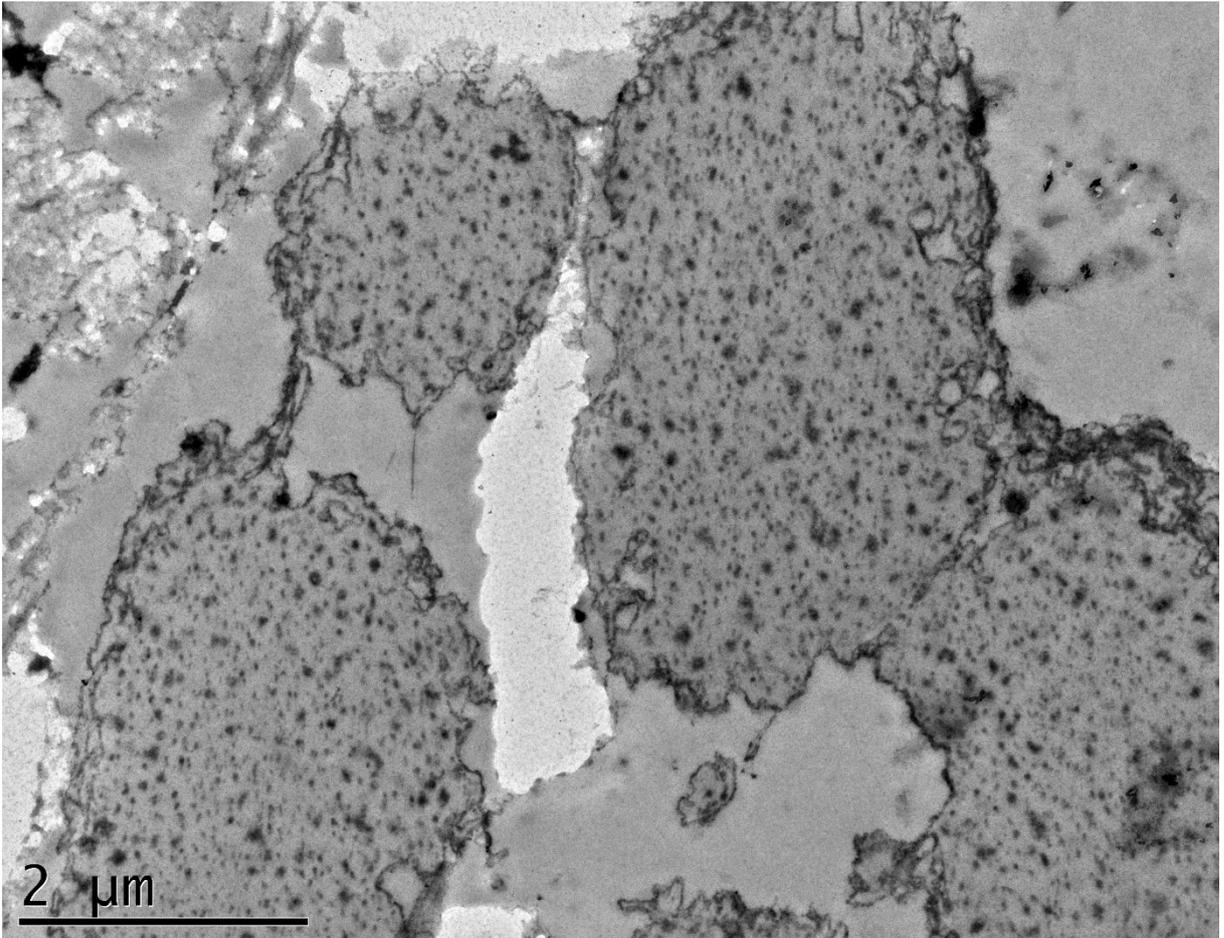


Figura 55: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Outro campo com agrupamento de estruturas ovais, duas delas um pouco maiores e uma pequena no canto superior esquerdo (20.000x).

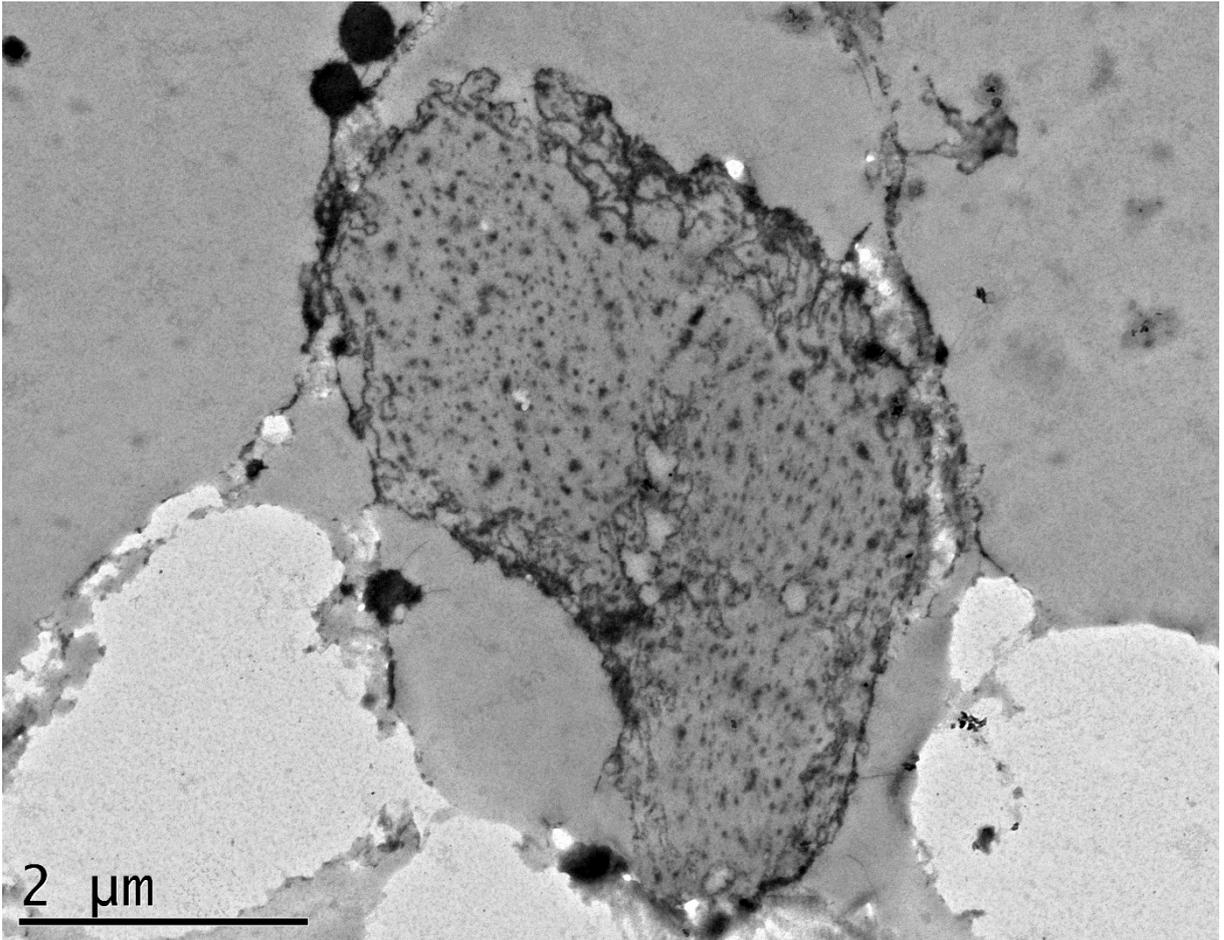


Figura 56: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Detalhe de depósito (20.000x).

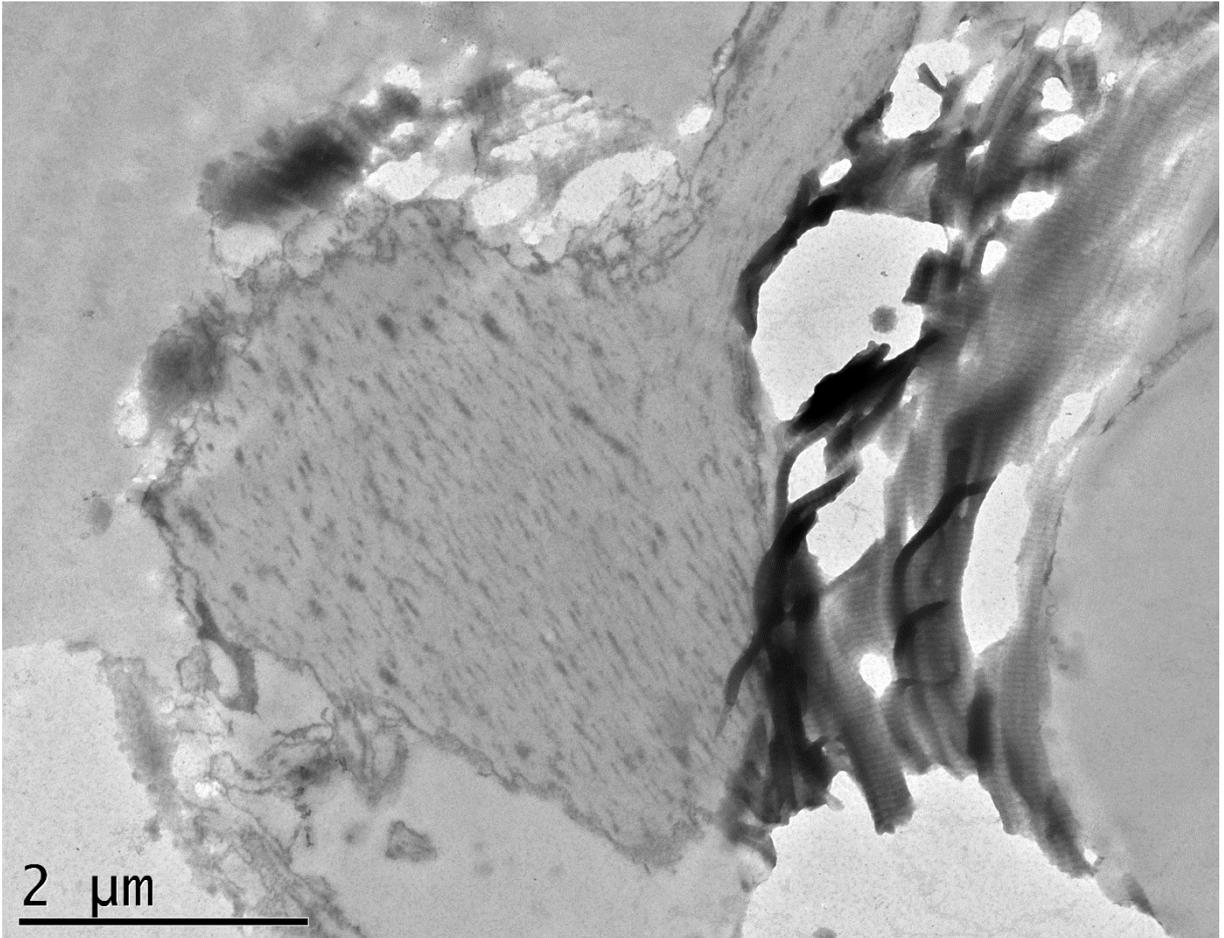


Figura 57: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Outro detalhe de depósito (20.000x).

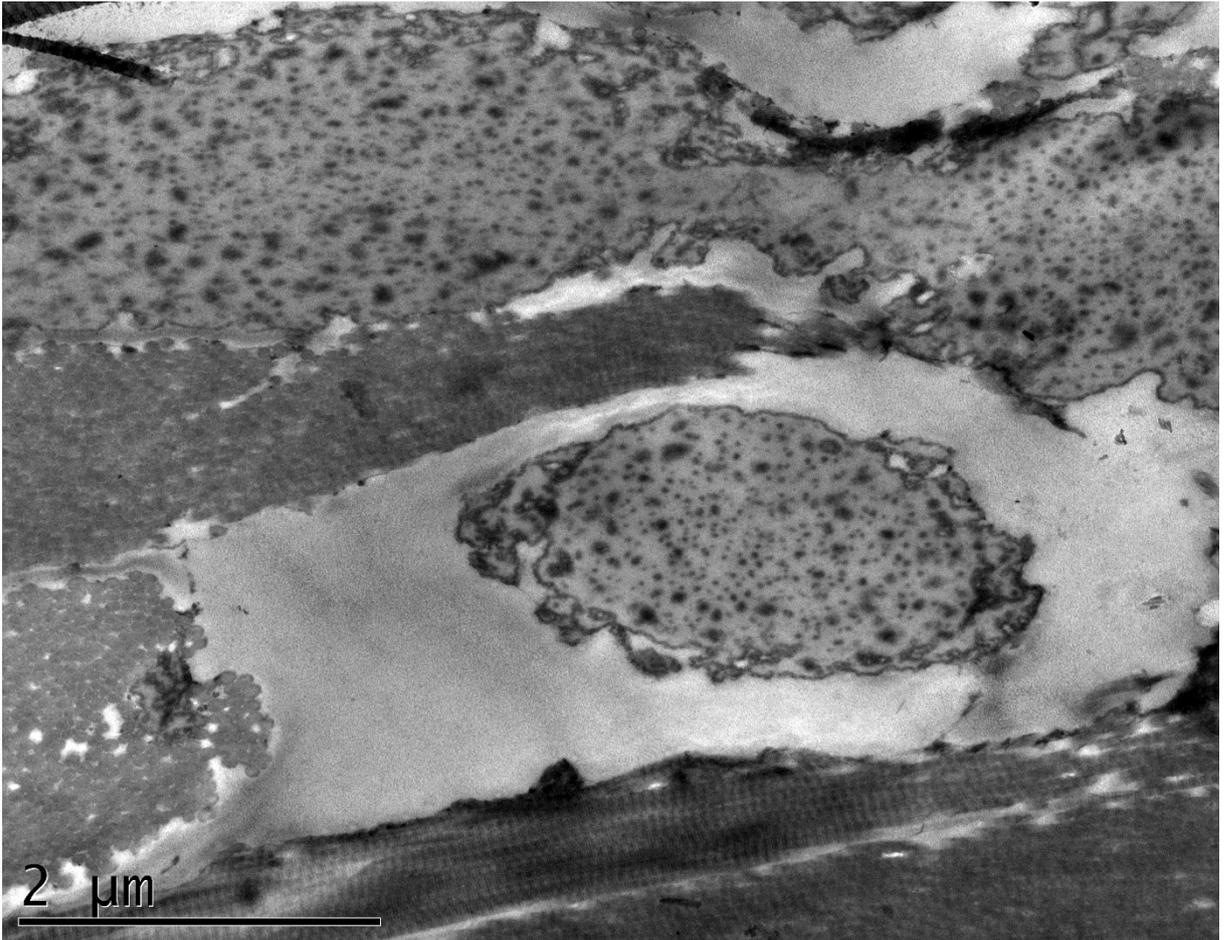


Figura 58: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Detalhe de depósitos (x25.000).

