

Uniwersytet Jagielloński

Collegium Medicum

Wydział Lekarski

Katarzyna Podolec

Ocena wybranych czynników ryzyka oraz czynników prognostycznych w diagnostyce obrazowej z zastosowaniem wideodermatoskopii i refleksyjnej mikroskopii konfokalnej w odniesieniu do badania histopatologicznego u pacjentów z czerniakami skóry.

Praca doktorska

Promotor: prof. dr hab. n. med. Anna Wojas-Pelc

Pracę wykonano w Katedrze i Klinice Dermatologii UJCM

Kierownik jednostki: prof. dr hab. n. med. Anna Wojas-Pelc

Kraków, rok 2020

Pani Profesor dr hab. Annie Wojas – Pelc za umożliwienie rozwoju naukowego,
nieustanną inspirację oraz poświęcony czas.

Rodzicom, za zaszczepienie we mnie pasji do medycyny.

Moim Najbliższym za wiarę we mnie i wsparcie.

SPIS TREŚCI

1. WYKAZ PUBLIKACJI STANOWIĄCYCH ROZPRAWĘ DOKTORSKĄ.....	4
2. WSTĘP I UZASADNIENIE PRACY.....	5
3. CELE PRACY.....	9
4. PUBLIKACJE.....	10
5. METODOLOGIA PRAC SKŁADAJĄCYCH SIĘ NA DYSERTACJĘ.....	32
6. PODSUMOWANIE WYNIKÓW.....	34
7. WNIOSKI.....	36
8. IMPLIKACJE PRAKTYCZNE.....	37
9. PIŚMIENNICTWO.....	39
10. STRESZCZENIE.....	41
11. ABSTRACT.....	43
12. OŚWIADCZENIA WSPÓŁAUTORÓW.....	45

1. WYKAZ PUBLIKACJI STANOWIĄCYCH ROZPRAWĘ DOKTORSKĄ

Dermoscopic features in different dermatopathological stages of cutaneous melanomas.

Katarzyna Podolec, Agnieszka Bronikowska, Magdalena Pirowska, Anna Wojas-Pelc

Postępy Dermatologii i Alergologii/Advances in Dermatology and Allergology. 2019.

doi:10.5114/ada.2019.83221.

Diagnostic accuracy of reflectance confocal microscopy for pigmented skin lesions presenting dermoscopic features of cutaneous melanoma.

Katarzyna Podolec, Magdalena Pirowska, Grzegorz Dyduch*, Anna Wojas-Pelc

Postępy Dermatologii i Alergologii/Advances in Dermatology and Allergology. 2019.

doi:10.5114/ada.2019.82742.

Predictive value of global dermoscopic pattern in patients diagnosed with cutaneous melanoma.

Katarzyna Podolec, Paweł Brzewski, Magdalena Pirowska, Anna Wojas-Pelc

Postępy Dermatologii i Alergologii/Advances in Dermatology and Allergology.

<https://doi.org/10.5114/ada.2020.94593>

2. WSTĘP I UZASADNIENIE PRACY

Czerniak skóry jest nowotworem złośliwym rozwijającym się w wyniku złośliwej transformacji melanocytów – komórek produkujących barwnik, wywodzących się z komórek neuroektodermy. Przyczyny złośliwej transformacji melanocytów na dzień dzisiejszy nie są dokładnie poznane – do czynników ryzyka rozwoju czerniaka skóry zalicza się dodatni wywiad osobniczy i rodzinny, I i II fototyp skóry według Fitzpatricka, dużą liczbę znamion melanocytowych oraz ekspozycję na promieniowanie ultrafioletowe[1]–[6]. Czerniak skóry należy do nowotworów o najmniej przewidywalnym przebiegu. Podobnie jak w innych krajach w Polsce od kilkudziesięciu lat obserwuje się gwałtownie wzrastającą zachorowalność oraz umieralność z powodu tego nowotworu. Szacuje się, że w latach 1980-2010 zachorowalność na czerniaka skóry wzrosła 2- krotnie zarówno wśród mężczyzn jak i kobiet w wieku 20-44 lat, 3 - krotnie u pacjentów w wieku 45-64 lat oraz ponad 3 - krotnie u kobiet w wieku emerytalnym i 5 - krotnie wśród mężczyzn w tym wieku. Standaryzowany współczynnik zapadalności wynosi obecnie 10,3/100000 dla obywateli Polski, a współczynnik umieralności wynosi odpowiednio 6,3 dla mężczyzn oraz 4 dla kobiet. Mimo, że czerniak jest rozpoznawany rzadziej niż większość złośliwych nowotworów skóry (około 4% wszystkich przypadków nowotworów skóry), ze względu na przebieg jest przyczyną 80% zgonów pacjentów dermatologicznych z przyczyn nowotworowych[7],[8].

U pacjentów z rozpoznaniem czerniakiem skóry terapią z wyboru jest leczenie chirurgiczne, a rokowanie u pacjenta ściśle uzależnione jest od stopnia zaawansowania nowotworu. Za najważniejsze wskaźniki prognostyczne uznawane są obecnie głębokość nacieku wertykalnego guza w skali Breslow, występowanie owrzodzeń na powierzchni zmiany i indeks mitotyczny. Według dostępnych danych w literaturze medycznej 5 letnia przeżywalność u pacjentów z czerniakiem usuniętym w stadium *in situ* wynosi 97-99%, w postaci naciekającej zlokalizowanej 60-90%, a w grupie ze stwierdzonymi przerzutami odległymi lub do węzłów chłonnych zaledwie 25-65%.

Zgodnie z zaleceniami postępowania terapeutycznego – czerniaki w stadium $\leq pT1a$ leczone są przez usunięcie chirurgiczne z marginesem 0,5-1 cm. W przypadku guzów $>pT1a$ zwykle wymagane jest wykonanie biopsji węzła wartownika, często z następowym dalszym leczeniem chirurgicznym i farmakologicznym[9]. Ze względu na niekorzystne zmiany w przeżywalności pacjentów w zależności od stopnia zaawansowania choroby oraz znaczne koszty terapii choroby przerzutowej coraz większy nacisk stawiany jest na wczesną nieinwazyjną diagnostykę czerniaków[7].

Dermoskopia zmian barwnikowych (melanocytowych) skóry, stanowiąca relatywnie szybkie, powtarzalne oraz niedrogie badanie – pod warunkiem, że wykonywana jest przez doświadczonego dermatologa - pozwala na wczesne rozpoznanie nowotworu. Bardziej zaawansowanym technicznie badaniem – pozwalającym uzyskać wyższe powiększenia obrazu – oraz dającym możliwość obserwacji zmian zachodzących w obrębie struktur melanocytowych skóry i jej przydatków jest wideodermatoskopia. Kolejnym krokiem, umożliwiającym wczesną oraz bardziej precyzyjną diagnostykę w porównaniu do dermatoskopii jest refleksyjna mikroskopia konfokalna *in vivo* (RCM). Zastosowana technologia daje możliwość obserwacji poszczególnych warstw naskórka oraz powierzchniowych warstw skóry właściwej na poziomie komórkowym w czasie rzeczywistym.

Pierwsze opisy badań mikroskopowych skóry *in vivo* pochodzą z 1663 roku, kiedy Johan C. Kolhaus odkrył drobne naczynia krwionośne w obrębie wałów paznokciowych za pomocą mikroskopu świetlnego. Pierwszy dokładny opis możliwości mikroskopowej oceny powierzchni skóry został przedstawiony przez Saphier'a, który też po raz pierwszy w latach 20. XX-go wieku wprowadził pojęcie „dermatoskopia”. Jednak dopiero w 1951 L. Goldman jako pierwszy opisał obraz dermatoskopowy znamion melanocytowych. Po około 30 latach – pod koniec XX wieku dzięki pracom P. Soyera oraz H. Pehambergera nastąpił gwałtowny rozwój dermatoskopii jako metody oceny zmian melanocytowych skóry [10].

We współczesnej praktyce dermatologicznej dermatoskopia umożliwia obserwację struktur oraz kolorów naskórka i skóry właściwej wykorzystując powiększenia rzędu 10 – 20 x w dermoskopach ręcznych oraz 10 - 200-krotne powiększenia w wideodermatoskopach [11]. Pozwala na to szczególne oświetlenie zmian skórnych z zastosowaniem światła niespolaryzowanego oraz imersji lub światła spolaryzowanego. Wymienione sposoby oświetlenia zmian redukują odbicia i rozproszenie światła przez warstwę rogową naskórka co przekłada się na możliwość obserwacji głębiej położonych struktur.

Obecnie w diagnostyce dermoskopowej zmian barwnikowych zastosowanie znajdują najczęściej: skala ABCD, algorytm Menziesa, włoska skala 7-punktowa, skala 3-punktowa lub analiza wzorca. Skala ABCD opiera się na analizie 4 głównych kryteriów dermatoskopowych, kolejno: A – asymetria(asymetry), B – granica (border), C – kolor (colour), D – średnica (diameter) lub struktury różnicujące (differential structures). Obecnie ten rodzaj analizy wykorzystywany jest głównie przez lekarzy pierwszego kontaktu. Pozostałe skale najczęściej poddają ocenie występowanie lub brak oraz symetrię układu wyróżnianych w dermoskopii struktur: siatki barwnikowej, kropek, globul (ciałek skupionych), pseudocyst,

pseudozaskorników, struktur *chrysalis-like*, objawu welonu, wzorca naczyniowego, pseudopodiów, smug, obszarów homogennych oraz struktur regresji. Dzięki licznym badaniom udowodniono, że zastosowanie dermoskopii w diagnostyce czerniaka skóry cechuje się czułością i swoistością na poziomie 65-90%. Przy jej wykorzystaniu do oceny złożonych struktur dermoskopowych możliwe jest wcześniejsze postawienie podejrzenia czerniaka skóry i co za tym idzie wdrożenie leczenia chirurgicznego. Użycie wideodermatoskopii umożliwia lekarzom obserwowanie zmian skórnych w większych powiększeniach niż w przypadku dermatoskopów ręcznych, jak również pozwala na sekwencyjną obserwację zmian w czasie poprzez tworzenie „mapy” zmian skórnych pacjenta. Możliwość dokładnego porównania wykonanych obrazów często w wielomiesięcznych odstępach czasu pozwala na ocenę zachodzących w nich zmian mogących świadczyć o rozwoju procesie nowotworowego.

W refleksyjnych mikroskopach konfokalnych zastosowanie monochromatycznego światła lasera diodowego emitującego wiązkę o długości fali 830 nm umożliwia uwidocznienie warstw skóry na głębokość 200- 300 μm bez ryzyka uszkodzenia tkanek. Pozwala to na obserwację skóry w powiększeniach na poziomie komórkowym przeważnie do głębokości warstwy brodawkowatej (w zależności od ocenianej okolicy). Pojedynczy obraz uzyskany z zastosowaniem RCM obejmuje zakres 500x500 μm . W celu obserwacji większych obszarów wykorzystywane jest oprogramowanie umożliwiające połączenie sekwencyjnie wykonanych obrazów w mozaikę obejmującą zakres nawet do 8x8 mm (ang. VivaBlock). Ponadto istnieje możliwość automatycznego wykonania sekwencji obrazów na poszczególnych głębokościach naskórka oraz skóry właściwej w wybranym polu widzenia, co pozwala na stworzenie trójwymiarowego zarysu wybranego pola (ang. VivaStack). Cechą odróżniającą mikroskopię konfokalną *in vivo* od standardowej mikroskopii jest możliwość obserwacji przepływu krwi oraz migracji leukocytów dzięki posiadanej przez mikroskop funkcji nagrania sekwencji wideo wybranego pola widzenia. RCM coraz częściej znajduje zastosowanie jako metoda diagnostyczna drugiego stopnia dla dermatoskopowej diagnostyki wczesnych czerniaków skóry.