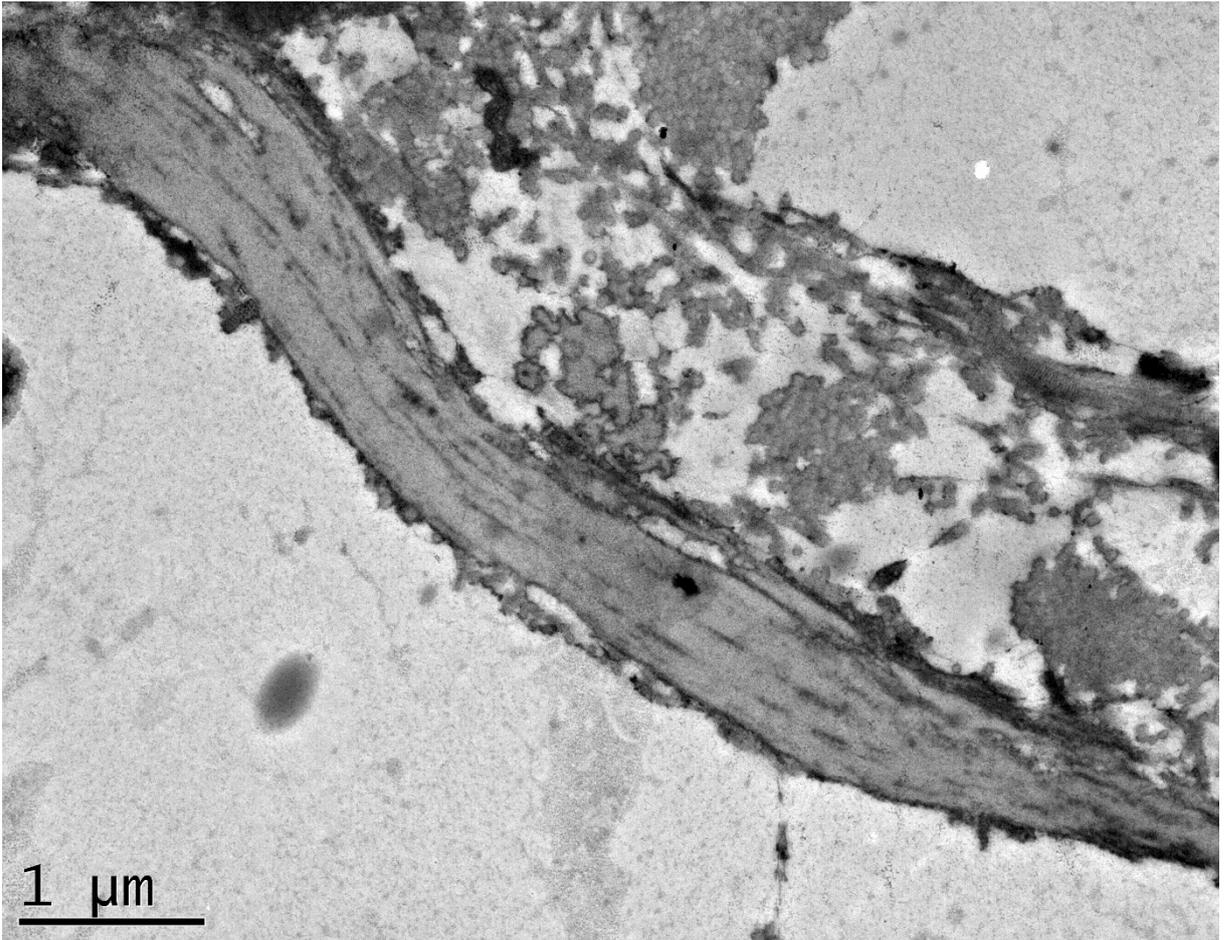


Figura 59: Microscopia Eletrônica de Transmissão. Fibra elástica normal (25.000x).

b. Microscopia Eletrônica de Varredura

Já na ME, pela técnica de Varredura, ficam evidentes as mesmas estruturas ovóides visualizadas nas técnicas de MO e MET, sendo bem delimitadas, de superfície de aspecto liso, a maioria com cerca de 4 micrômetros de diâmetro, entre os feixes de colágeno da derme média. Tamanho esse semelhante ao visto com a de transmissão.

Pôde-se ver que as estruturas dérmicas da matriz extracelular encontram-se sem alterações.

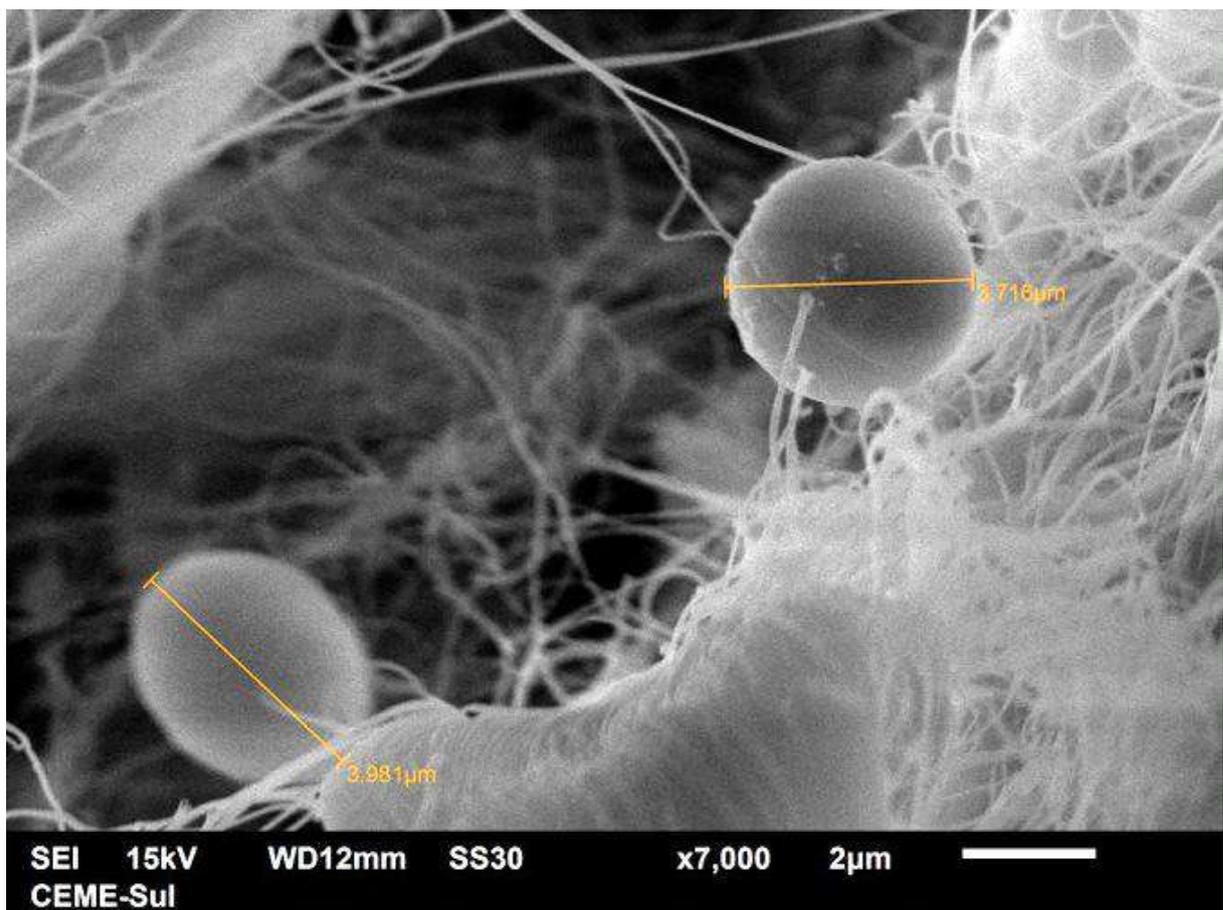


Figura 60: Microscopia Eletrônica de Varredura. Estruturas ovóides entre fibras colágenas (7.000x).

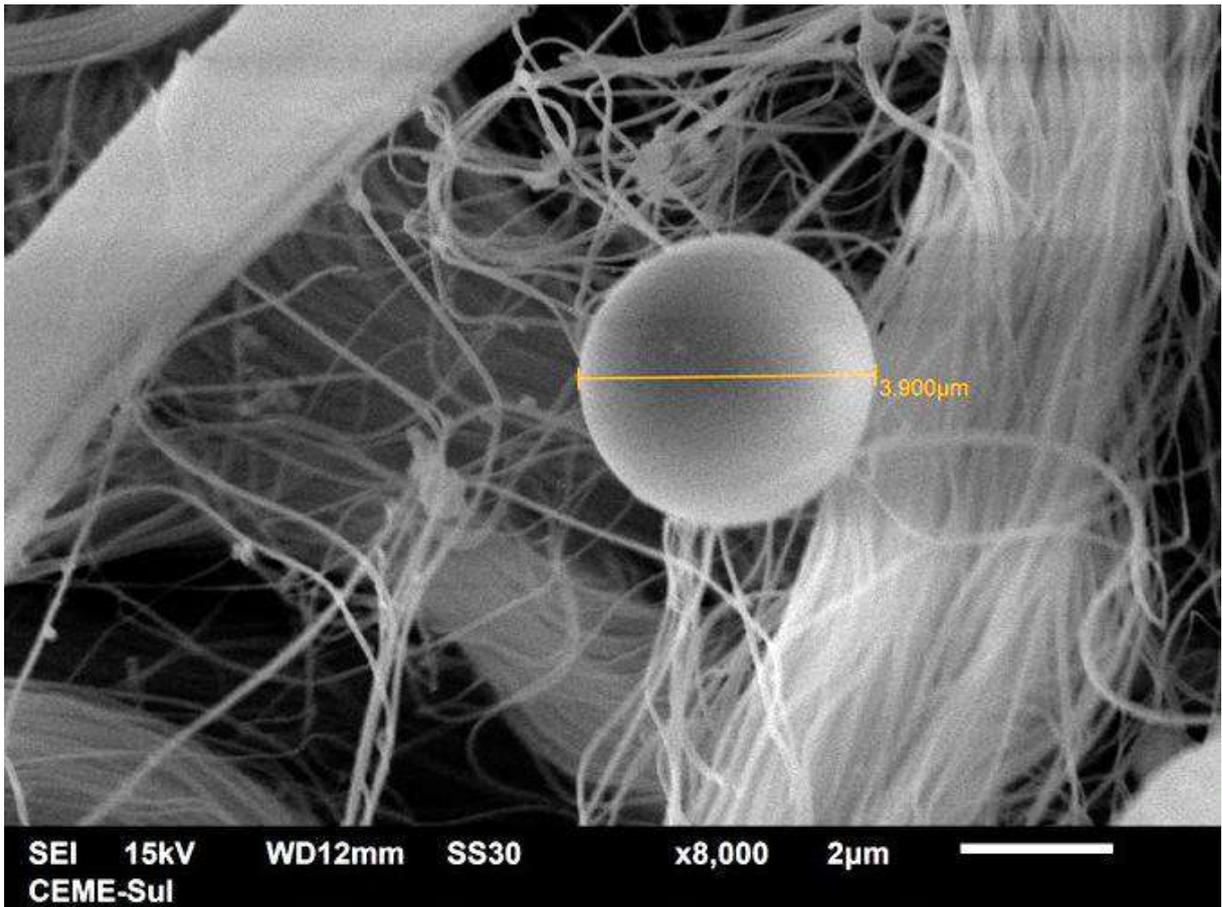


Figura 61: Microscopia Eletrônica de Varredura. Estrutura ovoide entre fibras colágenas (8.000x)