Coraz dokładniejsza znajomość procesów patologicznych towarzyszących wzrostowi czerniaka skóry pozwala na przyporządkowanie poszczególnych objawów diagnostycznych zmianom zachodzącym w obrębie guza. Jednak w literaturze obecnie są jedynie nieliczne doniesienia próbujące opisać zależność pomiędzy szczegółowymi wynikami dermatoskopii i refleksyjnej mikroskopii konfokalnej a stopniem histopatologicznego zaawansowania czerniaków skóry. Uwzględniając występowanie charakterystycznych cech dermoskopowych,

globalnego wzorca znamion oraz obrazu zmian w RCM w świetle wyników badań histopatologicznych podjęto próbę oceny korelacji uzyskanych wyników badań.

3. CELE PRACY

- I. Ocena korelacji pomiędzy występowaniem wybranych struktur dermoskopowych (regresji, pepperingu, białoniebieskiego zamglenia, atypowych naczyń krwionośnych/atypowych struktur naczyniowych, atypowej siatki barwnikowej, atypowych kropek i globul, nieregularnych smug, pseudopodiów, guzków i wzorca wieloskładnikowego) a lokalizacją czerniaka na skórze oraz stopniem zaawansowania histopatologicznego nowotworu z uwzględnieniem skali Breslow, indeksu mitotycznego oraz obecności/braku owrzodzenia w obrębie guza.
- II. Ocena czułości i swoistości wyników badań z zastosowaniem refleksyjnej mikroskopii konfokalnej jako narzędzia drugiego stopnia ewaluacji melanocytowych zmian skórnych spełniających kryteria podejrzenia czerniaka w badaniu dermoskopowym.
- III. Ocena korelacji pomiędzy występowaniem dominującego wzorca znamion melanocytowych u pacjentów z rozpoznanym czerniakiem skóry w odniesieniu do ich płci oraz lokalizacji ogniska pierwotnego.

4. PUBLIKACJE

Publikacja nr 1

Dermoscopic features in different dermatopathological stages of cutaneous melanomas.

Katarzyna Podolec, Agnieszka Bronikowska, Magdalena Pirowska, Anna Wojas-Pelc

Postępy Dermatologii i Alergologii/Advances in Dermatology and Allergology. 2019.

doi:10.5114/ada.2019.83221.

Dermoscopic features in different dermatopathological stages of cutaneous melanomas

Katarzyna Podolec, Agnieszka Bronikowska, Magdalena Pirowska, Anna Wojas-Pelc

Department of Dermatology, Jagiellonian University Medical College, Krakow, Poland

Adv Dermatol Allergol

DOI: <https://doi.org/10.5114/ada.2019.83221>

Abstract

Introduction: Due to the rising incidence of cutaneous melanoma there is a great need for the development of new diagnostic techniques as well as the improvement of those that are already well known, such as dermoscopy. Since early detection and a proper technique for excising the tumor are crucial for patients' survival, early staging of the tumor is very important.

Aim: To investigate whether there is a significant difference between the presence of selected dermoscopic features compared to the location on the skin and pathology results: Breslow's depth, mitotic index and ulceration.

Material and methods: We examined videodermoscopic images of cutaneous melanomas in 81 patients and compared their features with the histological results such as Breslow's depth, mitotic index and ulceration. In the study, we divided and compared the tumors in groups: *in situ* and invasive, ≤ 1.0 mm and > 1.0 mm thick on the Breslow scale.

Results: In the study we observed statistically significantly higher prevalence of pseudopods (30.5%) and multicomponent pattern (69.5%) in invasive melanomas in comparison to *in situ* melanomas (9.1% and 36.4% respectively). White regression structures were more commonly described in invasive melanomas thicker than 1.0 mm on Breslow's scale. Atypical blood vessels and nodules were more specific to invasive melanomas with ulcerations and mitotic index ≥ 1 . The atypical pigment network was more specific for thin invasive melanomas.

Conclusions: Presence of pseudopods, a multicomponent pattern, white regression structures, atypical blood vessels and nodules on dermoscopy suggest invasive (high stage) melanoma.

Key words: dermoscopy, melanoma, cutaneous malignant melanoma.

Introduction

Due to the rising incidence of cutaneous melanoma in Europe and increasing social awareness, the number of patients who report to dermatologists in order to assess their skin changes is growing rapidly [1, 2]. For examining melanocytic skin lesions, dermoscopes have currently become the first-line diagnostic tools since they allow the *in vivo* examination of structures in the epidermis and superficial dermis which are not accessible for naked-eye examination [3–5].

The first detailed description of the microscopic assessment of the surface of the skin was presented by Saphier, who also introduced the term *dermatoscopy* for the first time in the 1920s. It was not until 1951 in the USA that Goldman first described the dermoscopic image of melanocytic nevi. The rapid development of dermoscopy as a method of assessing melanocytic changes in

the skin occurred in the 1980s, mainly due to the work of Soyer and Pehamberger [6]. The next step was the introduction of videodermoscopy as a technique for recording and comparing images of selected skin lesions, enabling dermatologists to diagnose early stages of cutaneous melanoma [7].

In modern dermatological practice, dermoscopy (epiluminescent microscopy) is considered a non-invasive, easily reproducible and inexpensive method of the *in vivo* assessment of structures and colors within the epidermis and superficial dermis. It allows examination using 10–20 $\times$ magnification – in traditional handheld dermoscopes – and 10–200 $\times$ magnification in videodermoscopes [8]. Dermoscopy enables the clinician to examine plural diagnostic features in different skin lesions, which are normally impossible to detect with the naked eye. As a vastly researched technique it is known to have a high specificity of ≈ 65 –90% and sensitivity evaluated

Address for correspondence: Katarzyna Podolec, Department of Dermatology, Jagiellonian University Medical College, 8 Skawinska St, 31-066 Krakow, Poland, phone: +48 501 543 249, e-mail: kasiapodolec@gmail.com, katarzyna.podolec@uj.edu.pl

Received: 9.11.2018, **accepted:** 20.01.2019.

as $\approx 65\text{--}90\%$ [9–11] if performed by a well-experienced clinician [7, 12].

Breslow's depth – described in the 1970s – is a method that allows the pathologist to assess the stage of melanoma by measuring the depth of infiltration in millimeters [13]. At first staging the cutoff was applied for Breslow's depth of 0.76 mm, later updated by the American Joint Committee on Cancer to 1.0 mm (or < 1.0 mm when ulceration is present) [13, 14].

Advanced metastatic melanoma is still considered incurable in most cases, whereas early cutaneous melanomas are curable by means of surgical excision. According to guidelines in patients with cutaneous melanomas stage $\leq$ pT1a, surgical excision within the range 0.5–1 cm [15, 16] is considered curative. In patients with $>$ pT1a melanomas, usually sentinel lymph node biopsy and often subsequent surgery remain unavoidable [15–17]. Even though there are plural emerging therapies introduced in the treatment of metastatic melanomas, it still remains the case that the more advanced the disease the worse the prognosis (overall survival) for the patients [18–20]. This is why an early, accurate diagnosis is crucial for positive outcomes. Nowadays, despite the emergence of diagnostic tools such as reflectance confocal microscopy [21–24], and optical coherence tomography [25], which have been described as being more specific and sensitive than dermoscopy [24, 26, 27], their accessibility is still limited, and dermoscopy remains a first-line diagnostic tool for dermatologists [25, 28].

Aim

In the study, the goal was to decide whether there is a significant difference between the presence or absence

of each of the dermoscopic features listed in Table 1 [29–31], compared to the location on the skin and pathology results: Breslow's depth, mitotic index and ulceration.

Material and methods

In our study, we retrospectively evaluated videodermoscopic images of histopathologically confirmed melanomas in 81 patients that were diagnosed and examined at the Dermatology Department, Jagiellonian University Medical College in Krakow, Poland. The dermoscopic images were acquired using videodermoscopes (Fotofinder, TeachScreen GmbH, Bad Birnbach, Germany). For every lesion a set of at least 3 images was acquired. Entire lesions were photographed using $20\times$ magnification. In addition, local features of tumors were photographed using maximum $120\times$ magnification. The image data were collected between 2013 and 2017. The evaluation was conducted by two dermatologists with a minimum of 6 years' experience in general dermatology and dermoscopy. For the purpose of blinding the images were anonymized. For all the evaluated tumors, the patients' data were collected, including: age (at the time of diagnosis), sex, location of the primary tumor, Breslow's depth, the histological subtype of melanoma, mitotic index and information on the presence/absence of ulceration.

The examining dermatologists evaluated the lesions assessing the presence or absence of the following dermoscopic features: white regression structures; peppering; blue-white veil; atypical blood vessels/atypical vascular structures; atypical pigment network; atypical dots and globules; irregular streaks; a multicomponent (complex) pattern; pseudopods and nodules. The definitions of listed structures are available in Table 1.

Table 1. Definitions of dermoscopic structures evaluated in the study [29–31]

Pigment network	Light-to-dark brown fishnet-like pattern appearing on pathology melanocytes at dermo-epidermal junction (melanocytes forming lines of network with dermal papillae forming "holes")
Atypical pigment network	Atypical black/gray/brown network with thickened mesh and plural irregularities
Atypical dots and globules	Asymmetrically distributed brown/ black and gray dots (≤ 0.1 mm), round and oval structures (globules) representing the accumulation of melanin (most commonly in melanocytes but sometimes also in melanophages) – most commonly in melanocytic "nests"
Blue-white veil	Unstructured areas in blue-grayish/blue-whiteish color; with ground glass appearance. Represents compact aggregation of melanocytes with concomitant orthokeratosis
Streaks	Atypical, irregular linear structures that are not connected to pigment network
White regression structures	Whiteish depigmentation (lighter than adjacent skin); scar-like structures. Represent regression structures and fibrosis in advanced melanomas
Peppering	Represent regression structures with the presence of melanophages forming a dermoscopic image of black-grayish dots
Nodules	Elevated structures within the lesion (corresponding to large blue, black and brown clods)
Atypical blood vessels/ atypical vascular structures	Pinkish erythema in regression structures/dotted and irregular linear blood vessels
Multicomponent pattern	≥ 3 areas representing different dermoscopic features in a single lesion. Usually combined with asymmetry in malignant lesions

In the study, we evaluated the association between the presence of the dermoscopic structures (listed in Table 1) and histopathological stage of melanoma – by dividing tumors into: *in situ*, thin invasive tumors (using cutoff at ≤ 1.0 mm) and thick invasive tumors (cutoff at > 1.0 mm). We also assessed the predictors in accordance with the mitotic index (0 or ≥ 1) and presence of ulceration.

Dermoscopic images of acral, nail apparatus, spitzoid and amelanotic melanomas were excluded due to differences in the dermoscopic picture of such tumors.

Results

The group of patients consisted of 44 men and 37 women aged (at the day of diagnosis) between 26 and 97 with the average being 61.4 and the median being 63.

Regarding the distribution of the lesions, 14 (17.28%) were found on the head, 37 (45.68%) on the trunk, 16 (19.75%) on the upper limbs and 14 (17.28%) on the lower limbs.

Twenty-two (27.16%) of 81 melanomas were *in situ*, and 59 (72.84%) were invasive. On pathology examina-

Table 2. Frequency of various dermoscopic features depending on the location on the skin (head, trunk, upper and lower limbs)

Parameter		Tumor location										χ^2 ; p-value
		Head		Trunk		Upper limbs		Lower limbs		Total		
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	
White regression structures	Absent	2	14.29	8	21.62	1	6.25	4	28.57	15	18.52	0.94; 0.402
	Present	12	85.71	29	78.38	15	93.75	10	71.43	66	81.48	
	Total	14	100.00	37	100.00	16	100.00	14	100.00	81	100.00	
Peppering	Absent	3	21.43	19	51.35	9	56.25	9	64.29	40	49.38	5.98; 0.113
	Present	11	78.57	18	48.65	7	43.75	5	35.71	41	50.62	
	Total	14	100.00	37	100.00	16	100.00	14	100.00	81	100.00	
Blue-white veil	Absent	5	35.71	16	43.24	5	31.25	6	42.86	32	39.51	0.82; 0.844
	Present	9	64.29	21	56.76	11	68.75	8	57.14	49	60.49	
	Total	14	100.00	37	100.00	16	100.00	14	100.00	81	100.00	
Atypical blood vessels	Absent	10	71.43	20	54.05	7	43.75	7	50.00	44	54.32	2.48; 0.479
	Present	4	28.57	17	45.95	9	56.25	7	50.00	37	45.68	
	Total	14	100.00	37	100.00	16	100.00	14	100.00	81	100.00	
Atypical pigment network	Absent	8	57.14	8	21.62	8	50.00	3	21.43	27	33.33	8.75; 0.033
	Present	6	42.86	29	78.38	8	50.00	11	78.57	54	66.67	
	Total	14	100.00	37	100.00	16	100.00	14	100.00	81	100.00	
Irregular dots and globules	Absent	7	50.00	7	18.92	5	31.25	5	35.71	24	29.63	5.09; 0.165
	Present	7	50.00	30	81.08	11	68.75	9	64.29	57	70.37	
	Total	14	100.00	37	100.00	16	100.00	14	100.00	81	100.00	
Irregular streaks	Absent	8	57.14	18	48.65	6	37.50	4	28.57	36	44.44	2.92; 0.404
	Present	6	42.86	19	51.35	10	62.50	10	71.43	45	55.56	
	Total	14	100.00	37	100.00	16	100.00	14	100.00	81	100.00	
Multicomponent pattern	Absent	7	50.00	11	29.73	10	62.50	4	28.57	32	39.51	6.36; 0.095
	Present	7	50.00	26	70.27	6	37.50	10	71.43	49	60.49	
	Total	14	100.00	37	100.00	16	100.00	14	100.00	81	100.00	
Pseudopods	Absent	14	100.00	28	75.68	12	75.00	7	50.00	61	75.31	9.42; 0.024
	Present	0	0	9	24.32	4	25.00	7	50.00	20	24.69	
	Total	14	100.00	37	100.00	16	100.00	14	100.00	81	100.00	
Nodules	Absent	12	85.71	23	62.16	12	75.00	11	78.57	58	71.60	3.42; 0.332
	Present	2	14.29	14	37.84	4	25.00	3	21.43	23	28.40	
	Total	14	100.00	37	100.00	16	100.00	14	100.00	81	100.00	

Table 3. Frequency of various dermoscopic features of in situ and invasive melanomas

Variable	Invasive melanoma n (%)	Melanoma <i>in situ</i> n (%)	P-value	OR (95% CI)	Sensitivity	Specificity
White regression structures	48 (81.4)	18 (81.8)	0.962	1.03 (0.29–3.66)		
Peppering	28 (47.5)	13 (59.1)	0.352	1.60 (0.59–4.31)		
Blue-white veil	37 (62.7)	12 (54.5)	0.504	0.71 (0.26–1.92)		
Atypical blood vessels	27 (45.8)	10 (45.5)	0.980	0.99 (0.37–2.64)		
Atypical pigment network	39 (66.1)	15 (68.2)	0.860	1.10 (0.39–3.13)		
Irregular dots and globules	45 (76.3)	12 (54.5)	0.057	0.37 (0.13–1.05)		
Irregular streaks	35 (59.3)	10 (45.5)	0.264	0.57 (0.21–1.53)		
Multicomponent pattern	41 (69.5)	8 (36.4)	0.007	0.25 (0.09–0.70)	83.7	43.8
Pseudopods	18 (30.5)	2 (9.1)	0.047	0.23 (0.05–1.08)	90.0	32.8
Nodules	20 (33.9)	3 (13.6)	0.072	0.31 (0.08–1.17)		

tion in 6 (7.5%) tumors ulceration was detected and in 23 (28.4%) lesions the mitotic index was ≥ 1 .

Comparison of the prevalence of the listed dermoscopic features (Table 1) between male and female patients showed a statistically significantly higher prevalence of atypical blood vessels and a multicomponent pattern in female patients (62.2 and 73% respectively; $p < 0.005$).

Assessing the relation between evaluated dermoscopic structures and different locations of primary tumors (head, trunk, lower limbs, and upper limbs) (Table 2) we found that pseudopods were most commonly present on the lower limbs (50%), less commonly on the trunk and upper limbs (24.32% and 25% respectively; $p = 0.024$). An atypical network was described in 66.67% of all tumors, ranging between 78.57% and 78.38% on the lower limbs and trunk, and 42.86% and 50% on the head and upper limbs (Figure 1).

In situ melanomas showed a significantly lower frequency of pseudopods and multicomponent pattern

(9.1% and 36.4%) in comparison with invasive tumors – with 30.5% and 69.5% positive for pseudopods and multicomponent pattern (Table 3).

Tumors thicker than 1.0 mm showed a higher prevalence of white regression structures with 22.7% sensitivity, though 100% specificity. An atypical network was observed in 46.7% of tumors > 1.0 mm thick and in 71.2% of thinner tumors, though the difference was not statistically significant (Figure 2). In 60% of melanomas > 1.0 mm thick and 21.2% of melanomas ≤ 1.0 mm nodules were described in dermoscopy.

The study also showed a negative correlation between the positive mitotic index and an atypical network, and positive correlation between $MI \geq 1$ and nodules as well as a positive correlation for presence of ulceration and atypical blood vessels/vascular structures and nodules on dermoscopy.

Discussion

The last three decades have brought rapid development of diagnostic tools in dermatology. Due to

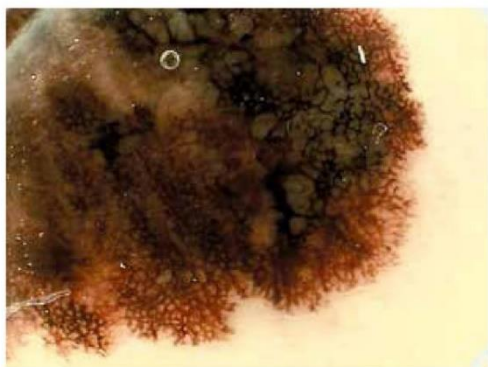


Figure 1. Atypical network and pseudopods in invasive melanoma of the lower limb



Figure 2. Atypical network (blue dots), white regression structures and atypical blood vessels (red dots) in invasive melanoma of the trunk

Table 4. Frequency of dermoscopic features in melanomas ≤ 1.0 mm and > 1.0 mm on Breslow's depth

Variable	Breslow ≤ 1.0 mm n (%)	Breslow > 1.0 mm n (%)	P-value	OR (95% CI)	Sensitivity	Specificity
White regression structures	51 (77.3)	15 (100.0)	0.041	–	22.7	100.0
Peppering	35 (53.0)	6 (40.0)	0.362	0.59 (0.19–1.85)	–	–
Blue-white veil	38 (57.6)	11 (73.3)	0.260	2.03 (0.58–7.03)	–	–
Atypical blood vessels/atypical vascular structures	28 (42.4)	9 (60.0)	0.217	2.04 (0.65–6.38)	–	–
Atypical pigment network	47 (71.2)	7 (46.7)	0.069	0.35 (0.11–1.11)	–	–
Atypical dots and globules	45 (68.2)	12 (80.0)	0.366	1.87 (0.48–7.32)	–	–
Streaks	40 (60.6)	5 (33.3)	0.055	0.33 (0.10–1.06)	–	–
Multicomponent pattern	39 (59.1)	10 (66.7)	0.588	1.38 (0.43–4.51)	–	–
Pseudopods	19 (28.8)	1 (6.7)	0.073	0.18 (0.02–1.44)	–	–
Nodules	14 (21.2)	9 (60.0)	0.003	5.57 (1.70–18.31)	39.1	89.7

Table 5. Mean Breslow's depth in melanomas divided into groups depending on the presence/absence of dermoscopic features

Variable	Traits absent ¹ Mean Breslow $\pm$ SD	Traits present ¹ Mean Breslow $\pm$ SD	P-value ²	OR (95% CI)	Cutpoint	Sensitivity	Specificity
White regression structures	0.35 $\pm$ 0.30	1.10 $\pm$ 2.64	0.255	2.41 (0.74–7.87)	–	–	–
Peppering	0.80 $\pm$ 0.93	1.12 $\pm$ 3.26	0.095	1.06 (0.86–1.31)	–	–	–
Blue-white veil	0.77 $\pm$ 1.42	1.08 $\pm$ 2.88	0.335	1.07 (0.85–1.35)	–	–	–
Atypical blood vessels/atypical vascular structures	0.62 $\pm$ 0.88	1.37 $\pm$ 3.40	0.457	1.25 (0.85–1.82)	–	–	–
Atypical pigment network	1.86 $\pm$ 3.96	0.51 $\pm$ 0.64	0.040	0.55 (0.32–0.95)	0.375	70.3	59.3
Atypical dots and globules	0.85 $\pm$ 1.62	1.01 $\pm$ 2.68	0.399	1.03 (0.82–1.29)	–	–	–
Streaks	1.47 $\pm$ 3.50	0.55 $\pm$ 0.60	0.821	0.69 (0.43–1.12)	–	–	–
Multicomponent pattern	0.77 $\pm$ 1.45	1.08 $\pm$ 2.87	0.176	1.07 (0.85–1.35)	–	–	–
Pseudopods	1.11 $\pm$ 2.75	0.49 $\pm$ 0.34	0.921	0.68 (0.34–1.38)	–	–	–
Nodules	0.57 $\pm$ 1.03	1.93 $\pm$ 4.11	0.030	1.52 (0.96–2.43)	0.375	60.9	53.4

¹Traits – dermoscopy features: white regression structures, peppering, blue-white veil, atypical blood vessels/atypical vascular structures, atypical pigment network, atypical dots and globules, streaks, multicomponent pattern, pseudopods, nodules. P-value – statistically significant if < 0.05 .

their accessibility, dermoscopy and videodermoscopy are the most commonly used diagnostic techniques in the early diagnosis of cutaneous melanoma [8, 32]. In order to standardize dermoscopic examinations specific diagnostic features, as well as criteria, have been described. The most popular algorithms applied in the dermoscopic diagnosis of melanoma are: pattern analysis [6], ABCD criteria [9, 33, 34], and the 7-point checklist [3, 35]. Knowing the listed criteria allows the early detection of cutaneous melanomas by an experienced dermoscopist in contrast to naked-eye examination. It would be extremely useful if it could also help clinicians to determine the tumor stage or Breslow's depth, in order to simplify the planning of excisions and possible sentinel lymph node biopsies.

In previous studies, there have been a few attempts to examine the possible correlations between the pres-

ence of distinct dermoscopic features and tumor thickness, though the results are contradictory.

In a study on 123 melanomas (including only tumors with a Breslow's depth of > 0.75), González-Álvarez *et al.* observed a correlation of dermoscopic ulcerations and blotches with positive sentinel lymph node biopsy results and the presence of an atypical pigment network with negative sentinel lymph node biopsy results [36]. Pizzichetta *et al.* examined and compared dermoscopic images of *in situ* melanomas and invasive melanomas (subdivided into two groups ≤ 0.75 mm and > 0.75 mm), finding a lower prevalence of atypical pigment network and pseudopods in thick invasive melanomas (> 0.75 mm) in comparison with *in situ* melanomas, as well as greater relative numbers of pseudopods, brown globules, gray-blue areas, and depigmentation in *in situ* lesions com-



Figure 3. Multicomponent pattern in invasive melanoma of the trunk

pared with invasive melanomas with a Breslow's depth of ≤ 0.75 mm. On the other hand, Menzies *et al.*, researching the morphologic criteria of pseudopods in 80 melanomas (62 invasive and 18 *in situ*) and 159 randomly selected pigmented nonmelanomas, observed higher prevalence of the structures in invasive melanomas in comparison to *in situ* tumors. Pseudopods retained 97% specificity, though only 23% sensitivity [37]. Emiroglu *et al.*, researching only trunk melanomas (71 cases), found no correlation between dermoscopic image and Breslow's depth [38].