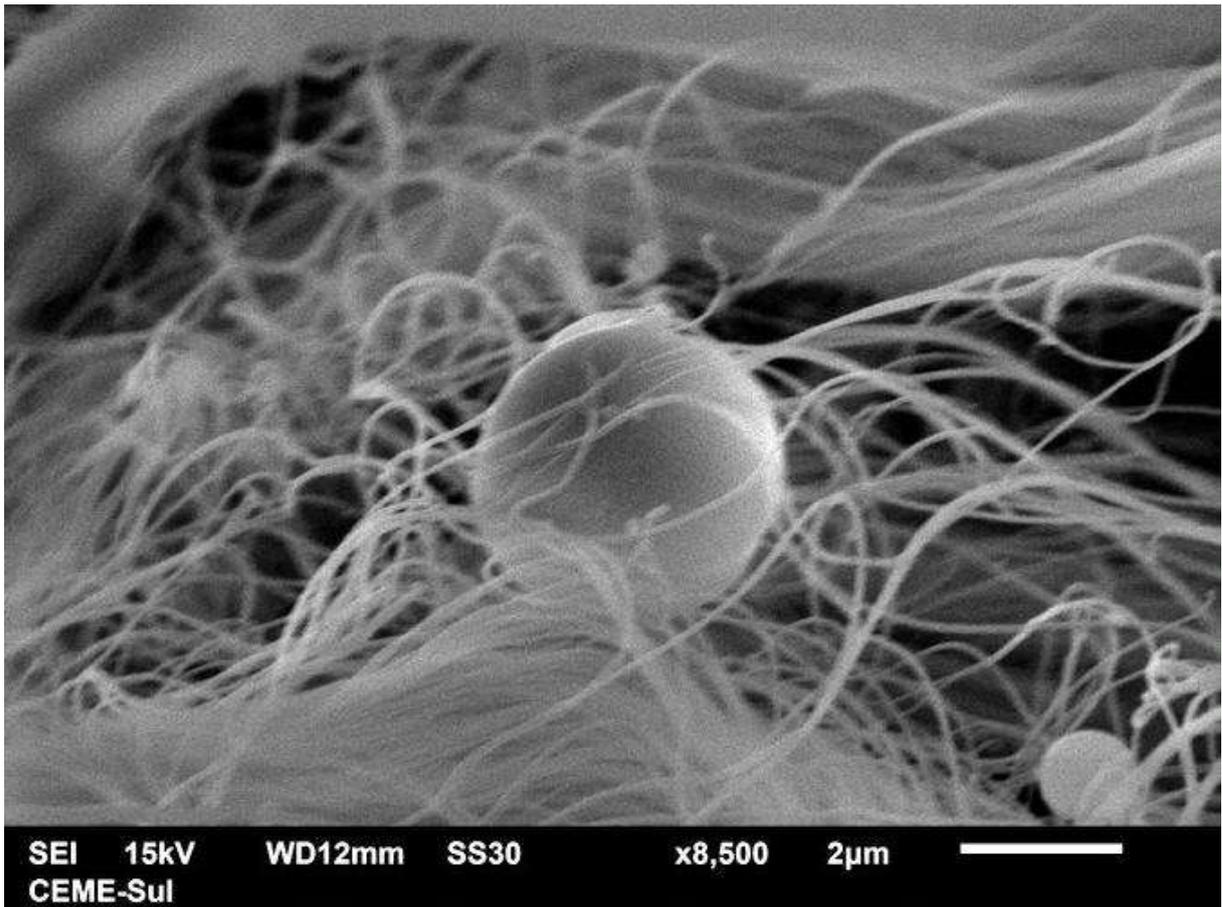


Figura 62: Microscopia Eletrônica de Varredura. Detalhe de uma dessas estruturas (8.500x).

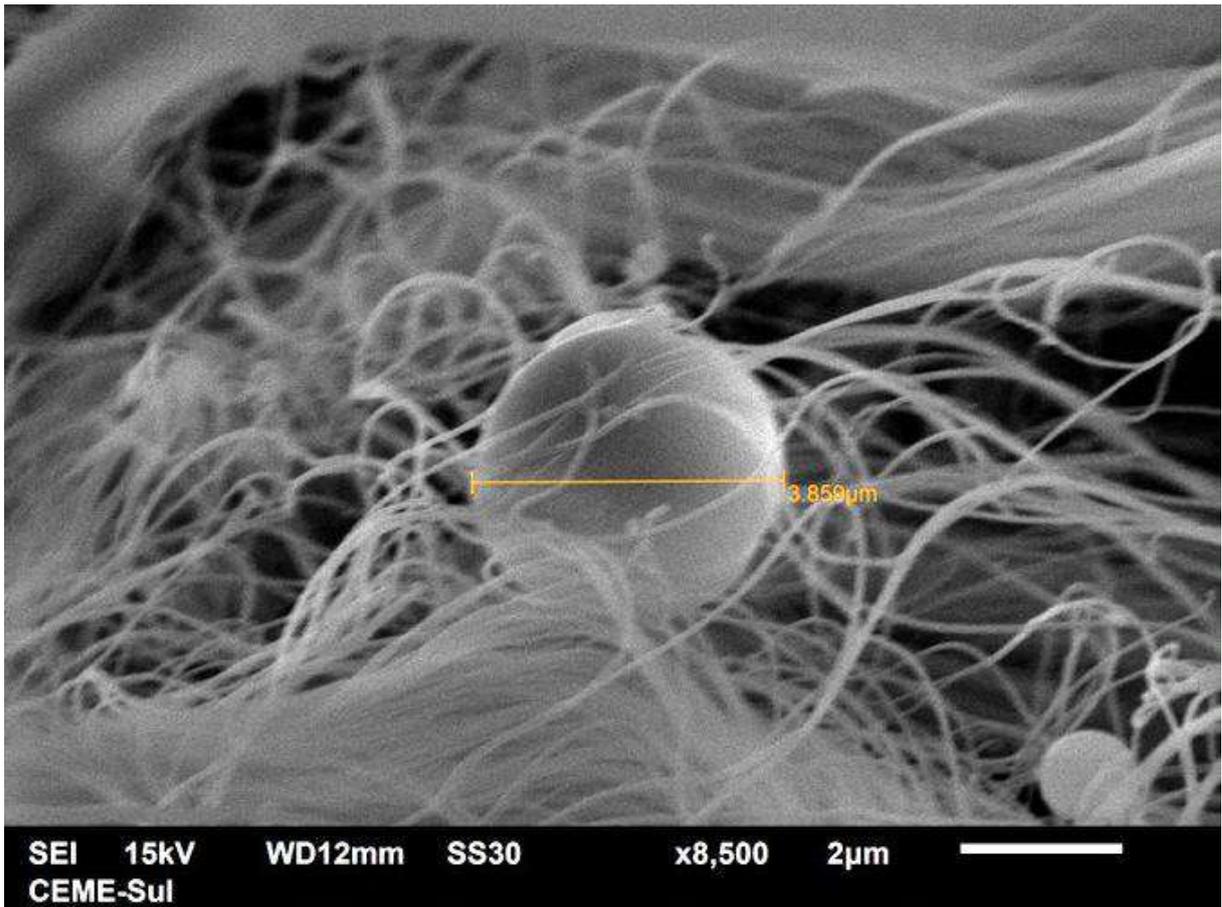


Figura 63: Microscopia Eletrônica de Varredura. Medida da foto anterior.(8.500x)

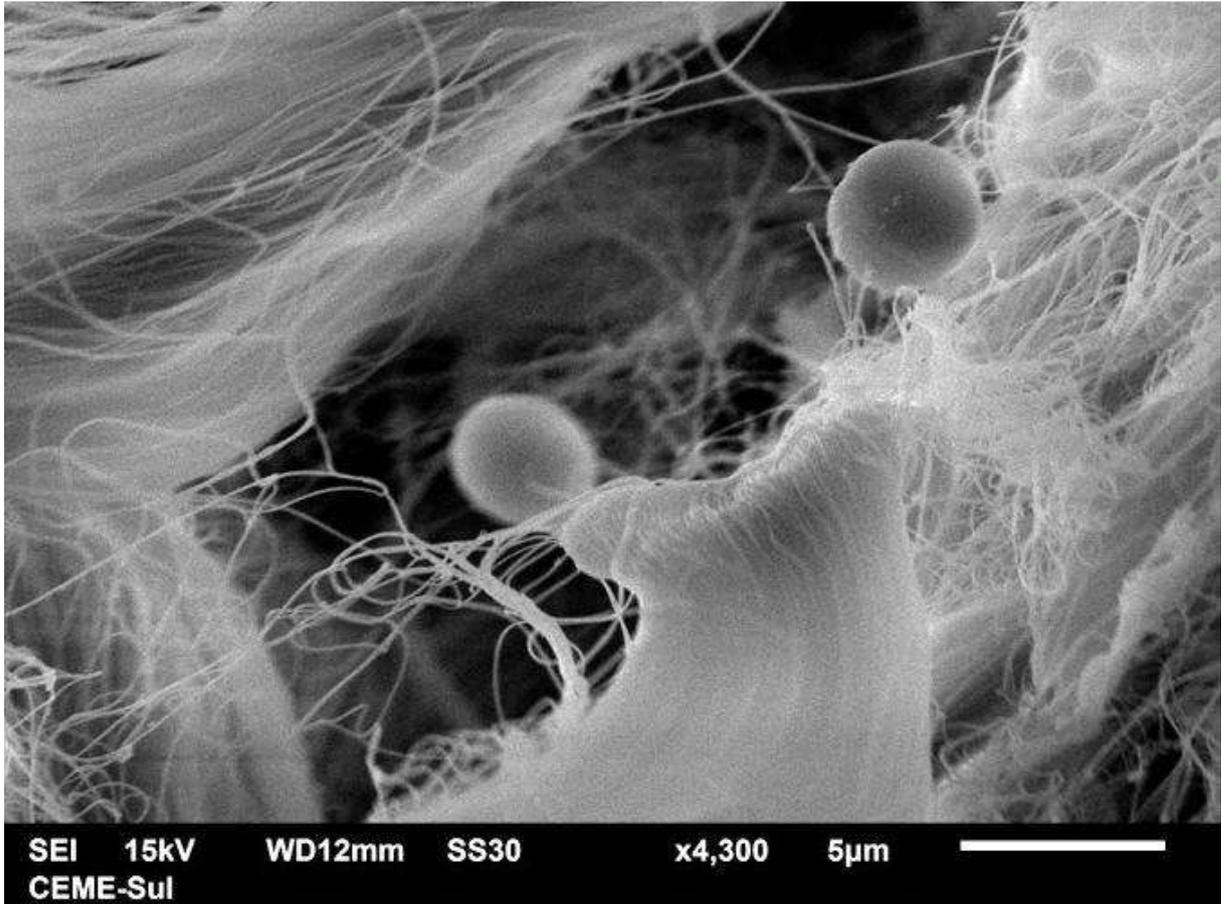


Figura 64: Microscopia Eletrônica de Varredura. Duas estruturas com mesmo aspecto entre feixes colágenos (4.300x).

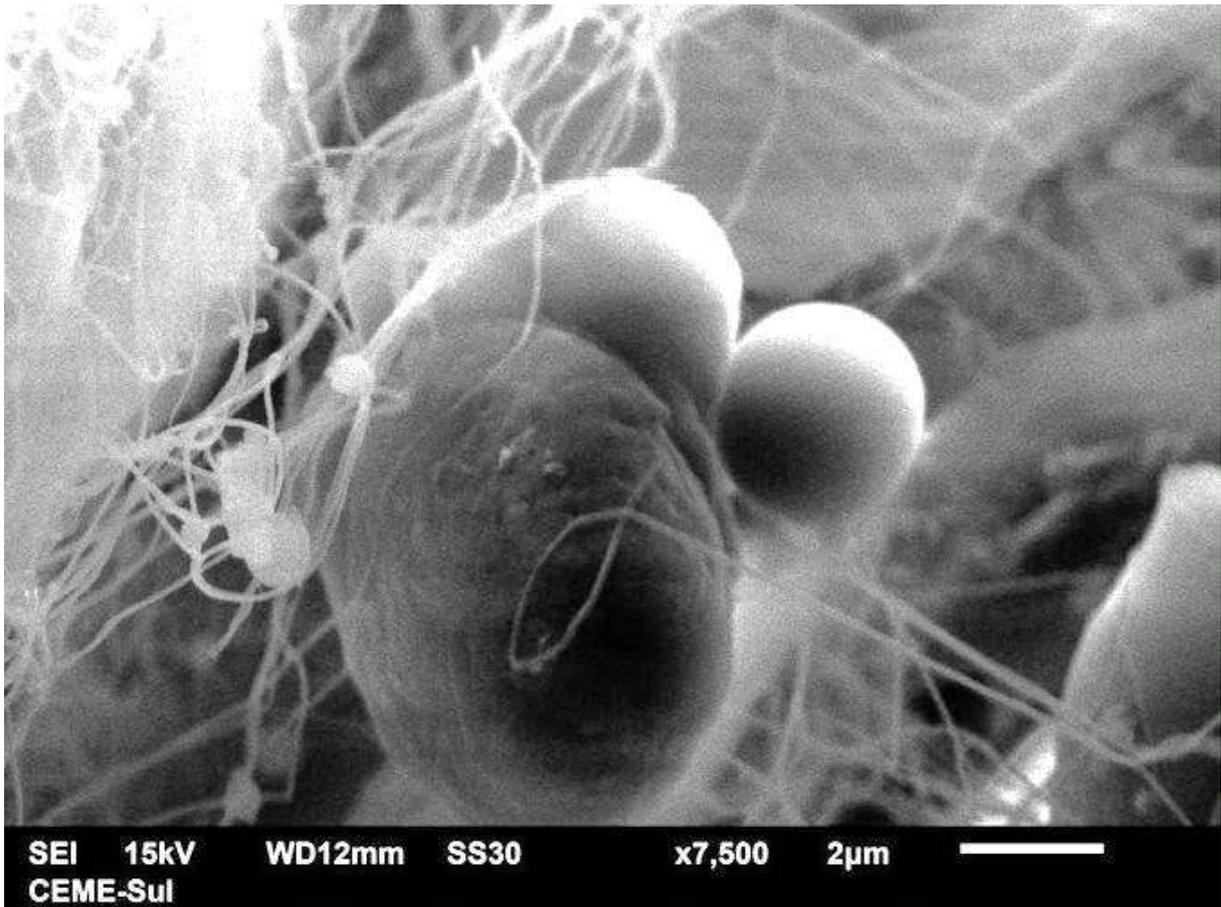


Figura 65: Microscopia Eletrônica de Varredura. Estrutura com aspecto semelhante à vista na MET, da figura 56, com leve rugosidade na superfície (7.500x).