In our study using univariate regression analysis, we compared the prevalence of the listed dermoscopic features (Table 1) between male and female patients, and found a significantly higher prevalence of atypical blood vessels and a multicomponent pattern in female patients (62.2% and 73% respectively; $p < 0.005$). The analysis showed no significant differences in different age groups.

The χ^2 analysis was performed to assess the relation between evaluated dermoscopic structures and different locations of primary tumors (head, trunk, lower limbs, and upper limbs) (Table 2). There were no significant differences in the presence of regression, peppering, atypical blood vessels, atypical dots and globules, multicomponent pattern or nodules. Pseudopods were present in 24.69% of all evaluated tumors; most commonly they were observed on the lower limbs (50%), less commonly on the trunk and upper limbs (24.32% and 25% respectively; $p = 0.024$). An atypical network was described in 66.67% of all tumors, ranging between 78.57% and 78.38% on the lower limbs and trunk, and 42.86% and 50% on the head and upper limbs.

In order to analyze possible relationships between the presence of the listed dermoscopic features and histopathologic stage of melanomas, the Mann-Whitney *U* test and Student's *t* test were used. *In situ* melanomas were evaluated separately as well as tumors presenting Breslow's depth ≤ 1 mm and > 1 mm to check for differences in frequency of appearance of distinct dermoscopic structures. No statistically significant differences regarding the prevalence of peppering, blue-white veil, atypical

dots and globules, atypical blood vessels or streaks were noted (Table 4). *In situ* melanomas showed a significantly lower frequency of pseudopods and multicomponent pattern (9.1% and 36.4%) in comparison with invasive tumors (Figure 3) – with 30.5% and 69.5% positive for pseudopods and multicomponent pattern (Table 3).

We have calculated mean Breslow's depth in melanomas divided into groups depending on the presence/absence of dermoscopic features. Tumors with a visible atypical pigment network had a significantly lower mean Breslow's depth in comparison to melanomas presenting no atypical pigment network. Melanomas presenting with nodules, on the other hand, had greater Breslow's depth in comparison to tumors presenting no nodules on dermoscopy (Table 5).

Taking into account the guidelines updated by the American Joint Committee on Cancer (as well as many European, including Polish), we compared thick and thin melanomas assuming a cutoff point at 1.0 mm Breslow's depth. Tumors thicker than 1.0 mm showed a higher prevalence of white regression structures with 22.7% sensitivity, though 100% specificity. An atypical network was observed in 46.7% of tumors > 1.0 mm thick and in 71.2% of thinner tumors, though the difference was not statistically significant. In 60% of melanomas > 1.0 mm thick and 21.2% of melanomas ≤ 1.0 mm nodules were described in dermoscopy. Specificity of this feature was 89.7% in thick melanomas and sensitivity 39.1% ($p = 0.003$; OR = 5.57).

Considering the fact that the mitotic index was removed from AJCC guidelines in 2018, and replaced with ulceration, but is still applied in melanoma staging and grading in many European countries [14, 15, 39], we analyzed the presence of dermoscopic structures in melanomas with a negative mitotic index in comparison to melanomas with $MI \geq 1$. The Mann-Whitney *U* test showed a negative correlation between the positive mitotic index and an atypical network, and a positive correlation between $MI \geq 1$ and nodules.

Controlling for ulceration in pathology, we found a positive correlation for atypical blood vessels/vascular structures and nodules with low sensitivity (13.9% and 18.2% respectively; $p < 0.05$) but high specificity.

Conclusions

The presence of an atypical network may point the examining dermatologist towards the diagnosis of thin invasive melanoma, whereas pseudopods, a multicomponent pattern, white regression structures, atypical blood vessels, and nodules suggest invasive (high stage) melanoma. Thus the presence of such dermoscopic structures should alert the examining dermatologist. Dermoscopy is a very useful method in the early diagnosis of cutaneous melanoma, especially in regard to early, non-metastatic

tumors. It may also provide some insight into the meta-static potential of detected tumors.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Nikolaou V, Stratigos AJ. Emerging trends in the epidemiology of melanoma. *Br J Dermatol* 2014; 170: 11-9.
- Erdmann F, Lortet-Tieulent J, Schüz J, et al. International trends in the incidence of malignant melanoma 1953-2008-are recent generations at higher or lower risk? *Int J Cancer* 2013; 132: 385-400.
- Vestergaard ME, Macaskill P, Holt PE, Menzies SW. Dermoscopy compared with naked eye examination for the diagnosis of primary melanoma: a meta-analysis of studies performed in a clinical setting. *Br J Dermatol* 2008; 159: 669-76.
- Stolz W, Bilek P, Landthaler M, et al. Skin surface microscopy. *Lancet* 1989; 334: 864-5.
- Braun RP, Rabinovitz HS, Oliviero M, et al. Dermoscopy of pigmented skin lesions. *J Am Acad Dermatol* 2005; 52: 109-21.
- Pehamberger H, Steiner A, Wolff K. In vivo epiluminescence microscopy of pigmented skin lesions. I. Pattern analysis of pigmented skin lesions. *J Am Acad Dermatol* 1987; 17: 571-83.
- Carli P, De Giorgi V, Crocetti E, et al. Improvement of malignant/benign ratio in excised melanocytic lesions in the "dermoscopy era": a retrospective study 1997-2001. *Br J Dermatol* 2004; 150: 687-92.
- Sheu SL, Cho HG, Nord KM. Videodermoscopy as a novel tool for dermatologic education. *Cutis* 2017; 100: E25-7.
- Thomas L, Tranchand P, Berard F, et al. Semiological value of ABCDE criteria in the diagnosis of cutaneous pigmented tumors. *Dermatology* 1998; 197: 11-7.
- Russo T, Piccolo V, Ferrara G, et al. Dermoscopy pathology correlation in melanoma. *J Dermatol* 2017; 44: 507-14.
- Argenziano G, Fabbrocini G, Carli P, et al. Epiluminescence microscopy for the diagnosis of doubtful melanocytic skin lesions. *Arch Dermatol* 1998; 134: 1563-70.
- Rao BK, Marghoob AA, Stolz W, et al. Can early malignant melanoma be differentiated from atypical melanocytic nevi by in vivo techniques? *Ski Res Technol* 1997; 3: 8-14.
- Breslow A, Washington G. Thickness, cross-sectional areas and depth of invasion in the prognosis of cutaneous melanoma. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1397358/pdf/annsurg00406-0132.pdf>. Accessed September 15, 2018.
- Key Changes in the AJCC Eighth Edition Melanoma Staging System – SkinCancer.org. <https://www.skincancer.org/publications/the-melanoma-letter/2018-vol-36-no-1/ajcc-staging-system>. Accessed September 15, 2018.
- Rutkowski P, Wysocki JP, Nasierowska-Guttmejer A, et al. Cutaneous melanoma – guidelines for diagnostics and therapy in 2016. *Dermatol Rev* 2016; 102: 1-18.
- Fleming MD, Galan A, Gastman B, et al. Aim at Melanoma NCCN Guidelines Version 3.2018 Melanoma.; 2018. https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/PDF/melanoma.pdf. Accessed September 17, 2018.
- Kosęta H, Świtaj T, Rutkowski P, et al. Przypadki kliniczne chorych na zaawansowane czerniaki leczonych ipilimumabem. *Onkol Prakt Klin* 2015; 11: A1-8.
- Crocetti E, Mallone S, Robsahm TE, et al. Survival of patients with skin melanoma in Europe increases further: results of the EUROCARE-5 study. *Eur J Cancer* 2015; 51: 2179-90.
- Survival Rates for Melanoma Skin Cancer, by Stage. <https://www.cancer.org/cancer/melanoma-skin-cancer/detection-diagnosis-staging/survival-rates-for-melanoma-skin-cancer-by-stage.html>. Accessed September 17, 2018.
- Balch CM, Soong SJ, Gershenwald JE, et al. Prognostic factors analysis of 17,600 melanoma patients: validation of the American Joint Committee on Cancer Melanoma Staging System. *J Clin Oncol* 2001; 19: 3622-34.
- Wielowieyska-Szybińska D, Białek-Galas K, Podolec K, Wojas-Pelc A. The use of reflectance confocal microscopy for examination of benign and malignant skin tumors. *Postep Dermatol Alergol* 2014; 31: 380-7.
- Guitera P, Pellacani G, Crotty KA, et al. The impact of in vivo reflectance confocal microscopy on the diagnostic accuracy of lentigo maligna and equivocal pigmented and nonpigmented macules of the face. *J Invest Dermatol* 2010; 130: 2080-91.
- Longo C, Moscarella E, Argenziano G, et al. Reflectance confocal microscopy in the diagnosis of solitary pink skin tumours: review of diagnostic clues. *Br J Dermatol* 2015; 173: 31-41.
- Pellacani G, Pepe P, Casari A, Longo C. Reflectance confocal microscopy as a second-level examination in skin oncology improves diagnostic accuracy and saves unnecessary excisions: a longitudinal prospective study. *Br J Dermatol* 2014; 171: 1044-51.
- De Carvalho N, Welzel J, Schuh S, et al. The vascular morphology of melanoma is related to Breslow index: an in vivo study with dynamic optical coherence tomography. *Exp Dermatol* 2018; 27: 1280-6.
- Borsari S, Pampena R, Benati E, et al. In vivo dermoscopic and confocal microscopy multistep algorithm to detect in situ melanomas. *Br J Dermatol* 2018; 179: 163-72.
- Ferrari B, Pupelli G, Farnetani F, et al. Dermoscopic difficult lesions: an objective evaluation of reflectance confocal microscopy impact for accurate diagnosis. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2015; 29: 1135-40.
- Serban ED, Farnetani F, Pellacani G, Constantin MM. Role of in vivo reflectance confocal microscopy in the analysis of melanocytic lesions. *Acta Dermatovenereol Croat* 2018; 26: 64-7.
- Kittler H, Marghoob AA, Argenziano G, et al. Standardization of terminology in dermoscopy/dermatoscopy: results of the third consensus conference of the International Society of Dermoscopy HHS Public Access. *J Am Acad Dermatol* 2016; 74: 1093-106.
- Micantonio T, Neri L, Longo C, et al. A new dermoscopic algorithm for the differential diagnosis of facial lentigo maligna and pigmented actinic keratosis. *Eur J Dermatol* 2018; 28: 162-8.
- Russo T, Piccolo V, Ferrara G, et al. Dermoscopy pathology correlation in melanoma. *J Dermatol* 2017; 44: 507-14.
- Salerni G, Carrera C, Lovatto L, et al. Benefits of total body photography and digital dermatoscopy ("two-step method of digital follow-up") in the early diagnosis of melanoma in patients at high risk for melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2012; 67: e17-27.
- Nachbar F, Stolz W, Merkle T, et al. The ABCD rule of dermatoscopy. High prospective value in the diagnosis of doubtful melanocytic skin lesions. *J Am Acad Dermatol* 1994; 30: 551-9.

34. Rigel DS, Russak J, Friedman R. The evolution of melanoma diagnosis: 25 years beyond the ABCDs. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 301-16.
35. Menzies SW. A method for the diagnosis of primary cutaneous melanoma using surface microscopy. *Dermatol Clin* 2001; 19: 299-305.
36. González-Álvarez T, Carrera C, Bennassar A, et al. Dermoscopy structures as predictors of sentinel lymph node positivity in cutaneous melanoma. *Br J Dermatol* 2015; 172: 1269-77.
37. Menzies SW, Crotty KA, McCarthy WH. The morphologic criteria of the pseudopod in surface microscopy. *Arch Dermatol* 1995; 131: 436-40.
38. Emiroglu N, Cengiz FP, Hofmann-Wellenhof R. Dermoscopic and clinical features of trunk melanomas. *Adv Dermatol Allergol* 2014; 31: 362-7.
39. Gershenwald JE, Scolyer RA, Hess KR, et al. Melanoma staging: evidence-based changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin* 2017; 67: 472-92.

Publikacja nr 2

Diagnostic accuracy of reflectance confocal microscopy for pigmented skin lesions presenting dermoscopic features of cutaneous melanoma.

Katarzyna Podolec, Magdalena Pirowska, Grzegorz Dyduch*, Anna Wojas-Pelc

Postępy Dermatologii i Alergologii/Advances in Dermatology and Allergology. 2019.

doi:10.5114/ada.2019.82742.

Diagnostic accuracy of reflectance confocal microscopy for pigmented skin lesions presenting dermoscopic features of cutaneous melanoma

Katarzyna Podolec¹, Magdalena Pirowska¹, Grzegorz Dyduch², Anna Wojas-Pelc¹

¹Department of Dermatology, Jagiellonian University Medical College, Krakow, Poland

²Department of Pathology, Jagiellonian University Medical College, Krakow, Poland

Adv Dermatol Allergol

DOI: <https://doi.org/10.5114/ada.2019.82742>

Abstract

Introduction: The incidence and mortality of melanoma are rising rapidly. Despite ongoing research and the introduction of new therapeutic methods, advanced melanoma is still considered incurable. Early detection and surgical excision of the tumor increases patients' survival. Since the diagnostic protocol includes surgical excision of all suspicious lesions, it is burdened with a high rate of unnecessary excisions that cause unwanted scarring. This is why the development of accurate diagnostic techniques is crucial. The most common diagnostic tool in early diagnosis of cutaneous melanoma is dermoscopy, though there are emerging new techniques, such as reflectance confocal microscopy and optical coherence tomography.

Aim: To evaluate diagnostic accuracy of reflectance confocal microscopy as a secondary examination in melanocytic lesions previously diagnosed as melanomas by means of dermoscopy.

Material and methods: Forty-six melanocytic lesions presenting dermoscopic features of cutaneous malignant melanoma were examined by means of reflectance confocal microscopy.

Results: The RCM evaluation showed sensitivity at the level of 100% and specificity at 62%.

Conclusions: It can be estimated that double evaluation of melanocytic lesions by dermoscopy and reflectance confocal microscopy may allow up to 62% of unnecessary excisions to be avoided.

Key words: melanoma, reflectance confocal microscopy, dermoscopy.

Introduction

According to data collected on melanoma, its incidence has risen and is projected to rise across the world. Estimated annual incidence in Poland has reached level of 2583 cases (cumulative risk 0.45) [1]. Despite emerging new therapies, the key to decrease the mortality rate is still early detection and removal of early-stage tumors, where surgical removal is considered curative [2]. Dermoscopy has been established as a first-line diagnostic tool in a clinical setting, since it has been proven to be more sensitive and specific in comparison to naked-eye evaluation, and it is relatively inexpensive [3]. However, the number of benign pigmented skin lesions unnecessarily excised is still up to 29.4%, depending on the level of the clinician's experience. Digital monitoring utilizing sequential total body photography and videodermoscopy have been proven useful in early, often featureless

melanomas. In hard-to-diagnose cases, the use of reflectance confocal microscopy is being proven to increase diagnostic specificity and sensitivity as a second-line examination tool in combination with classical or digital dermoscopy [4–13].

In vivo reflectance confocal microscopy (RCM) is a relatively new optical imaging technique designed to provide high-resolution images of the skin and mucous membranes [14]. The technique relies on low-power near-infrared laser emitting 830 nm light. Though the basic principles of the technology were described by Minsky in 1957, the technology became accessible for *in vivo* imaging of human skin in the last decade. Due to near-histological resolution of the acquired images, it is becoming a valuable diagnostic tool in tertiary referral centers. Providing a strong contrast of melanin, the examination makes it possible to visualize melanocytes/melanophages – RCM is becoming popular in the pre-

Address for correspondence: Katarzyna Podolec MD, PhD, Department of Dermatology, Jagiellonian University Medical College, 8 Skawinska St, 31-066 Krakow, Poland, phone: +48 501 543 249, e-mail: kasiapodolec@gmail.com; katarzyna.podolec@uj.edu.pl

Received: 21.12.2018, **accepted:** 20.01.2019.

histological diagnosis of melanoma [10, 14–16]. For the examination, a metal ring with a translucent template is placed on the surface of the skin lesion and fixed with special adhesive tape to stabilize the imaging. The ring is then magnetically attached to the objective lens housing. The obtained images are $500 \times 500 \mu\text{m}$ large and may be acquired as a stack of horizontal pictures (VivaStack) or may be arranged in a larger horizontal mosaic (VivaBlock) montaged into horizontal images sized up to $8 \times 8 \text{ mm}$ [17].

Aim

The aim of the study was to evaluate diagnostic accuracy of reflectance confocal microscopy as a secondary examination in melanocytic lesions previously diagnosed as melanomas by means of dermoscopy.

Material and methods

A total of 46 melanocytic lesions presenting dermoscopic features of cutaneous malignant melanoma were examined by means of reflectance confocal microscopy at the Department of Dermatology, Jagiellonian University Medical College between 2015 and 2017.

Atypical lesions were excised on the day of examination or within 2–5 days after the imaging. All of the excised skin tumors were evaluated by a pathologist with histopathology examination standardized for cutaneous melanoma. The digital data (both videodermoscopy and RCM images) recorded before the excisions are stored at the Dermatology Department, Jagiellonian University Medical College in Krakow.

All consecutive cases were skin lesions presenting dermoscopic criteria of malignant melanoma according to a 3-point checklist as well as a 7-point checklist (score ≥ 3). Skin lesions were evaluated by means of immersion-based and polarized handheld dermoscopes (Heine Delta 20/Heine Delta 20 Plus; Heine Optotechnik). Dermoscopic images were acquired by means of videodermoscopes (Fotofinder, TeachScreen GmbH, Bad Birnbach, Germany) using minimum $20\times$ magnification.

Reflectance confocal microscopy images were acquired with a Vivascope 1500 (MAVIG GmbH, Munich, Germany), which employs an 830-nm laser beam with a maximum power of 20 mW. In every lesion, 3 horizontal mosaics (VivaBlock; $8 \times 8 \text{ mm}$) were recorded at a selected depth representing the epidermis (stratum granulosum/spinosum), dermo-epidermal junction (DEJ) and superficial dermis. Additionally VivaStacks – with a field of view of approximately $500 \times 500 \mu\text{m}$, special resolution of $1.0 \mu\text{m}$ in the lateral dimension and 4–5 μm in the axial dimension – were recorded in portions of melanocytic lesions representing the most atypical dermoscopic features. In larger lesions, due to the limited field of vision in reflectance confocal microscope ($8 \times 8 \text{ mm}$

per 1 VivaBlock), the RCM imaging centered on the most dermoscopically challenging parts of tumors, where multiple VivaBlocks were recorded and considered 1 examination. Instrument and acquisition procedures are described elsewhere [14]. One of the atypical pigmented lesions was excluded from the study due to the low quality of RCM images caused by the uneven surface limiting the ability to acquire the image.

The RCM evaluation was based on diagnostic criteria first described by Pellacani *et al.* Cell atypia at the level of the dermo-epidermal junction and non-edged papillae were considered major criteria. Roundish pagetoid cells, widespread pagetoid infiltration, cerebriform nests and nucleated cells within the upper dermis were considered minor criteria. The features were evaluated for presence/absence (non-parametric binary data). Tumors presenting 2 major criteria or 1 major and 2 minor criteria were considered malignant [18].

Two dermatologists with a minimum of 6 years' experience conducted an evaluation of both dermoscopic and RCM images. Since the new ordinance of the Ministry of Health requires 2 pathologists to evaluate malignancies, it was decided that 2 dermatologists would evaluate every lesion to confirm the diagnosis. For the purpose of assessment, all images were anonymized to ensure that the physicians were blinded to the clinical diagnosis. For blinding reasons, RCM images were assessed separately – prior to the evaluation of videodermoscopic images (which was conducted to confirm the diagnostic criteria of melanoma). The examination was also blinded from histology results for both dermatologists.

The evaluated group consisted of 46 patients who came to the Dermatology Department with suspicious lesions. The group comprised 25 (4.35%) male and 21 (45.65%) female patients. The patients' age ranged between 26 and 87 with the average age of 59.9.

Results

Histology revealed a total of 33 melanomas per 46 (72%) lesions and 13 (26.67%) non-melanoma melanocytic lesions. In RCM 38 (79%) lesions were interpreted as malignant and 8 (17%) were evaluated as benign/dysplastic melanocytic nevi. Melanoma diagnosis based on reflectance confocal microscopy was made in all 33 pathology-positive cases. That means that the sensitivity of melanoma diagnosis in our study reached 100%. Five benign/dysplastic melanocytic lesions were misdiagnosed as melanomas by means of RCM. The specificity of reflectance-mode confocal microscopy in the study was 62% ($p < 0.001$).

The evaluated RCM features of both malignant and benign (in histology) lesions and their frequency are summarized in Table 1. In over half of the lesions, cell atypia at the dermo-epidermal junction (80%), non-edged papil-

lae (74%), roundish pagetoid cells (52%) and widespread pagetoid infiltration (67%) were observed.

By means of multivariate regression analysis, the following features were associated with positive (confirmed in pathology) RCM melanoma diagnosis: cell atypia in dermo-epidermal junction (OR = 21.7, $p < 0.001$) present in 31 of 33 cases; non-edged papillae (OR = 5.60; $p < 0.022$) present in 28 of 33 cases; widespread pagetoid infiltration (OR = 28.0, $p < 0.001$) present in 28 (84.8%) of 33 cases; cerebriform nests ($p < 0.001$) present in 3 of 33 cases. The highest sensitivity score was related to cell atypia in the DEJ (93.9%; $p < 0.001$) and the highest specificity was calculated for cerebriform nests (100%; $p < 0.001$) (Table 2).

Discussion

Dermoscopy has been described as a valuable, inexpensive method for the diagnosis of cutaneous melanoma in routine dermatology practice. The non-invasive microscopic evaluation could create the opportunity to reduce the number of surgical excisions of benign nevi by providing more accurate pre-histological examination.

In our study, we selected 46 melanocytic lesions suspicious for malignant melanoma. Most researchers evaluate the use of RCM in dermoscopically equivocal lesions. In our study, we evaluated only the skin lesions with a dermoscopic image fulfilling the criteria of cutaneous malignant melanoma. Due to high dermoscopy scores, and hence clinical suspicion of malignancy, all lesions were excised. In order to increase the diagnostic accuracy, reflectance confocal microscopy examinations were performed.

In this study, we obtained 100% sensitivity for melanoma diagnosis with RCM, which is considered high in comparison to other studies showing sensitivity at the level of > 90% up to 100% (if RCM is used together with dermoscopy) [5–7, 9].

The RCM specificity in our study was at the level of 62%. The result was lower than in studies conducted by Pellacani *et al.* (80.21%) [5], as well as Alarcon *et al.* (92.4%) [6] and Curchin *et al.* (75%) [7]. Specificity of reflectance confocal microscopy in previously conducted

Table 1. Frequency of reflectance confocal microscopy (RCM) features in both malignant and benign (in histology) lesions

RCM	N	%	Total
Cell atypia at DEJ	37	80	46
Non-edged papillae	34	74	46
Roundish pagetoid cells	24	52	46
Widespread pagetoid infiltration	31	67	46
Cerebriform nests	3	7	46
Nucleated cells within upper dermis	21	46	46

studies was mostly researched for RCM used together with dermoscopy – as a 2-step algorithm. In our study, dermatologists evaluating confocal images were blinded to the dermoscopy images prior to RCM evaluation, so that dermoscopy would not influence RCM evaluation. However, after the results were collected, both researchers reevaluated the dermoscopic images in order to confirm the dermoscopic diagnosis of melanoma.

Considering RCM features evaluated in the study, the highest sensitivity score was related to cell atypia in the DEJ (93.9%; $p < 0.001$) and the highest specificity was calculated for cerebriform nests (100%; $p < 0.001$).