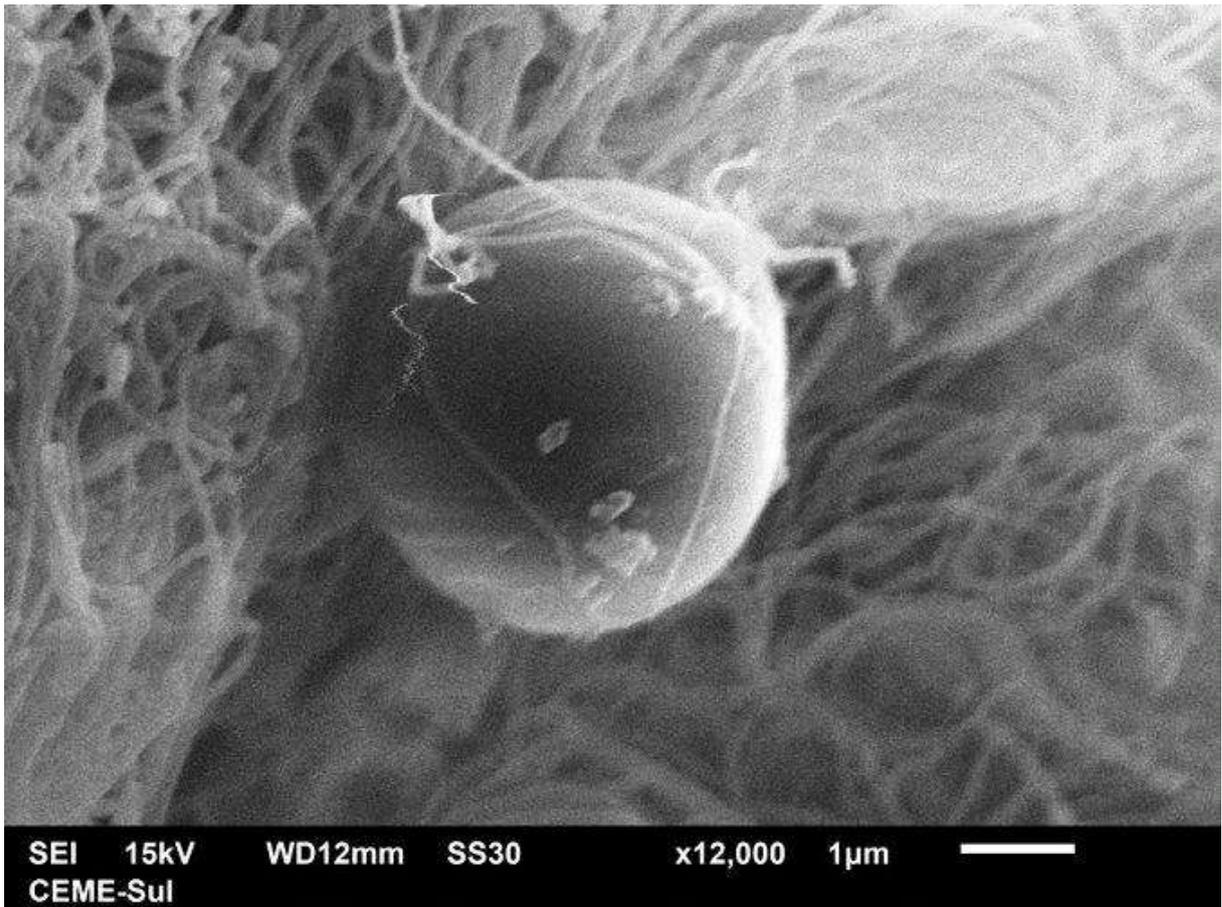


Figura 66: Microscopia Eletrônica de Varredura. Grande aumento de uma dessas estruturas (12.000x).

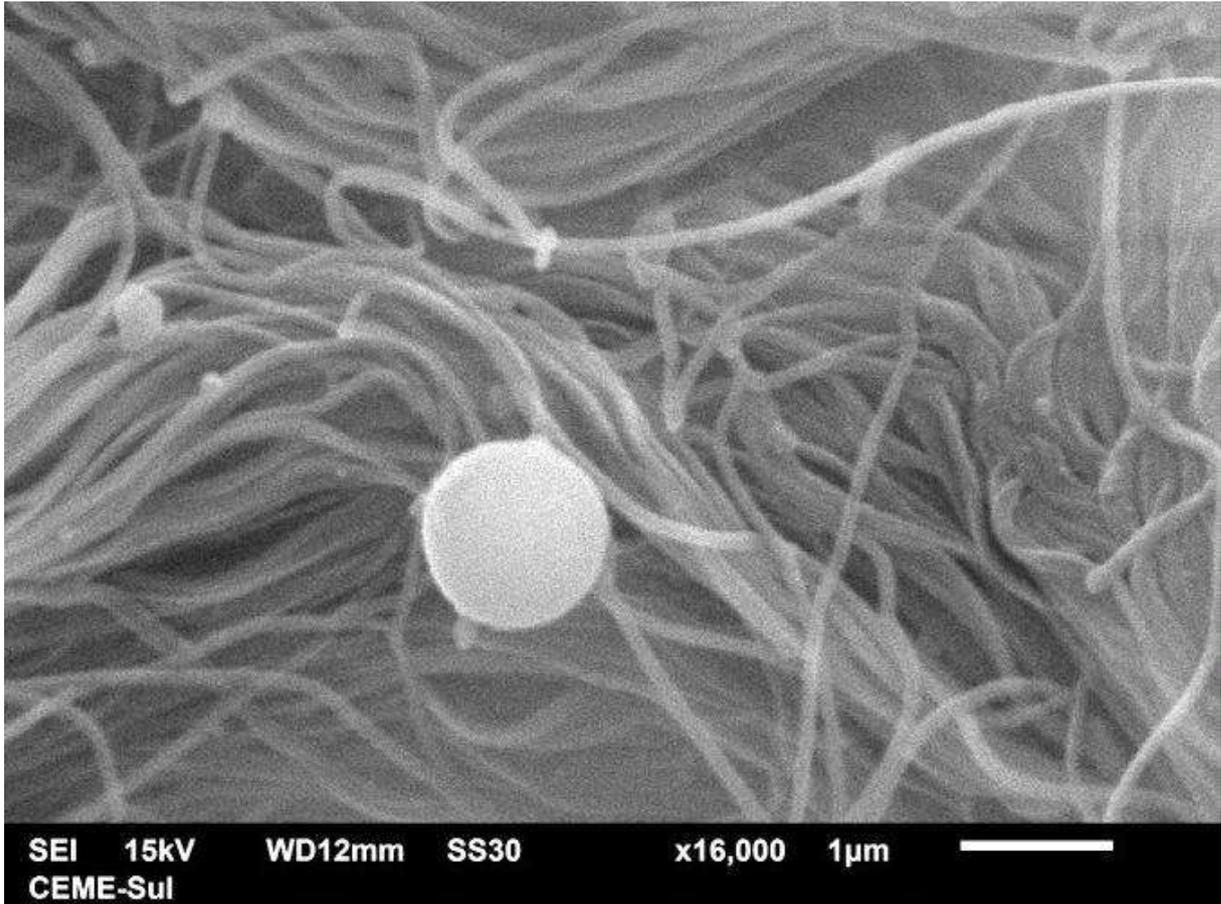


Figura 67: Microscopia Eletrônica de Varredura. Estrutura menor, semelhante a uma demonstrada na figura 55 (16.000x).

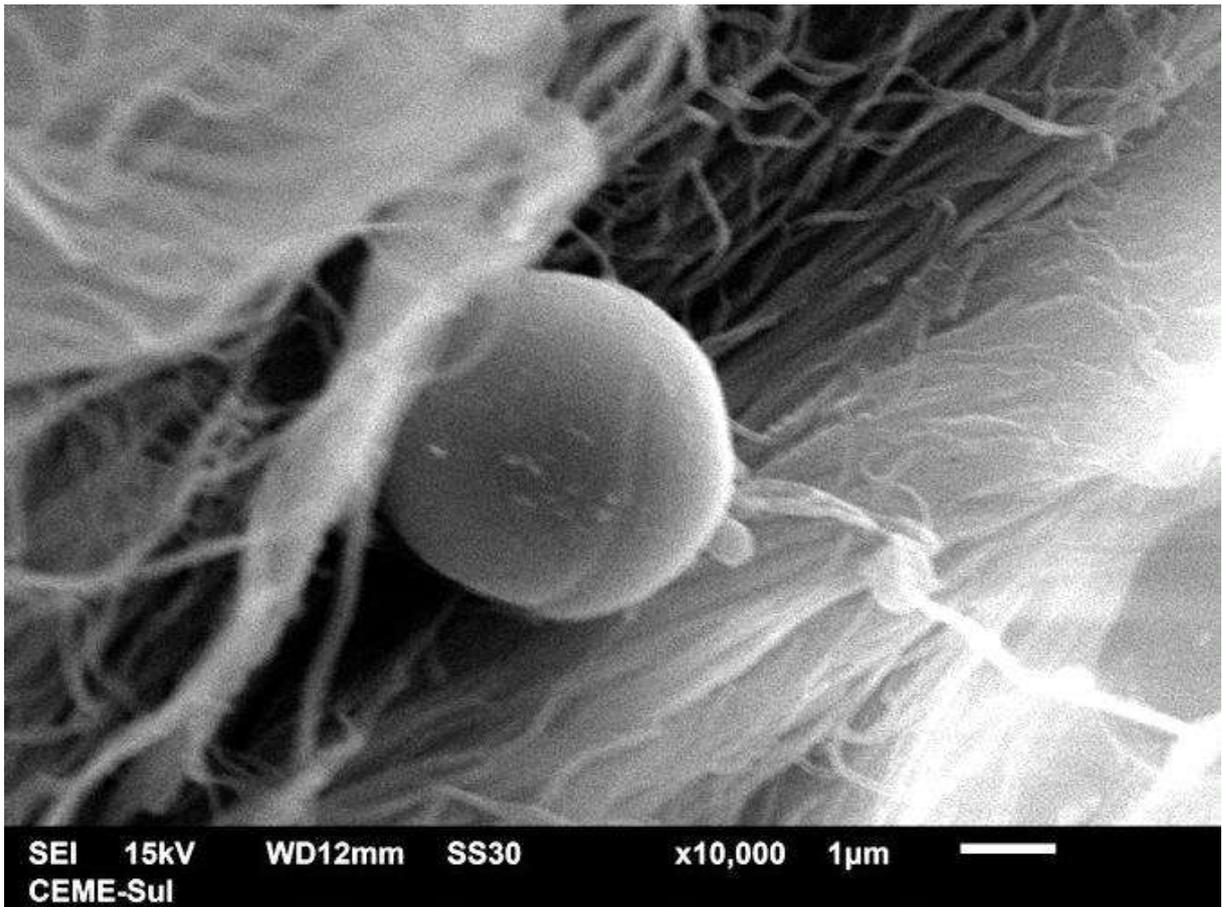


Figura 68: Microscopia Eletrônica de Varredura. Estrutura arredondada entre os feixes colágenos (10.000x).

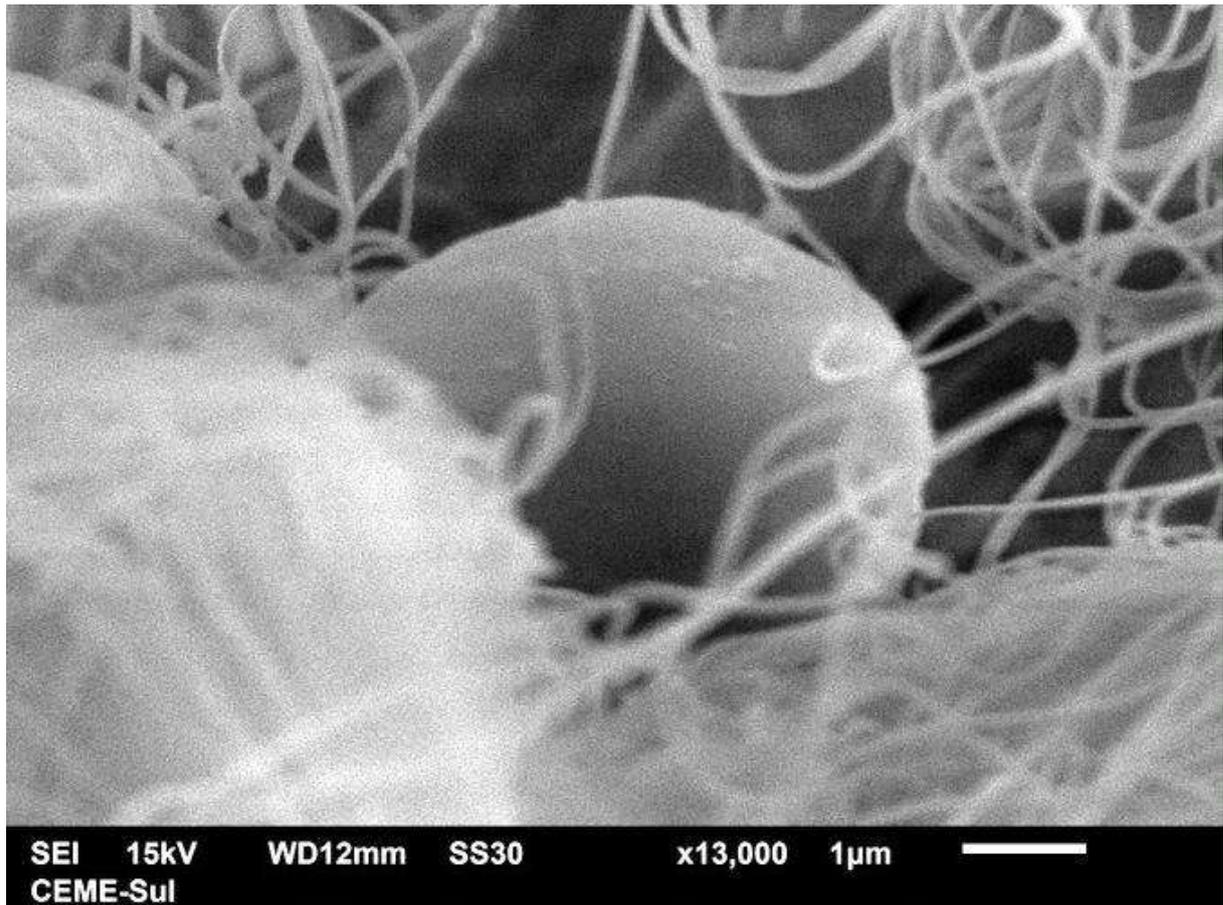


Figura 69: Microscopia Eletrônica de Varredura. Estrutura arredondada entre os feixes colágenos (13.000x).