Considering the clinical and dermoscopic diagnosis of melanoma, it is certainly useful to reevaluate tumors with reflectance confocal microscopy. By improving the accuracy of examination, RCM can increase the confidence of *in vivo* examination, and due to an increase of specificity of melanoma detection, it can decrease the number of unnecessary excisions. The technique can free the patients of unnecessary scarring and decrease the cost of diagnosis [19]. It can be estimated that double evaluation of melanocytic lesions by dermoscopy and reflectance confocal microscopy may allow up to 62% of unnecessary excisions to be avoided. In order to achieve the best possible diagnostic outcome, we think that the RCM specialist should have access to a clinical and dermoscopic image together with RCM [20].

Like all other techniques, RCM also has its limitations. The microscopes have limited image acquisition ability

Table 2. Multivariate logistic regression analysis for reflectance confocal microscopy (RCM) features as predictors

Predictor	Predictor absent N (%)	Predictor present N (%)	P-value	OR (95% CI)	Sensitivity	Specificity
Cell atypia at DEJ	2 (22.2)	31 (86.1)	0.001	21.70 (3.47–135.75)	93.9	58.3
Non-edged papillae	5 (45.5)	28 (82.4)	0.022	5.60 (1.28–24.56)	84.8	50.0
Roundish pagetoid cells	16 (72.7)	17 (73.9)	0.928	1.06 (0.28–3.98)	–	–
Widespread pagetoid infiltration	5 (33.3)	28 (93.3)	< 0.001	28.00 (4.67–168.00)	84.8	83.3
Cerebriform nests	30 (71.4)	3 (100.0)	< 0.001	–	9.1	100.0
Nucleated cells within upper dermis	15 (62.5)	18 (85.7)	0.089	3.60 (0.82–15.74)		

in uneven surfaces (e.g., ulceration) and limited depth of examination. It also requires extensive training from a dermatologist.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Matthews NH, Li WQ, Qureshi AA, et al. Chapter 1: Epidemiology of melanoma. In: Cutaneous Melanoma: Etiology and Therapy [Internet]. doi:10.15586/codon.cutaneousmelanoma.2017.ch1.
2. Rutkowski P, Wysocki PJ, Nasierowska-Guttmejer A, et al. Cutaneous melanoma – guidelines for diagnostics and therapy in 2016. *Dermatology Rev* 2016; 103: 1-18.
3. Bafounta ML, Beauchet A, Aegerter P, Saiag P. Is dermoscopy (epiluminescence microscopy) useful for the diagnosis of melanoma? Results of a meta-analysis using techniques adapted to the evaluation of diagnostic tests. *Arch Dermatol* 2001; 137: 1343-50.
4. Chen LL, Scope A, De Carvalho N, et al. Difficult-to-diagnose facial melanomas: utility of reflectance confocal microscopy in uncovering the diagnosis. *JAAD Case Rep* 2017; 3: 379-83.
5. Pellacani G, Pepe P, Casari A, Longo C. Reflectance confocal microscopy as a second-level examination in skin oncology improves diagnostic accuracy and saves unnecessary excisions: a longitudinal prospective study. *Br J Dermatol* 2014; 171: 1044-51.
6. Alarcon I, Carrera C, Palou J, et al. Impact of in vivo reflectance confocal microscopy on the number needed to treat melanoma in doubtful lesions. *Br J Dermatol* 2014; 170: 802-8.
7. Curchin CES, Wurm EMT, Lambie DL, et al. First experiences using reflectance confocal microscopy on equivocal skin lesions in Queensland. *Australas J Dermatol* 2011; 52: 89-97.
8. Agozzino M, Ferrari A, Cota C, et al. Reflectance confocal microscopy analysis of equivocal melanocytic lesions with severe regression. *Skin Res Technol* 2018; 24: 9-15.
9. Ferrari B, Pupelli G, Farnetani F, et al. Dermoscopic difficult lesions: an objective evaluation of reflectance confocal microscopy impact for accurate diagnosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2015; 29: 1135-40.
10. Maher NG, Solinas A, Scolyer RA, et al. Detection of desmoplastic melanoma with dermoscopy and reflectance confocal microscopy. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2017; 31: 2016-24.
11. Edwards SJ, Osei-Assibey G, Patalay R, et al. Diagnostic accuracy of reflectance confocal microscopy using VivaScope for detecting and monitoring skin lesions: a systematic review. *Clin Exp Dermatol* 2017; 42: 266-75.
12. Urvanegia AC, Tavoloni Braga JC, Shitara D, et al. Reflectance confocal microscopy features of BRAF V600E mutated thin melanomas detected by immunohistochemistry. *PLoS One* 2017; 12: e0179745.
13. Laimer M, Arzberger E, Kirchner C, et al. Noninvasive Rcm for differentiation of melanotic macules from melanocytic lesions-blinded evaluation of a series of 42 pigmented macules. *Dermatol Surg* 2017; 43: 911-9.
14. Rajadhyaksha M, Grossman M, Esterowitz D, et al. In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin: melanin provides strong contrast. *J Invest Dermatol* 1995; 104: 946-52.
15. Uribe P, Collgros H, Scolyer RA, et al. In vivo reflectance confocal microscopy for the diagnosis of melanoma and melanotic macules of the lip. *JAMA Dermatol* 2017; 153: 882-91.
16. Maher NG, Solinas A, Scolyer RA, et al. Detection of desmoplastic melanoma with dermoscopy and reflectance confocal microscopy. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2017; 31: 2016-24.
17. Kose K, Gou M, Yélamos O, et al. Automated video-mosaicking approach for confocal microscopic imaging in vivo: an approach to address challenges in imaging living tissue and extend field of view. *Sci Rep* 2017; 7: 10759.
18. Pellacani G, Cesinaro AM, Seidenari S. Reflectance-mode confocal microscopy of pigmented skin lesions – improvement in melanoma diagnostic specificity. *J Am Acad Dermatol* 2005; 53: 979-85.
19. Serban ED, Farnetani F, Pellacani G, Constantin MM. Role of in vivo reflectance confocal microscopy in the analysis of melanocytic lesions. *Acta Dermatovenerol Croat* 2018; 26: 64-7.
20. Yélamos O, Nehal KS. Integrating clinical information, dermoscopy and reflectance confocal microscopy to improve the diagnostic accuracy and confidence of amelanotic and lightly pigmented melanomas. *Br J Dermatol* 2016; 175: 1147-8.

Publikacja nr 3

Predictive value of global dermoscopic pattern in patients diagnosed with cutaneous melanoma.

Katarzyna Podolec, Paweł Brzewski, Magdalena Pirowska, Anna Wojas-Pelc

Postępy Dermatologii i Alergologii/Advances in Dermatology and Allergology.

<https://doi.org/10.5114/ada.2020.94593>

Predictive value of global dermoscopic pattern in patients diagnosed with cutaneous melanoma

Katarzyna Podolec, Paweł Brzewski, Magdalena Pirowska, Anna Wojas-Pelc

Department of Dermatology, Jagiellonian University Medical College, Krakow, Poland

Adv Dermatol Allergol

DOI: <https://doi.org/10.5114/ada.2020.94593>

Abstract

Introduction: Dermoscopy is one of the most commonly used methods in early diagnosis of melanoma. It is conducted to differentiate between benign and malignant patterns in melanocytic lesions.

Aim: To determine if there is a predominance of one dermoscopic pattern in patients with melanoma and if there is a significant difference in dominant global dermoscopic pattern in patients with cutaneous melanomas correlated with patients' sex and the location of the primary tumor.

Material and methods: The study included 162 patients with prior diagnosis of cutaneous melanoma. Dermoscopic and videodermoscopic pictures and patient data were analyzed with regard to the pattern: reticular, globular, homogeneous and mixed pattern (two-component pattern; reticular-globular pattern) with central or peripheral globules and multicomponent (mixed – at least 3 types of structures in one nevus).

Results: The reticular pattern was significantly more prevalent in male patients (38.57%, 27 patients) in comparison to female patients (18.45%, 17 patients). We also found a statistically significant lower prevalence of reticular pattern in patients diagnosed with melanomas located on upper limbs. The homogeneous pattern was statistically significantly more prevalent in patients in whom primary tumors were located on the head and upper limbs.

Conclusions: Our study suggests that predominant complex patterns are more commonly observed in patients diagnosed with cutaneous melanoma, although there is a significant number of patients with predominant reticular and homogeneous patterns, which are not often associated with an increased risk of development of melanoma.

Key words: dermoscopy, melanoma, cutaneous malignant melanoma.

Introduction

Unless diagnosed and excised at an early stage, cutaneous melanoma (CM) is a potentially lethal malignant tumor [1–3]. In recent years, it has become a major public health challenge due to its increasing incidence and mortality [1, 4–7]. Positive family and personal history of melanoma, Fitzpatrick phototype I and II, UVR exposure and high total nevus count are well-known risk factors for development of malignant melanoma [8, 9]. Presence of plural nevi is both an independent predictor for melanoma and a potential precursor for the discussed malignancy [9–13]. Dermoscopy is commonly used in the evaluation of melanocytic nevi and in early detection of melanomas (Figure 1). An experienced dermoscopist identifies numerous dermoscopic structures and patterns in the examination. Dermoscopic inspection of specific patterns is conducted in order to differentiate

between benign and potentially malignant lesions. Thus understanding the possible relation between the nevus pattern and melanoma development may be important for improving early detection of melanoma. Since the late 1970s “dysplastic” nevi have been known to be associated with increased risk of melanoma, especially if the patient has been diagnosed with dysplastic nevus syndrome (B-K mole syndrome). Unfortunately, nowadays the terms dysplastic nevus (DN) and dysplastic nevus syndrome are controversial, especially with regards to the histologic definition of DN and common lack of its correlation with the clinical picture [14–16]. What is more, there is insufficient research into the relation between dominant dermoscopic patterns including the patterns which are considered benign and the incidence of cutaneous melanoma.

Address for correspondence: Katarzyna Podolec, Department of Dermatology, Jagiellonian University Medical College, 8 Skawska St, 31-066 Krakow, Poland, phone: +48 501 543 249, e-mail: kasiapodolec@gmail.com; katarzyna.podolec@uj.edu.pl

Received: 8.07.2019, **accepted:** 21.02.2020.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International (CC BY-NC-SA 4.0). License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>)



Figure 1. Videodermoscopic picture of melanoma presenting with ulcerated nodule visible within horizontal lesion. On pathology examination: nodular melanoma, Breslow 3.1; mitotic index 13 with ulceration present

Aim

The aim of the study was to determine if there is a predominance of one dermoscopic pattern in patients with melanoma and if there is a significant difference in the dominant global dermoscopic pattern in patients with cutaneous melanomas correlated with patients' age, sex, and the location of the primary tumor.



Figure 2. Junctional melanocytic nevus presenting reticular pattern. Lesion located on upper limb

Material and methods

This observational retrospective study was conducted by 2 dermatologists. It involved collecting videodermoscopic pictures and patient data from the Dermatology Department, Jagiellonian University Medical College in Krakow, Poland from the period 2013–2018. The study included 162 patients with a prior diagnosis of cutaneous melanoma. All the patients remain under observation at the Videodermoscopy Practice at the Dermatology Department, which is designated for the follow-up of patients from melanoma risk groups including patients with dysplastic nevus syndrome, neurocutaneous melanosis, positive personal and family history of melanoma. At the practice all patients diagnosed with melanoma underwent two total body dermoscopies conducted using Heine Delta/Delta Plus handheld dermoscopes (Heine Optotechnik). All examinations were conducted by two dermatologists. The first examination (total body dermoscopy and videodermoscopy of atypical lesions) was within 1 month since the diagnosis of cutaneous melanoma, and subsequent examinations were within 3–6 months (also total body dermoscopy and videodermoscopy of atypical lesions). During the examinations the global dermoscopic pattern was evaluated and atypical lesions were marked in order to be archived by means of videodermoscopy. The nevi were subclassified with regard to the pattern: reticular (Figure 2), globular (Figure 3), homogeneous and mixed pattern (two-component pattern; reticular-globular pattern) (Figure 4) with central or peripheral globules and multicomponent (mixed – at least 3 types of structures in one nevus). We defined the global pattern as dominant if it was seen in 50% or more of patients' nevi. Melanocytic lesions meeting the criteria of atypical nevus (marked during dermoscopic examination) were reexamined using a videodermoscope and all acquired pictures (both micro- and macroscopic) were archived. The criteria for videodermoscopic monitoring of the lesion included asymmetry in 2 axes, border irregularity, color variability, abrupt periph-



Figure 3. Dermal melanocytic nevus presenting globular pattern. Lesion located on upper limb

eral cut-off of pigment network, asymmetrical/peripheral dots/globules [17–19]. Videodermoscopic pictures were acquired using videodermoscopes (Fotofinder, Teach-Screen GmbH, Bad Birnbach, Germany) at minimum 20× and maximum 120× magnification.

Statistical analysis

All acquired data were tabulated and all analyses were performed with Microsoft Excel (Microsoft Office 2019; Microsoft) and Statistica v 13.3 (StatSoft; TIBCO Software Inc.). The χ^2 test was used to evaluate the association between dominant global pattern of nevi and patients' sex/location of primary tumors (with a p -value of less than 0.05 considered statistically significant).

Results

The group consisted of 162 patients – 92 women and 70 men, aged between 26 and 97 years on the day of diagnosis (average 63 years, median 64 years, including 2 patients ≤ 30 years). The mean number of nevi in the patients was 97. Assessing the location of primary tumor: 45.06% (73) of the primary lesions were located on the trunk, 21.6% (35) on lower limbs, 17.3% (28) on upper limbs and 16% (26) on the head (scalp). Taking into account skin phototype, all examined patients in the group were Fitzpatrick skin type II.

In 29.6% (48) patients' melanomas were histologically assessed as *in situ* and 70.4% (114) were invasive. As assessed in the pathology examination, ulceration was present in 11 (6.79%) cases, while 151 (93.21%) cases did not involve any microscopically detectable ulceration. In 119 (73.5%) patients the mitotic index was 0/mm² and in 43 (26.5%) cases the mitotic index was ≥ 1 /mm² up to 20/mm².

In all patients global dermoscopic patterns were evaluated and subclassified as reticular (27.16%, 44 patients), globular (0%, no patients with dominant globular pattern), homogeneous (27.16%, 44 patients), mixed (12.96%, 21 patients) and multicomponent (32.72%, 53 patients).

We performed the χ^2 test to assess the relation between prevalence of each subtype of global dermoscopic patterns and patients' sex (Table 1). The reticular pattern was significantly more prevalent in male patients (38.57%, 27 patients) in comparison to female patients (18.45%, 17 patients) ($p = 0.041$). There was no significant predominance of other patterns depending on patients' sex.

In terms of a relation between dominant global pattern of nevi in patients and the location of primary tumors using the χ^2 test we found a statistically significant ($p = 0.030$) lower prevalence of the reticular pattern in patients diagnosed with melanomas located on upper limbs. The homogeneous pattern was statistically significantly more prevalent in patients in whom primary tumors were located on the head and upper limbs.

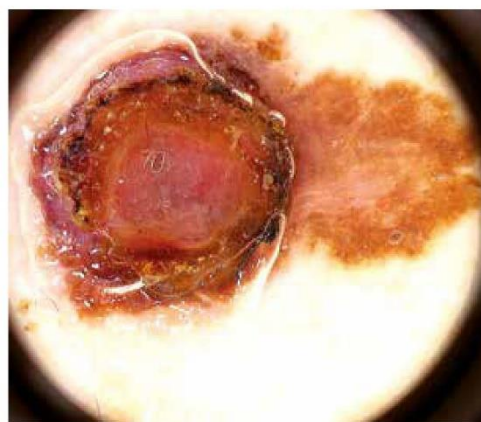


Figure 4. Junctional melanocytic nevus presenting mixed (reticular-globular) pattern. Lesion located on trunk

Discussion

Previous studies have shown an increased risk of melanoma in patients with a high nevus count or plural dysplastic nevi. A dysplastic nevus is defined as a clinically atypical nevus usually when it exceeds 5 mm in diameter, has variable pigmentation and poorly defined borders. According to the definition DN shows melanocytic dysplasia in pathological examination. However, the concordance between clinical and histological diagnosis of dysplastic nevus is rather low. In the discussed study we evaluated all melanocytic lesions by means of dermoscopy, and melanocytic nevi meeting the criteria of atypical nevus (asymmetry in 2 axes, border irregularity, color variability, abrupt peripheral cut-off of pigment network, asymmetrical/peripheral dots/globules) were reexamined using a videodermoscope. In all examined patients the dominant global dermoscopic pattern was

Table 1. Relationship between global pattern of nevi and sex in patients with cutaneous melanoma. Various indexes (a and b) show statistically significant differences

Global pattern	Sex					
	Female		Male		Total	
	N	%	N	%	N	%
Multicomponent	33	35.87 ^a	20	28.57 ^a	53	32.72
Mixed	13	14.13 ^a	8	11.43 ^a	21	12.96
Reticular	17	18.48 ^a	27	38.57 ^b	44	27.16
Globular	0	0.00	0	0.00	0	0.00
Homogeneous	29	31.52 ^a	15	21.43 ^a	44	27.16
Total	92	100.00	70	100.00	162	100.00

$\chi^2(3) = 8.27$; $p = 0.041$.

evaluated twice (during two subsequent tests) and classified as reticular, globular, homogeneous, mixed and multicomponent.

Literature data suggest that the prevalent nevus pattern may be influenced by age, sex, Fitzpatrick's skin type, UVR exposure and history of melanoma.

UVR exposure – a well-known risk factor for development of CM – has been proven to increase the prevalence of acquired melanocytic nevi [20], and the number of large (> 5 mm) acquired melanocytic nevi is proportional to the number of sunburns [21]. Nevi exposed to UV radiation show darkening of pigmentation, fading of pigment network, increase in size, development of irregular dots and globules – though changes are described as reversible [22, 23].

In our study there were no patients showing a globular pattern of nevi as the predominant one. The examined patients presented with every other pattern of nevi as the predominant one with various frequency (reticular 27.16%, homogeneous 27.16%, mixed 12.96%, and multicomponent 32.72%). In the study conducted by Zalaudek *et al.* globular nevi were significantly more prevalent in people between 2 to 20 years of age and the prevalence of such nevi apparently decreased with patients' age to reach 0.9% in the population aged > 75 years [24]. The Framingham school nevus study conducted by Scope *et al.* also showed the globular pattern as the predominant one in 38% of examined school children [25]. Douglas *et al.* researched dermoscopic nevus patterns in people at high versus moderate/low melanoma risk and also found that globular nevi are more commonly observed in younger groups [26]. In our study patients' age varied between 26 and 97 with an average of 63 and median of 64 years, which suggests that most patients were at the age which is less susceptible to plural globular nevi in comparison to the younger population.

The prevalence of any atypical nevi in white-skinned populations ranges from 30 to 60 percent of patients with a personal history of melanoma in comparison to 2–10% in the white population with no history of melano-

ma [27, 28]. Due to the well-known correlation between the presence of atypical nevi and increased risk of melanoma, digital dermoscopy is commonly recommended in people with plural atypical nevi.

The focus of our study was the relationship between the predominant pattern, patients' sex and location of the primary tumor. We found no subgroup of patients (previously diagnosed with cutaneous melanomas) with statistically higher presence of the dominant global multicomponent or mixed (2-component) pattern – which are clinically and dermoscopically most consistent with atypical/dysplastic nevus.

The research by Lipoff *et al.* into the global pattern of nevi on back skin revealed that nevi with the complex dermoscopic pattern are more prevalent in patients who develop melanoma. In the cited study the group of researchers considered all nevi presenting both a pigment network and globules (with or without structureless areas) complex. The study, however, had some limitations including a small sample group and the fact that only the nevi on the patients' backs were evaluated. In our study we classified the nevi described by Lipoff as complex either as mixed (2-component) or multicomponent. The predominant multicomponent pattern was most prevalent (32.72 %) and together with the mixed pattern occurred in 45.68% of all cases.

Duffy *et al.* in their study examining the relationship between subtype counts of nevi (without determining the dominant subtype) and cutaneous melanoma found that the number of homogeneous subtype nevi was most highly associated with CM risk, followed by the complex pattern, then reticular then globular [29].

On the other hand, we found that the dominant reticular pattern is significantly more prevalent in male patients (38.57%) with melanoma in comparison to female patients (18.45%) (Table 1). Since the reticular pattern is commonly considered benign in comparison to the multicomponent pattern, we find the result inconsistent with previous studies, but we regard this result an important stimulus for further research in this area, espe-

Table 2. Comparison of the location of the primary tumor with prevalence of global pattern in patients. Various indexes (a and b) show statistically significant differences

Global pattern	Location of primary tumor									
	Head		Trunk		Upper limb		Lower limb		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Multicomponent	5	19.23 ^a	29	39.73 ^a	9	32.14 ^a	10	28.57 ^a	53	32.72
Mixed	2	7.69 ^a	9	12.33 ^a	4	14.29 ^a	6	17.14 ^a	21	12.96
Reticular	8	30.77 ^a	21	28.77 ^a	2	7.14 ^b	13	37.14 ^a	44	27.16
Globular	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
Homogeneous	11	42.31 ^a	14	19.18 ^b	13	46.43 ^a	6	17.14 ^b	44	27.16
Total	26	100.00	73	100.00	28	100.00	35	100.00	162	100.00

$\chi^2(9) = 18.46; p = 0.030$.

cially considering the fact that melanomas diagnosed in male patients in the study group showed a statistically significantly higher Breslow's index value (0.16 mm) in comparison to female patients (0.12 mm).

In an attempt to assess a possible relation between a dominant global pattern of nevi in patients and location of primary tumors we found statistically significantly lower prevalence of the reticular pattern in patients diagnosed with melanomas located on upper limbs (Table 2). The homogeneous pattern was statistically significantly more prevalent in patients in whom primary tumors were located on the head and upper limbs. There was no group of patients with a specific location of tumors that would present with a dominant complex or multicomponent pattern.

The limitation of the study is that the dermoscopic pattern of melanomas was not evaluated, since not all melanomas were evaluated by both researching dermatologists (some of the patients were referred to our clinic after primary resection of the tumor – therefore dermoscopy/videodermoscopy of the tumor was not performed). However, we have conducted and published such an evaluation (dermoscopic features in different dermatopathological stages of cutaneous melanomas) in 81 of 162 described patients [30].

Conclusions

Our study suggests that predominant complex patterns are more commonly observed in patients diagnosed with cutaneous melanoma. On the other hand, there is a significant number of melanoma patients with predominant reticular and homogeneous patterns, which are not often recognized as associated with an increased risk of development of melanoma.