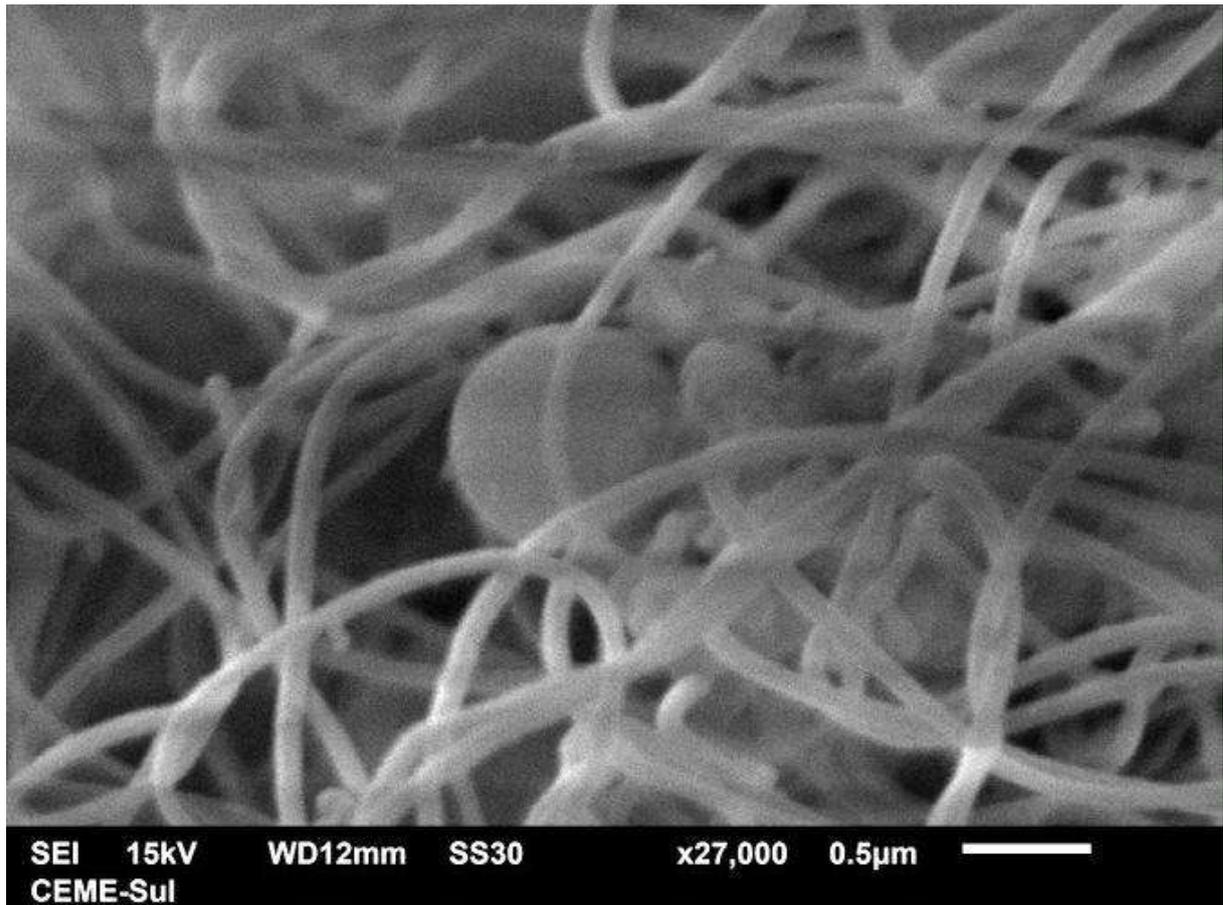


Figura 70: Microscopia Eletrônica de Varredura. Pequena estrutura de forma semelhante (27.000x).

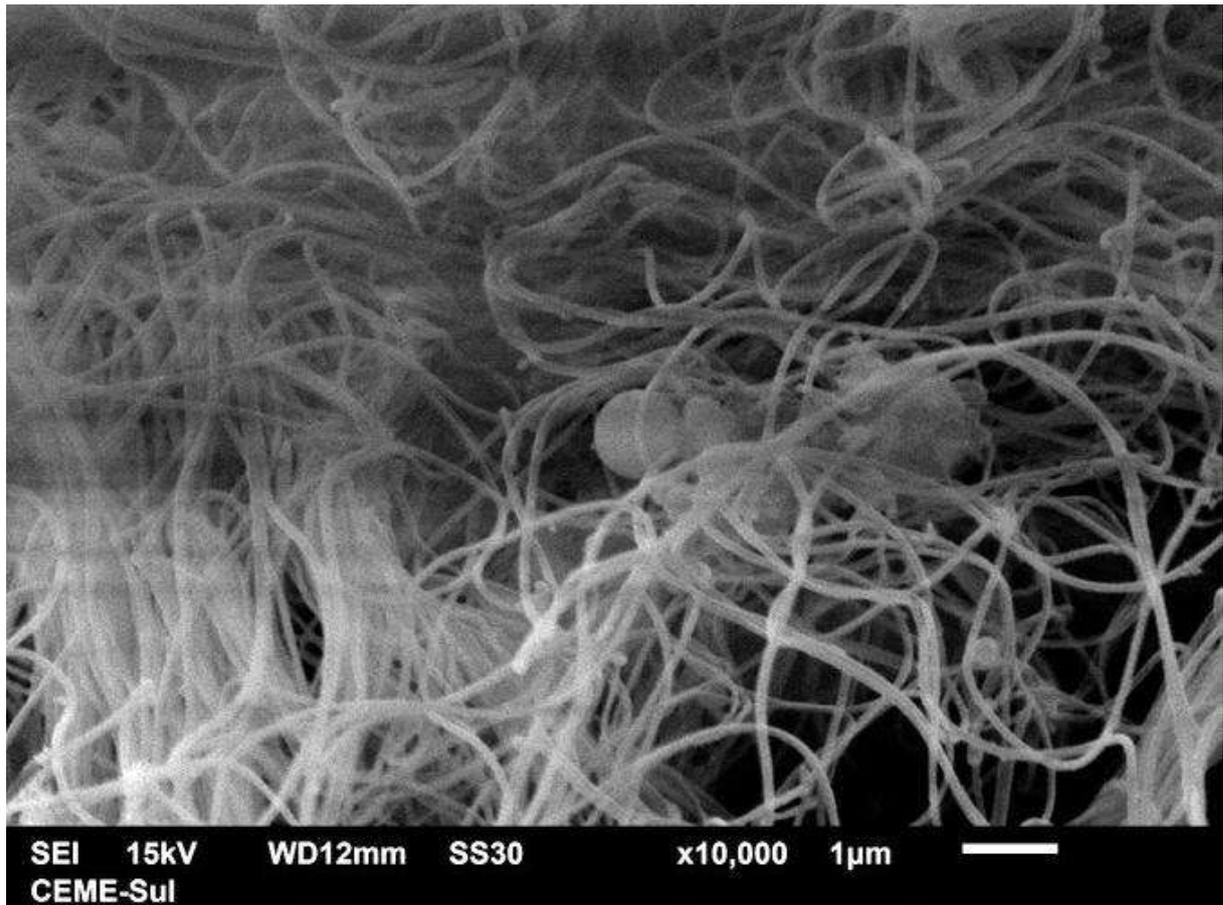


Figura 71: Microscopia Eletrônica de Varredura. Mesmo campo anterior, demonstrando o depósito entre fibras colágenas (10.000x).

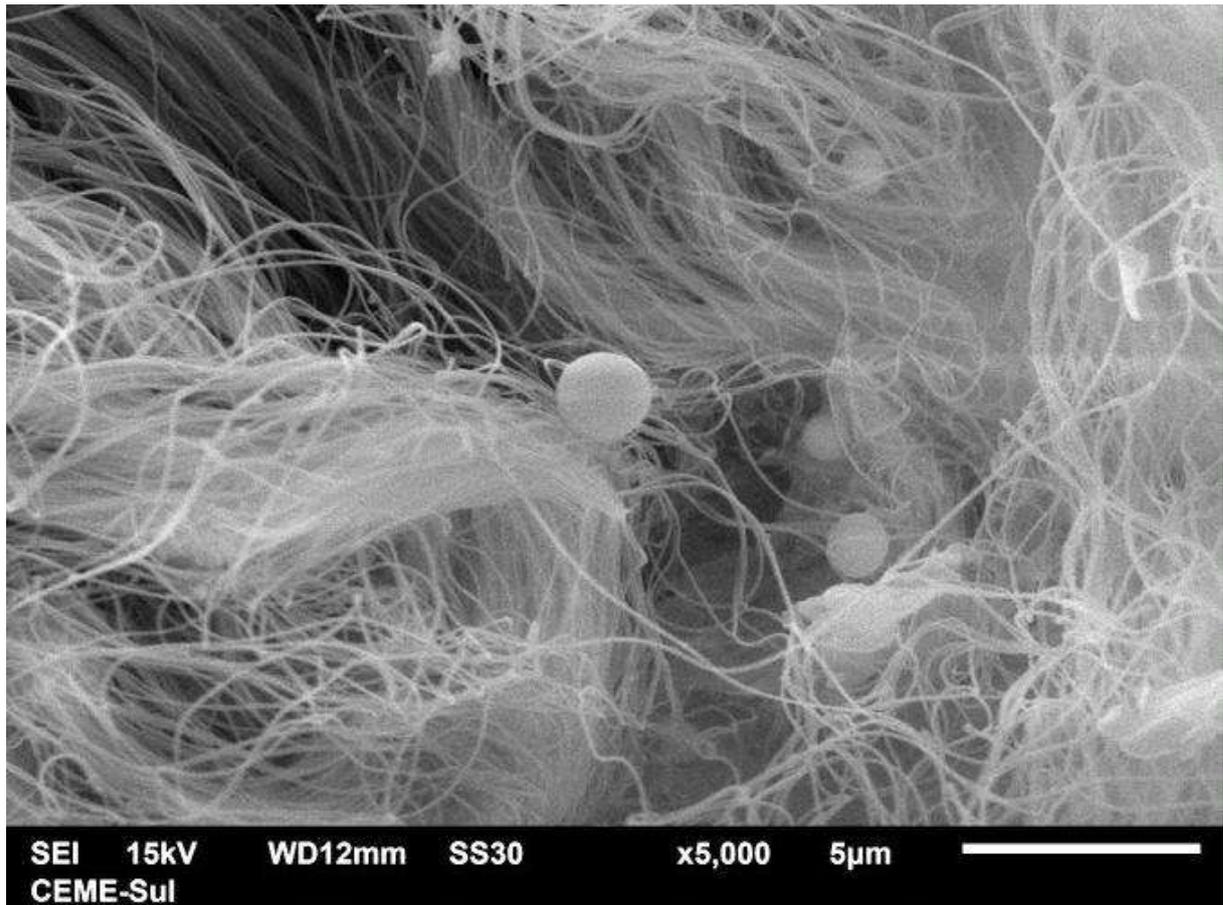


Figura 72: Microscopia Eletrônica de Varredura. Campo com quatro estruturas arredondadas entre as fibras colágenas (5.000x).

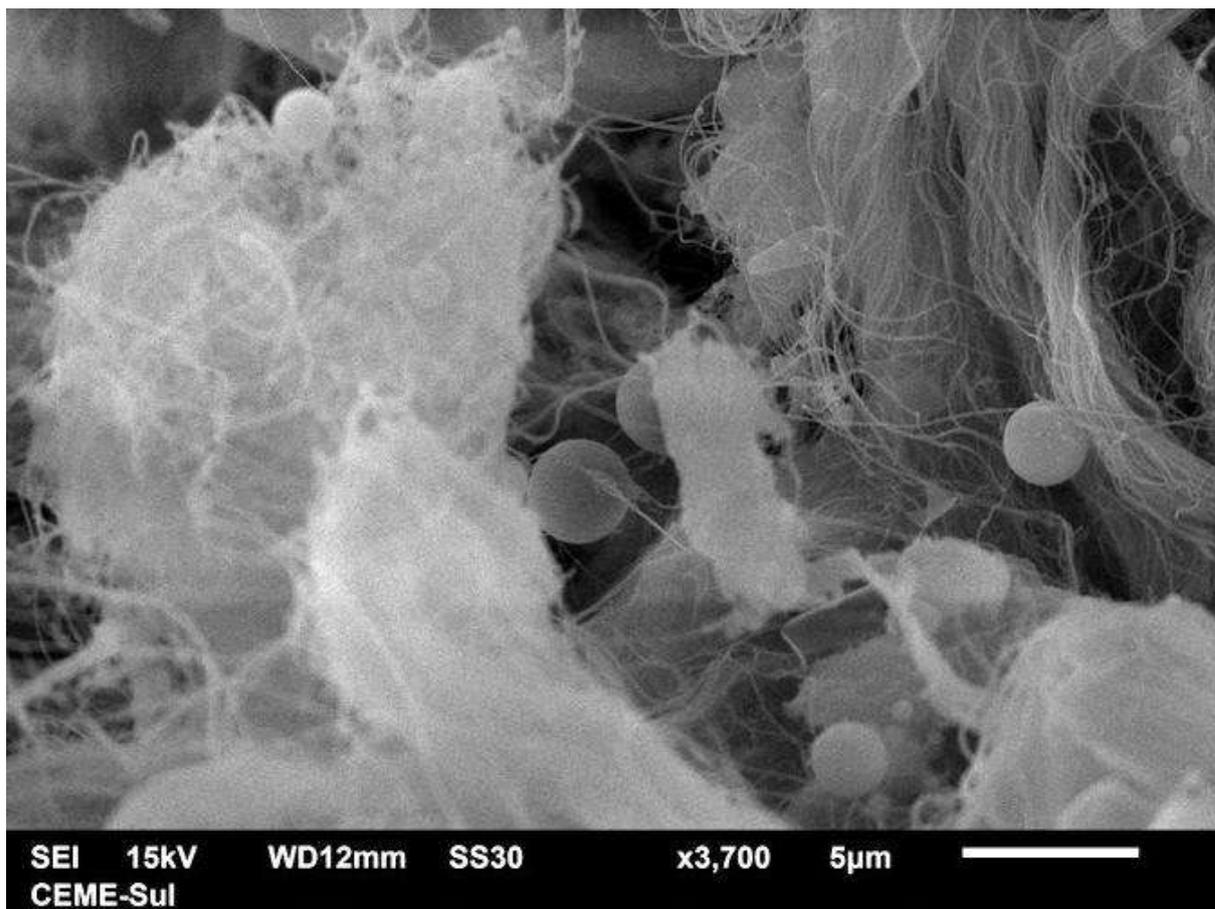


Figura 73: Microscopia Eletrônica de Varredura. Outro campo com seis estruturas arredondadas entre as fibras colágenas (3.700x)

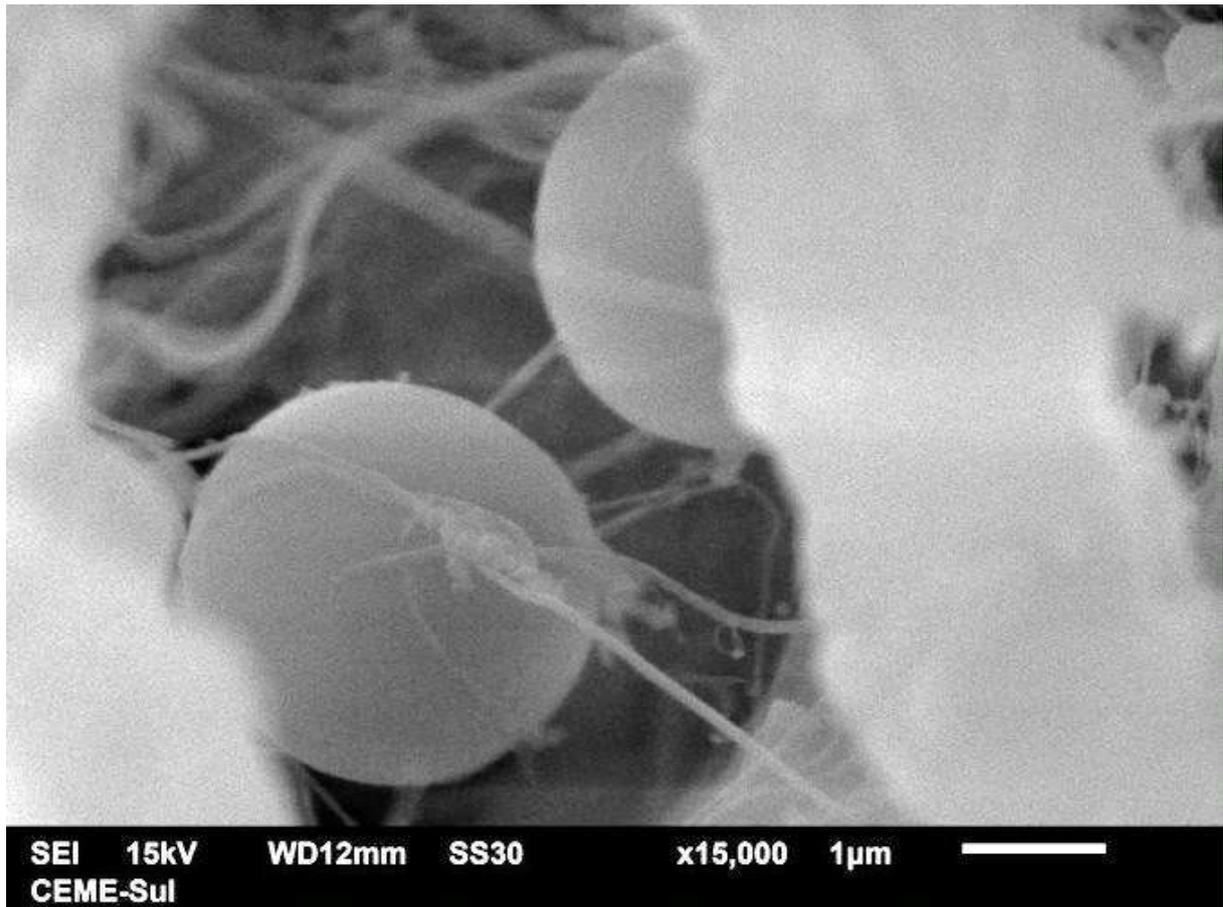


Figura 74: Microscopia Eletrônica de Varredura. Detalhe da figura anterior(15.000x).

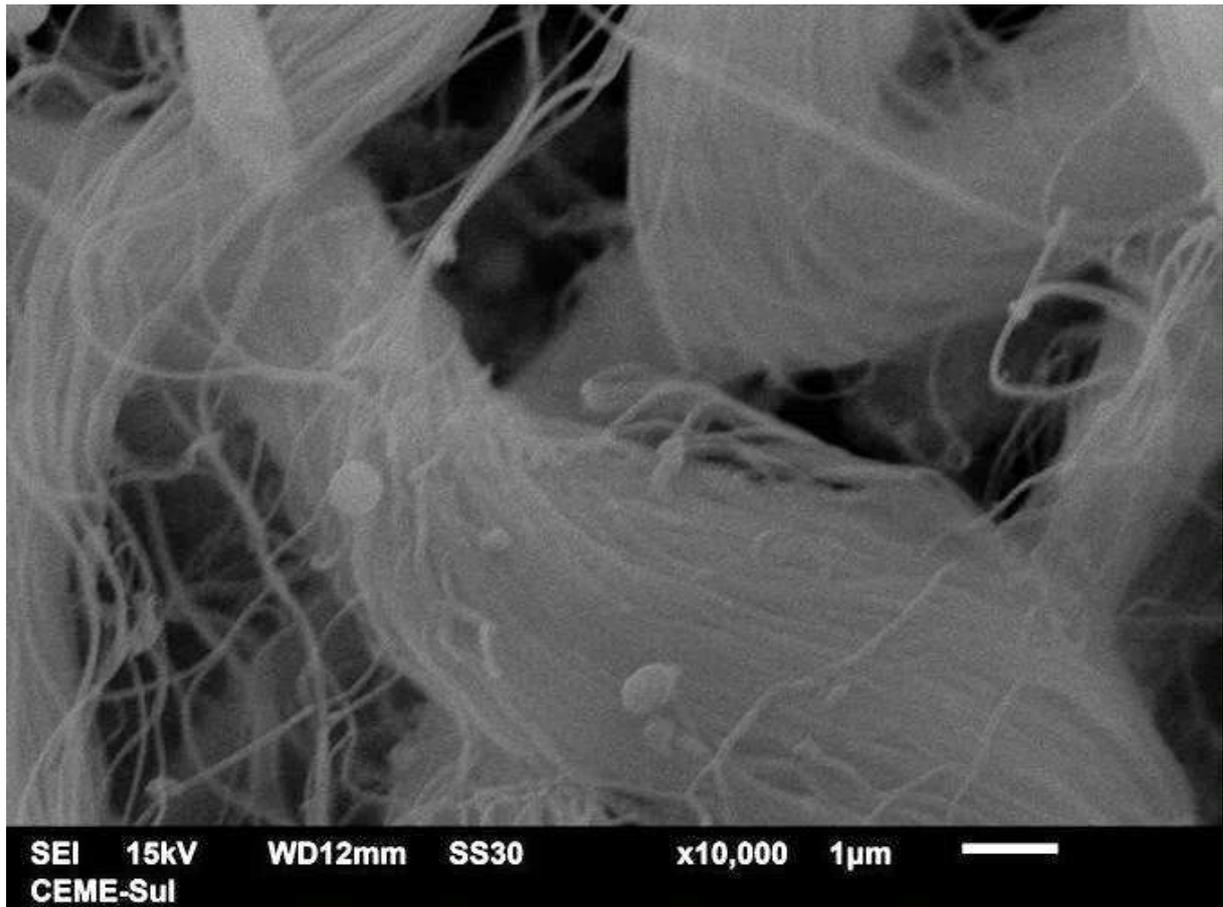


Figura 75: Microscopia Eletrônica de Varredura. Feixe colágeno normal (10.000x).

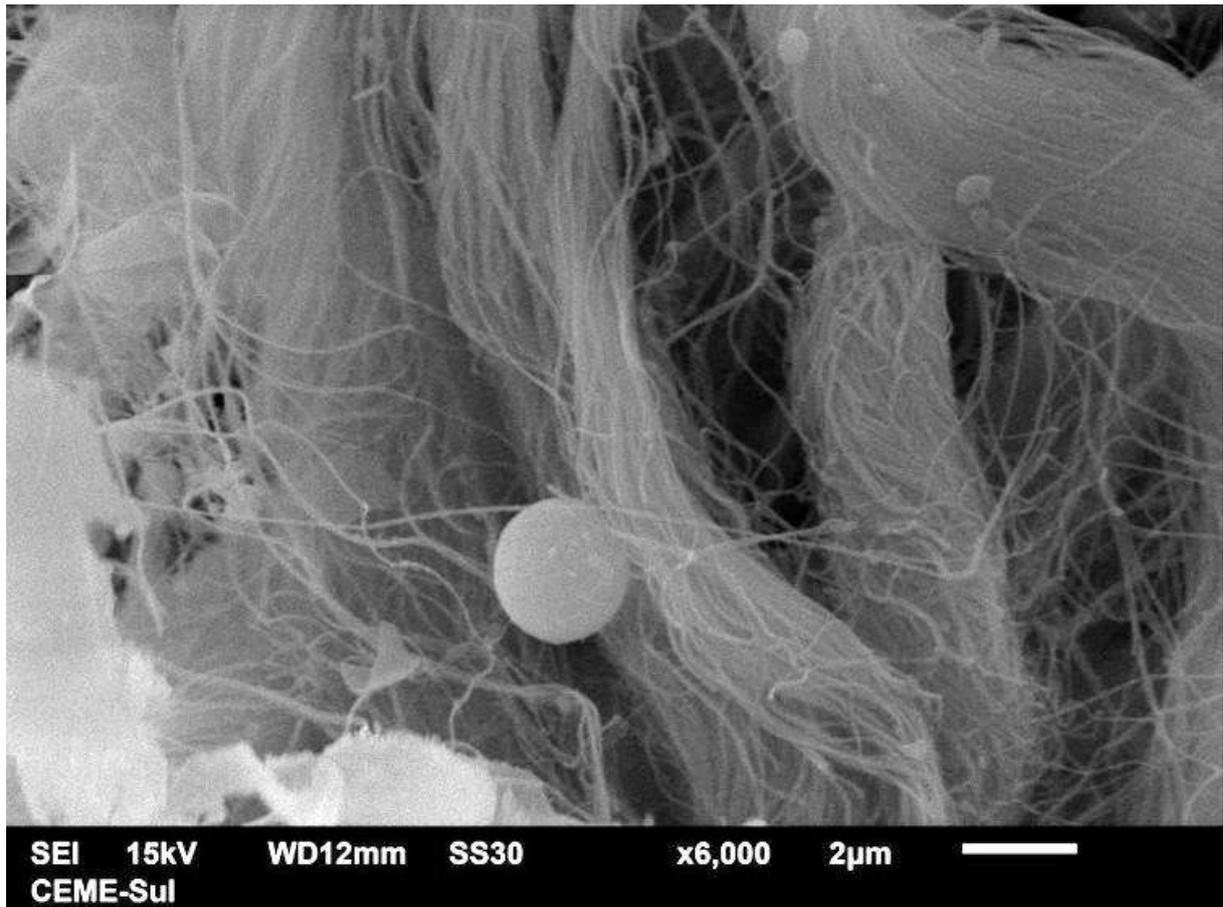


Figura 76: Microscopia Eletrônica de Varredura. Pequeno depósito oval (6.000x).

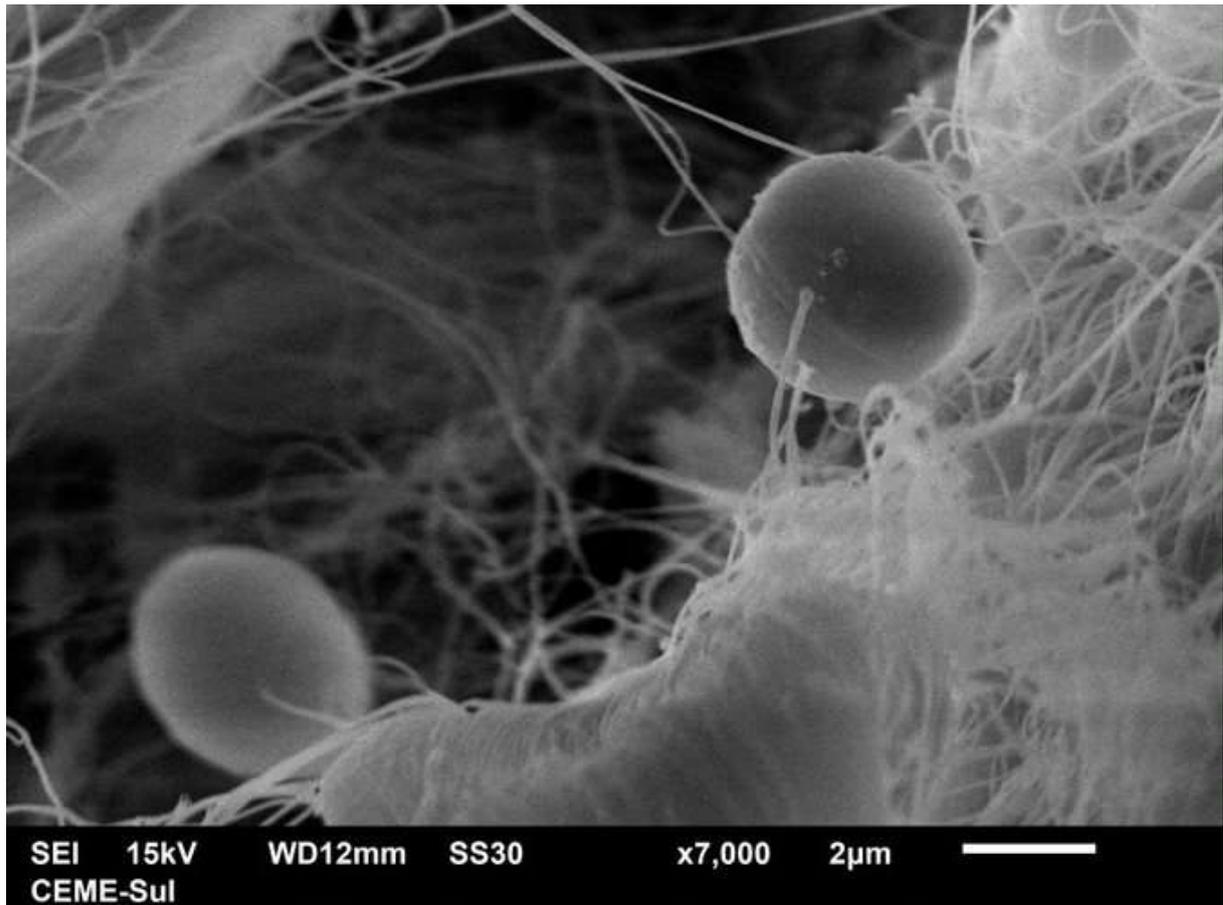


Figura 77: Microscopia Eletrônica de Varredura. Detalhe de dois depósitos ovais (7.000x).

CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO

O presente trabalho apresentou uma descrição detalhada das alterações cutâneas nas diferentes técnicas de microscopia disponíveis, do espécime de uma paciente com hiperpigmentação por Hidroxicloroquina, droga essa que teve seu uso “aumentado” na pandemia vigente.

Na microscopia óptica, foram confirmados os achados classicamente descritos na literatura, com aumento de melanina na camada basal epidérmica e derme superficial. Nesse caso, não foram evidenciados acúmulos de hemossiderina na derme, como é relatado em alguns casos.

Na derme média foram identificadas estruturas ovais, que seguramente passam despercebidas no exame histológico convencional.

A maior contribuição desse trabalho foi a descrição morfológica pormenorizada desses depósitos na Microscopia Eletrônica (Transmissão e Varredura), ainda não relatada na literatura, segundo a revisão realizada, o que torna esse registro pioneiro.

Na técnica de MET, foram encontradas na derme superficial estruturas sólidas de formato ovalado, superfície irregular, com grânulos enegrecidos no interior. Essa descrição não corresponde às estruturas dérmicas esperadas normalmente.

No contexto da MEV, foram encontradas e descritas estruturas arredondadas, ora ovaladas, de superfície aparentemente lisas, bem definidas, distribuídas entre os feixes de colágeno dérmico, não correspondendo a qualquer estrutura da derme normal.

Dessa forma, pode-se pensar que possivelmente essas estruturas sejam depósitos do próprio fármaco no tecido.

Como limitação deste trabalho, tem-se o fato de ser apenas um caso, não permitindo-nos generalizar tais achados para todos os casos de hiperpigmentação por antimaláricos, principalmente a HCQ. Necessita-se que outros casos com esse efeito adverso sejam examinados com as técnicas de ME aqui descritas, a fim de confirmar se tais estruturas estão presentes e com mesma morfologia.

PROPOSTA DE ARTIGO

A proposta de artigo foi submetida aos Anais Brasileiros de Dermatologia.

ASPECTOS DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA EM UM CASO DE HIPERPIGMENTAÇÃO CUTÂNEA POR HIDROXICLOROQUINA

INTRODUÇÃO

A hidroxiclороquina é utilizada comumente na Dermatologia para o tratamento de doenças autoinflamatórias. É um medicamento da classe dos antimaláricos com vários efeitos antiinflamatórios e que possui grande capacidade de depósito em tecidos que sintetizam melanina.¹ Como consequência, a qualquer momento do uso da medicação, pode-se apresentar hiperpigmentação de diversas áreas corporais, independentemente da dose.² Diferente da sua microscopia óptica, que é bem descrita, a literatura carece de informações a respeito da descrição ultraestrutural desse fenômeno, através da microscopia eletrônica, que é o objetivo desse trabalho. Apresentamos aqui uma descrição detalhada das alterações cutâneas nas diferentes técnicas de microscopia disponíveis, do espécime de uma paciente com hiperpigmentação por hidroxiclороquina.

RELATO DE CASO

Mulher 65 anos, há 6 meses tratando uma Alopecia Fibrosante Frontal, com hidroxiclороquina 400 mg dia, começou a apresentar pigmentação castanho-acinzentada difusa, com predomínio em áreas foto-expostas (figura 1) e coxas. Não havia alteração mucosa oral. Em consulta com oftalmologista, não havia sinais de pigmentação da íris ou retina. Optou-se por orientar quanto à fotoproteção e redução da dose para dias alternados. Entretanto, mesmo com as medidas adotadas, houve piora progressiva da pigmentação cutânea, causando desconforto estético na paciente, quando foi suspensa a medicação e então realizada biópsia de pele. Após a suspensão a paciente passou a apresentar melhora progressiva do quadro cutâneo.

RESULTADOS

O exame com microscopia óptica, corado pela técnica com HE, evidenciou hiperpigmentação na camada basal da epiderme, sem outras alterações estruturais. Em grande aumento, notam-se

pequenas estruturas basofílicas de formato oval, em meio aos feixes de colágeno (figura 2a). Estas estruturas não correspondem a qualquer componente anatômico dérmico. Com grandes aumentos essas aparecem agrupadas ou isoladamente (Figura 2b e c). Anexos cutâneos como glândulas sudoríparas, glândulas sebáceas e músculo eretor do pelo não são afetados.

Com a microscopia eletrônica de transmissão depósitos semelhantes foram vistos na derme média. Essas estruturas foram vistas isoladamente, formando linhas (Figura 3 a) ou agrupadas (Figura 3b). Com grandes aumentos fica evidente o aspecto ovalado e o interior com pontos elétron-densos (figura 4a e b).

Na microscopia eletrônica de varredura pôde-se de forma tridimensional identificar estruturas semelhantes às vistas com as outras duas técnicas (figura 5a), medindo ao redor de 4 micra (Figura 5b).

DISCUSSÃO

A Hidroxicloroquina (HCQ) é uma medicação amplamente utilizada na Dermatologia, para doenças autoimunes e autoinflamatórias, por exemplo: Lúpus Eritematoso Sistêmico, Artrite Idiopática Juvenil, Artrite Reumatóide, Liquen Plano, Fotodermatoses e as Alopecias Linfocíticas Cicatriciais.¹⁻³

Entre seus diversos para-efeitos, é bem conhecida a sua grande capacidade de se depositar em tecidos produtores de melanina, chegando a concentrações 20-200.000 vezes maior que a plasmática.¹ Entre os tecidos que atingem maior concentração, estão o ocular e a pele.

A hiperpigmentação causada pela HCQ acomete entre 10-30% dos usuários, não possui relação direta com a retinopatia causada pela droga, independe da dose e pode acontecer a qualquer momento a partir do início do uso da medicação.^{2,4-11}

Com nossos achados com microscopia óptica (MO), foram visualizados os achados típicos da pigmentação da camada basal epidérmica, além de depósitos ovalados na derme média, os quais seguramente podem passar despercebidos, dada a estrutura normal da derme.^{10,12} Nesse caso, não foram evidenciados acúmulos de hemossiderina na derme, como é relatado em alguns casos.¹³⁻¹⁵

Não há registro na literatura dos achados no que diz respeito à Microscopia Eletrônica (ME), seja pelo método de Transmissão (MET), como pelo de Varredura (MEV). Na técnica de MET, foram encontradas na derme superficial estruturas sólidas de formato ovalado, superfície irregular, com

grânulos enegrecidos no interior. Essa descrição não corresponde às estruturas dérmicas fisiológicas. De forma semelhante com a MEV, foram encontradas estruturas arredondadas, ora ovaladas, de superfície aparentemente lisas, bem definidas, distribuídas entre os feixes de colágeno dérmico, também não correspondendo a qualquer estrutura da derme normal.

Dessa forma, toma-se essas estruturas como depósitos do próprio fármaco no tecido.

Como limitação deste trabalho, tem-se o fato de ser apenas um caso, não permitindo generalizar tais achados para todos os casos de hiperpigmentação por antimaláricos, principalmente a HCQ. Necessita-se que outros casos com esse efeito adverso sejam examinados com as técnicas de ME aqui descritas, a fim de confirmar se tais estruturas estão presentes e com mesma morfologia.

BIBLIOGRAFIA

1. Millard, TP, Kirk A, Ratnavel R. Cutaneous hyperpigmentation during therapy with hydroxychloroquine. *Clinical and Experimental Dermatology*, 29: 92-93.
2. Eljaaly K, Alireza KH, Alshehri S, et al. Hydroxychloroquine safety: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Travel Medicine and Infectious Disease* 36 (2020) 101812.
3. Leung AKC, McMillan T, Human A, et al. Hydroxychloroquine-induced hyperpigmentation in a 14-year-old female with systemic lupus erythematosus. *Drugs in Context* 2020; 9: 2020-5-8.
4. Amichai B, Gat Andera, Grunwald MH. Cutaneous Hyperpigmentation During Therapy With Hydroxychloroquine. *Journal of Clinical Rheumatology*. Volume 13, Number 2, April 2007.
5. Bahloul E, Jallouli M, Garbaa S, et al. Hydroxychloroquine-Induced Hyperpigmentation in Systemic Diseases: Prevalence, Clinical Features and Risk Factors: A Cross-Sectional Study of 41 Cases. *Lupus*, 26, 1304-1308.

6. Bajoghli A, Hernandez G, Cardis MA. Hydroxychloroquine-induced Hyperpigmentation. *The Journal of Rheumatology* 2020;47:1721–2.
7. Ivo R, Lopes CA, Reis R. Woman in grey: hydroxychloroquine-induced hyperpigmentation. *BMJ Case Rep* 2018;11:e227305.
8. Jallouli M, Francès C, Piette JC, et al. Hydroxychloroquine-induced pigmentation in patients with systemic lupus erythematosus: a case-control study. *JAMA Dermatol.* 2013 Aug;149(8):935-40.
9. Melikoglu MA, Melikoglu M, Gurbuz U, et al. Hydroxychloroquine-induced hyperpigmentation: a case report. *J Clin Pharm Ther.* 2008 Dec;33(6):699-701.
10. Puri PK, Lountzis NI, Tyler W, et al. Hydroxychloroquine-induced hyperpigmentation: the staining pattern. *J Cutan Pathol* 2008; 35: 1134–1137.
11. Shippey EA, Wagler VD, Collamer AN. Hydroxychloroquine: An old drug with new relevance. *Cleve Clin J Med.* 2018 Jun;85(6):459-467.
12. Kasper RS, Flueckiger B, Gobbi S, et al. Hydroxychloroquine-induced hyperpigmentation. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2014 Feb;12(2):158-61.
13. Kalabalikis D, Patsatsi A, Trakatelli M, et al. Hyperpigmented Forearms and Nail: A Quis. *Acta Derm Venereol* 2010; 90: 657-659.
14. Rood MJ, Vermeer MH, Huizinga TMJ. Hyperpigmentation of the skin due to hydroxychloroquine. *Scand J Rheumatol* 2008;37:158–160.

15. Tracy CL, Blakey B, Parker G, et al. Hydroxychloroquine-induced hyperpigmentation. *J Clin Rheumatol*. 2013 Aug;19(5):292.



Figura 1 – Aspecto clínico da hiperpigmentação acastanhada em antebraços, entremeada por Leucodermia Gutata.

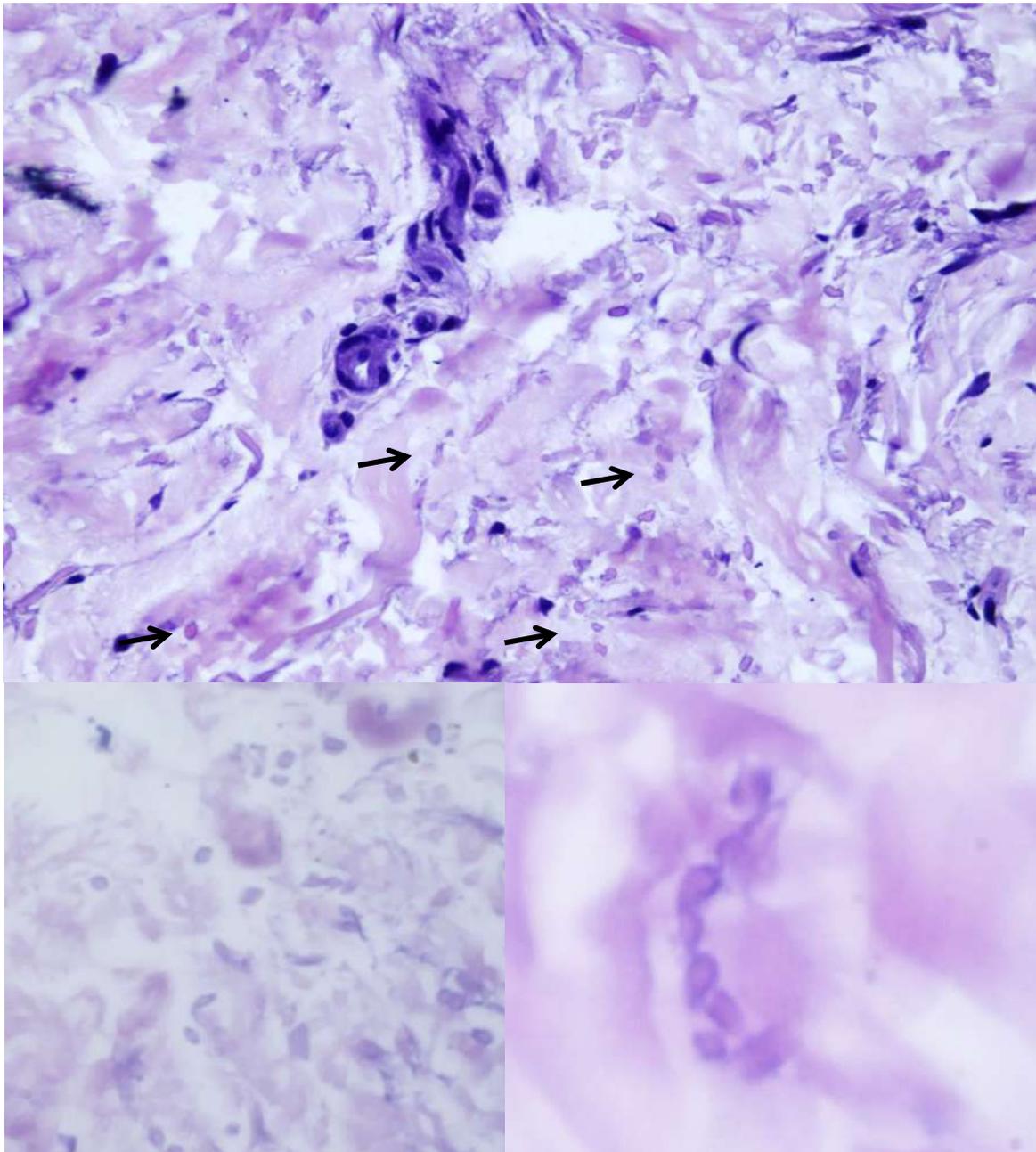


Figura 2 – Microscopia óptica. a. presença de depósitos ovais na derme média (setas) HE (x200). b. grande aumento demonstrando estruturas ovais basofílicas na derme média, HE (x400). c. estruturas ovais dispostas em linha, HE (x400).

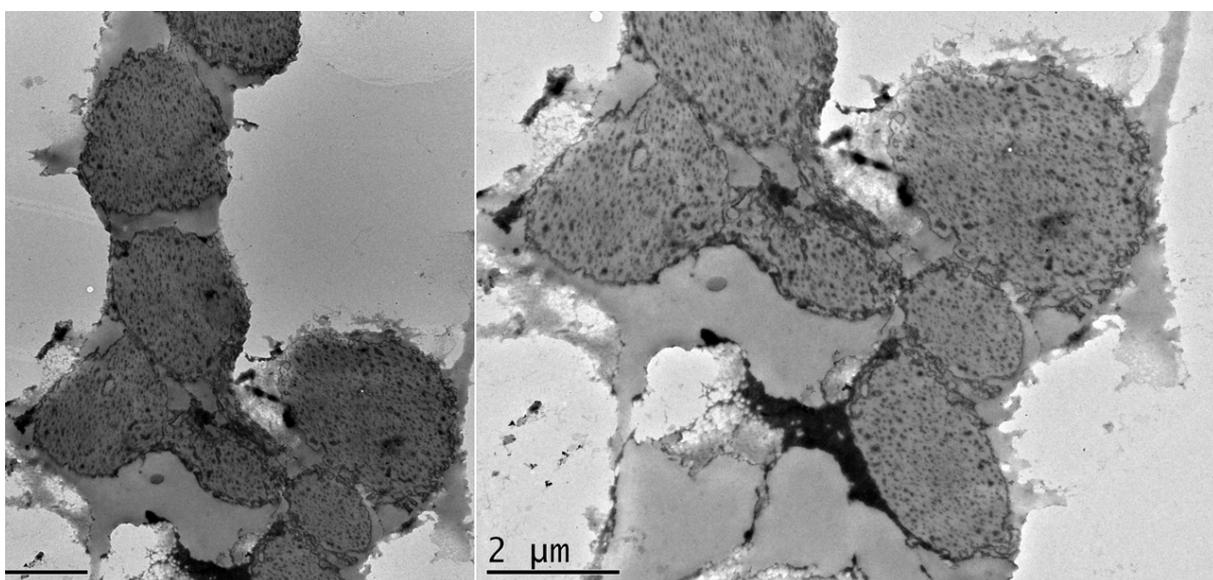


Figura 3 – Microscopia eletrônica de Transmissão. a. depósitos ovalados dispostos em linha (x10.000). b depósitos ovalados dispostos de forma agrupada (x15.000).

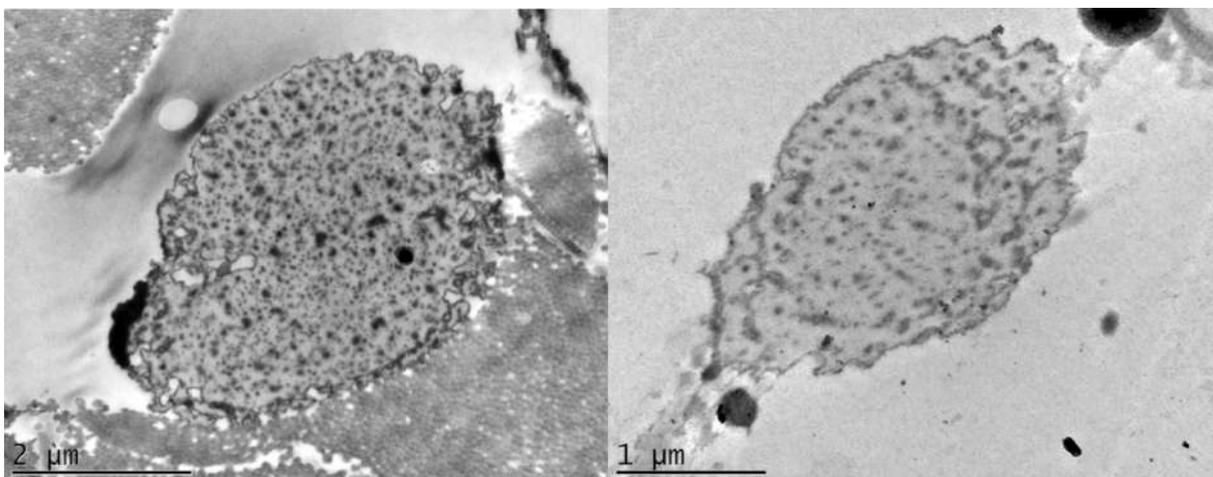


Figura 4 – Microscopia eletrônica de Transmissão. Detalhe dos depósitos ovalados em grande aumento, demonstrando pontos elétron-densos no seu interior (x25.000 e x40.000).

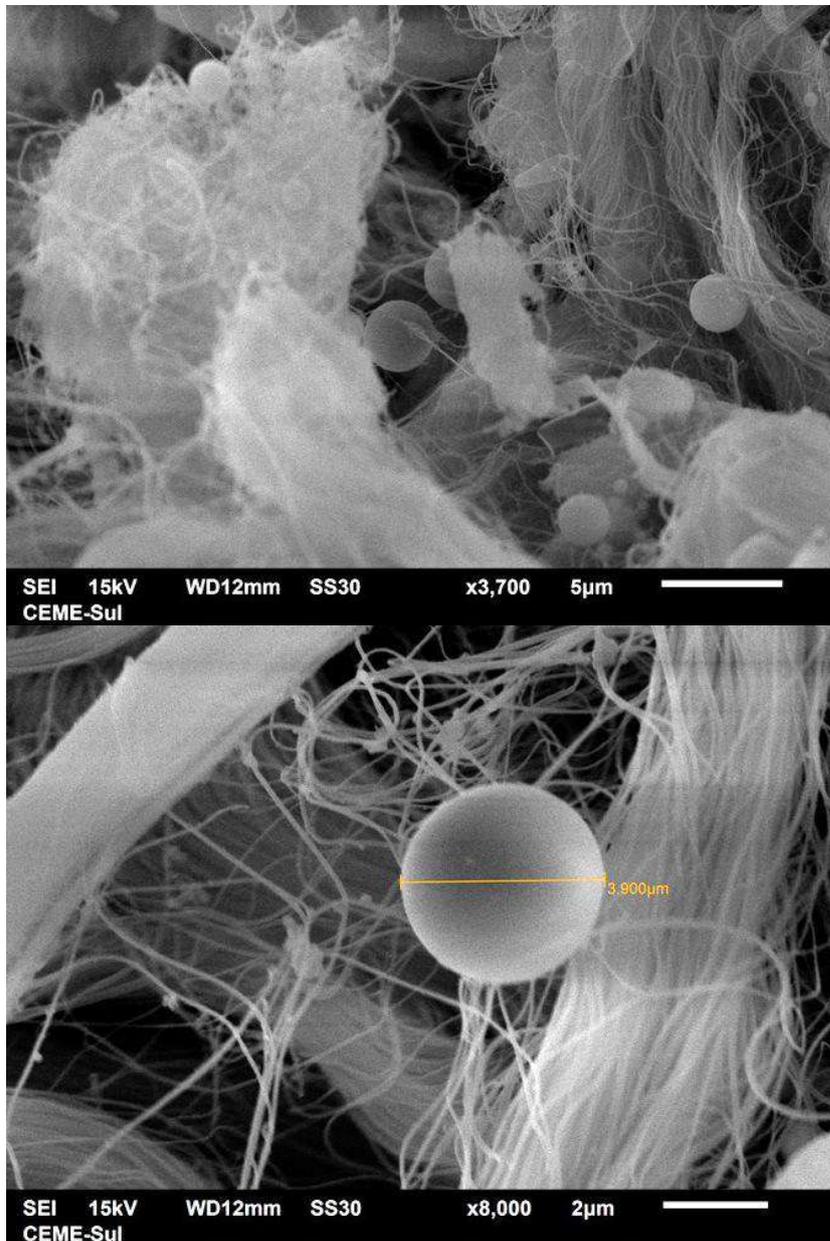


Figura 5 – Microscopia eletrônica de varredura. a. pequeno aumento com presença de 6 estruturas arredondadas entre fixes colágenos (x3.700). b. Detalhe de uma dessas estruturas medindo ao redor de 4 micra (x8.000).

ANEXO**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PELOTAS**

Prezada participante,

Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa intitulada “ASPECTOS DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA EM UM CASO DE HIPERPIGMENTAÇÃO CUTÂNEA POR HIDROXICLOROQUINA”.

Antes de participar deste estudo, gostaríamos que você conhecesse o que ele envolve.

OBJETIVO DO ESTUDO: Este estudo tem por objetivo mostrar os aspectos estruturais, na técnica de microscopia eletrônica, quando a medicação hidroxiclороquina causa alteração da coloração da pele do usuário, por depósitos de razão ainda pouco compreendida, mas de grande importância, uma vez que essa medicação vem sendo amplamente utilizada para diversas doenças. Além disso, como pouco se sabe sobre esse tipo de análise, o caso poderá ajudar a outros médicos e pesquisadores a entender o que acontece com essa medicação na pele e como melhor orientar e tratar seus pacientes.

PROCEDIMENTOS: Um pequeno fragmento de pele será retirado através de biópsia (com um material chamado punch), será submetido à análise por médico patologista através da técnica de microscopia óptica e

coloração usada rotineiramente, além de uma parte do fragmento ser enviada para corte e análise específicos de uma técnica chamada microscopia eletrônica, onde se procura observar de forma mais pormenorizada, o que acontece na pele com alteração de cor pela medicação.

RISCOS: Os riscos são pequenos e momentâneos, como desconforto no local da biópsia, vermelhidão e equimose, bem como diminuta cicatriz, de caráter permanente. O local será suturado, devendo-se manter alguns cuidados, orientados pelo seu médico, até a cicatrização completa. Existe, mesmo que mínima, a chance de identificação do paciente relatado no caso, gerando algum desconforto para o paciente, do ponto de vista social e/ou emocional.

BENEFÍCIOS: Os benefícios de participar desta pesquisa são o de ter acompanhamento da equipe de pesquisa, que conta com profissionais da saúde em tempo integral durante todo o período do estudo e acompanhamento durante todo o primeiro ano de vida. Além disso, a segurança da vacina brasileira já foi testada em outro estudo prévio, mostrando mesmo perfil de efeitos adversos leves, não tendo sido relatado nenhum efeito adverso grave e a eficácia, com dose menor do que a usada no presente estudo, apenas levemente menor que a da vacina padrão.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA: Gostaria de salientar que você participa de forma totalmente voluntária desse estudo, estando livre para não participar ou mesmo desistir da participação e negar a utilização dos seus dados, a qualquer momento em que desejar, sem que isso lhe traga qualquer tipo de prejuízo no atendimento tratamento médico.

DESPESAS: Não haverá qualquer tipo de custo para a participação da pesquisa, bem como serão cobertos pelo pesquisador os gastos com as referidas análises para o estudo.

CONFIDENCIALIDADE: Gostaríamos de lhe assegurar a total confidencialidade do estudo, não sendo divulgado qualquer informação sobre o participante e sua família, em qualquer momento durante o estudo nem mesmo quando da publicação dos resultados.

CONSENTIMENTO: Recebi claras explicações sobre o estudo, todas registradas neste documento de consentimento. Os investigadores do estudo responderam e responderão, em qualquer etapa do estudo, a todas as minhas perguntas, até a minha completa satisfação. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Católica de Pelotas.

ATENÇÃO: Qualquer dúvida ou consideração sobre a pesquisa, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável pelo telefone: (53) 981115084 e e-mail: ralphvrosa@gmail.com

O presente documento foi assinado em duas vias de igual teor, ficando uma com o voluntário da pesquisa ou seu representante legal e outra com o pesquisador responsável.

Portanto, estou de acordo em autorizar a participação de minhas informações e fotos no estudo.

DATA: ____ / ____ / _____

Nome e assinatura do participante do estudo

DECLARAÇÃO DE RESPONSABILIDADE DO INVESTIGADOR: Expliquei a natureza, objetivos, riscos e benefícios deste estudo. Coloquei-me à disposição para perguntas e as respondi em sua totalidade. O participante compreendeu minha explicação e aceitou, sem imposições, assinar este consentimento. Tenho como compromisso, utilizar os dados e o material coletado, apenas para a publicação de minha tese de mestrado e artigos científicos referentes a essa pesquisa.

Nome e assinatura do pesquisador responsável

Universidade Católica de Pelotas

Rua Gonçalves Chaves, 373 - Centro, Pelotas - RS, 96015-560, Telefone: (53) 2128-8243

Ralph Vighi da Rosa

Mestrado em Saúde e Comportamento da UCPel