In the light of our research and increasing incidence of cutaneous melanoma, we believe that we may not disregard screening in patients with a seemingly benign dominant pattern of nevi, and the utility of predominant dermoscopic patterns for predicting melanoma risk shall be studied further.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Erdmann F, Lortet-Tieulent J, Schüz J, et al. International trends in the incidence of malignant melanoma 1953-2008: are recent generations at higher or lower risk? *Int J Cancer* 2013; 132: 385-400.
- Crocetti E, Mallone S, Robsahm TE, et al. Survival of patients with skin melanoma in Europe increases further: results of the EUROCARE-5 study. *Eur J Cancer* 2015; 51: 2179-90.
- Survival Rates for Melanoma Skin Cancer, by Stage. <https://www.cancer.org/cancer/melanoma-skin-cancer/detection-diagnosis-staging/survival-rates-for-melanoma-skin-cancer-by-stage.html>. Accessed September 17, 2018.
- Czerniak skóry (C43). KRN. <http://onkologia.org.pl/czerniak-skory-c43/>. Accessed September 14, 2018.
- Kulichová D, Dáňová J, Kunte C, et al. Risk factors for malignant melanoma and preventive methods. *Cutis* 2014; 94: 241-8.
- Porto AC, Blumetti TP, de Paula Ramos Castro R, et al. Recurrent halo nevus: dermoscopy and confocal microscopy features. *JAAD Case Reports* 2017; 3: 256-8.
- Matthews NH, Li WQ, Qureshi AA, et al. Epidemiology of melanoma. Codon Publications 2017.
- Rastrelli M, Tropea S, Rossi CR, Alaibac M. Melanoma: epidemiology, risk factors, pathogenesis, diagnosis and classification. *In Vivo* 2014; 28: 1005-11.
- Grob JJ, Gouvenet J, Aymar D, et al. Count of benign melanocytic nevi as a major indicator of risk for nonfamilial nodular and superficial spreading melanoma. *Cancer* 1990; 66: 387-95.
- Balch CM, Soong SJ, Gershenwald JE, et al. Prognostic factors analysis of 17,600 melanoma patients: validation of the American Joint Committee on Cancer Melanoma Staging System. *J Clin Oncol* 2001; 19: 3622-34.
- Mar V, Wolfe R, Kelly JW. Predicting melanoma risk for the Australian population. *Australas J Dermatol* 2011; 52: 109-16.
- Colebatch AJ, Scolyer RA. Trajectories of premalignancy during the journey from melanocyte to melanoma. *Pathology* 2018; 50: 16-23.
- Holly EA, Kelly JW, Shpall SN, Chiu SH. Number of melanocytic nevi as a major risk factor for malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1987; 17: 459-68.
- Stefanato CM. The "dysplastic nevus" conundrum: a look back, a peek forward. *Dermatopathology* 2018; 5: 53-7.
- Bassoli S, Maurichi A, Rodolfo M, et al. CDKN2A and MC1R variants influence dermoscopic and confocal features of benign melanocytic lesions in multiple melanoma patients. *Exp Dermatol* 2013; 22: 411-6.
- Duffy K, Grossman D. The dysplastic nevus: from historical perspective to management in the modern era. *J Am Acad Dermatol* 2012; 67: 1e1-16.
- Kittler H, Marghoob AA, Argenziano G, et al. Standardization of terminology in dermoscopy/dermatoscopy: results of the third consensus conference of the International Society of Dermoscopy HHS Public Access. *J Am Acad Dermatol* 2016; 74: 1093-106.
- Thomas L, Tranchand P, Berard F, et al. Semiological value of ABCDE criteria in the diagnosis of cutaneous pigmented tumors. *Dermatology* 1998; 197: 11-7.
- Nachbar F, Stolz W, Merkle T, et al. The ABCD rule of dermatoscopy. High prospective value in the diagnosis of doubtful melanocytic skin lesions. *J Am Acad Dermatol* 1994; 30: 551-9.
- Valiukeviciene S, Miseviciene I, Gollnick H. The prevalence of common acquired melanocytic nevi and the relationship with skin type characteristics and sun exposure among children in Lithuania. *Arch Dermatol* 2005; 141: 579-86.
- Harrison SL, MacLennan R, Buettner PG. Sun exposure and the incidence of melanocytic nevi in young Australian children. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17: 2318-24.
- Manganoni AM, Tucci G, Venturini M, et al. Repeated equally effective suberythemogenic exposures to ultraviolet (UV)A1 or narrowband UVB induce similar changes of the dermoscopic pattern of acquired melanocytic nevi that can be prevented by high-protection UVA-UVB sunscreens. *J Am Acad Dermatol* 2008; 58: 763-8.

23. Hofmann-Wellenhof R, Peter Soyer H, Wolf IH, et al. Ultraviolet radiation of melanocytic nevi: a dermoscopic study. *Arch Dermatol* 1998; 134: 845-50.
24. Zalaudek I, Schmid K, Marghoob AA, et al. Frequency of dermoscopic nevus subtypes by age and body site. *Arch Dermatol* 2011; 147: 663.
25. Scope A, Dusza SW, Marghoob AA, et al. Clinical and dermoscopic stability and volatility of melanocytic nevi in a population-based cohort of children in framingham school system. *J Invest Dermatol* 2011; 131: 1615-21.
26. Douglas NC, Borgovan T, Carroll MJ, et al. Dermoscopic naevus patterns in people at high versus moderate/low melanoma risk in Queensland. *Australas J Dermatol* 2011; 52: 248-53.
27. Pellacani G, De Pace B, Reggiani C, et al. Distinct melanoma types based on reflectance confocal microscopy. *Exp Dermatol* 2014; 23: 414-8.
28. MacKie RM, Hauschild A, Eggermont AMM. Epidemiology of invasive cutaneous melanoma. *Ann Oncol* 2009; 20 (Suppl 6): vi1-7.
29. Duffy DL, Jagirdar K, Lee KJ, et al. Genes determining nevus count and dermoscopic appearance in Australian melanoma cases and controls. *J Invest Dermatol* 2020; 140: 498-501.e17.
30. Podolec K, Bronikowska A, Pirowska M, Wojas-Pelc A. Dermoscopic features in different dermatopathological stages of cutaneous melanomas. *Adv Dermatology Allergol* doi:10.5114/ada.2019.83221.

5. METODOLOGIA PRAC SKŁADAJĄCYCH SIĘ NA DYSERTACJĘ

Badania podejmujące wyżej przedstawione problemy zostały przeprowadzone w Gabinetzie Zaburzeń Barwnikowych Katedry i Kliniki Dermatologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Wspomniany gabinet wykorzystywany jest do wczesnej diagnostyki nowotworów skóry oraz sekwencyjnej oceny melanocytowych zmian skórnych u pacjentów z grupy ryzyka rozwoju czerniaka (z wywiadem osobniczym oraz rodzinnym w kierunku czerniaka, zespołem znamion atypowych, rzadkimi zespołami genetycznymi związanymi ze zwiększonym ryzykiem rozwoju czerniaka, np.: melanozą nerwowo-skrórną). Badania wykonane zostały z zastosowaniem dermatoskopów ręcznych Heine Delta 20/ Heine Delta 20 Plus/ Heine Delta 20 T (Heine Optotechnik). Obrazy wideodermoskopowe zostały zebrane z zastosowaniem wideodermoskopów Fotofinder (TeachScreen GmbH, Bad Birnbach, Germany). Obrazy refleksyjnej mikroskopii konfokalnej zostały wykonane z użyciem mikroskopu Vivascope 1500 (MAVIG GmbH, Munich, Germany).

W pierwszym z opisywanych badań ewaluacji zostały poddane obrazy wideodermoskopowe 81 czerniaków skóry w celu oceny występowania wybranych struktur dermoskopowych: regresji, pepperingu, białoniebieskiego zamglenia („objaw welonu”), atypowych naczyń krwionośnych/ atypowych struktur naczyniowych, atypowej siatki barwnikowej, atypowych kropek i globul, nieregularnych smug (smug gałązkowatych), pseudopodiów, guzków i wzorca wieloskładnikowego (złożonego). Częstość występowania poszczególnych struktur dermoskopowych została odniesiona do stopnia zaawansowania histopatologicznego zmiany z uwzględnieniem skali Breslow, indeksu mitotycznego oraz występowania bądź braku owrzodzenia jak również do płci pacjentów oraz lokalizacji ogniska pierwotnego nowotworu. Obrazy oceniane były w sposób niezależny przez 2 dermatologów z minimum 6-letnim doświadczeniem w dermatologii ogólnej i dermoskopii. W celu obiektywizacji przeprowadzanej oceny wyniki badań histopatologicznych zostały zaślepiene przed osobami oceniającymi.

W badaniu oceniającym zasadność wykonywania refleksyjnej mikroskopii konfokalnej jako badania 2-go stopnia w zmianach skórnych spełniających dermatoskopowe kryteria podejrzenia czerniaka ocenie poddano 46 guzów. Wszystkie zmiany poddane ewaluacji spełniały kryteria podejrzenia czerniaka według skali 3-stopniowej (opisanej przez G. Argenziano) oraz 7-punktowej listy kontrolnej. W badaniach RCM ocenie poddane zostały 3 horyzontalne mozaiki (VivaBlocks) reprezentujące kolejno naskórek, granicę skórno - naskórkową oraz powierzchowne warstwy skóry właściwej. Ponadto poddane ocenie zostały

VivaStacks – serie kolejnych obrazów $500 \times 500 \mu\text{m}$ wykonywanych w pionie co $4\text{--}5 \mu\text{m}$ – wykonane dla okolic zmian wykazujących największy stopień atypii. Analiza obrazów przeprowadzona została zgodnie z kryteriami diagnostycznymi stworzonymi przez G. Pellacani uwzględniającymi atypię komórkową na poziomie skórno-naskórkowym oraz nieostro odgraniczone brodawki skórne (tzw. kryteria większe). Okrągławe komórki pagetoidalne, rozległe nacieki z komórek pagetoidalnych, mózgopodobne gniazda i komórki jądrzaste w górnych częściach warstwy brodawkowej zgodnie z kryteriami zaliczane były do kryteriów mniejszych [12]. Zmiana była uznawana za złośliwą, gdy stwierdzono 2 kryteria większe lub 1 kryterium większe i 2 mniejsze. Analizie zostały poddane zarówno czułość i swoistość refleksyjnej mikroskopii konfokalnej jako badania potwierdzającego rozpoznanie czerniaka skóry, jak również czułość i swoistość występowania poszczególnych struktur mikroskopowych. Obrazy oceniane były w sposób niezależny przez 2 dermatologów z minimum 6-letnim doświadczeniem w dermatologii ogólnej i dermoskopii. W celu obiektywizacji przeprowadzanej oceny wyniki badań histopatologicznych oraz obrazy dermoskopowe zostały zaślepione przed osobami oceniającymi.

W trzecim opublikowanym badaniu „Predictive value of global dermoscopic pattern in patients diagnosed with cutaneous melanoma” przeprowadzono analizę występowania dominującego wzorca znamion melanocytowych w grupie 162 pacjentów (92 kobiety oraz 70 mężczyzn) u których zdiagnozowano czerniaka skóry. U pacjentów wykonane były minimum 2 badania dermoskopowe wszystkich zmian barwnikowych z określeniem dominującego wzorca znamion. Obrazy zmian o cechach atypii były dodatkowo utrwalane z zastosowaniem wideodermoskopii. Wzorce zmian melanocytowych klasyfikowano jako: wzorzec siatki barwnikowej, globularny, homogenny oraz mieszany (dwukomponentowy) i wielokomponentowy (złożony z występowaniem co najmniej 3 struktur melanocytowych w obrębie zmiany). Za wzorzec dominujący uznano wzorzec występujący w minimum 50% zmian melanocytowych u danego pacjenta. W opisywanym badaniu analizie poddano zależności pomiędzy występowaniem wzorca dominującego u pacjenta a płcią oraz lokalizacją guza na skórze.

6. PODSUMOWANIE WYNIKÓW

W pierwszej pracy wchodzącej w skład dysertacji pt.: „Dermoscopic features in different dermatopathological stages of cutaneous melanomas” analizowaliśmy zależności pomiędzy występowaniem wybranych struktur dermoskopowych (regresji, pepperingu, białoniebieskiego zamglania, atypowych naczyń krwionośnych/ atypowych struktur naczyniowych, atypowej siatki barwnikowej, atypowych kropek i globul, nieregularnych smug, pseudopodiów, guzków i wzorca wieloskładnikowego) a stopniem zaawansowania czerniaków skóry (wyrażonym skalą Breslow, indeksem mitotycznym oraz obecnością lub brakiem owrzodzenia w obrazie histopatologicznym) i lokalizacją guza na skórze oraz płcią pacjentów. Analizując obrazy dermoskopowe w odniesieniu do oceny histopatologicznej stwierdziliśmy, że 1) pseudopodia oraz wzorzec wielokomponentowy występują statystycznie częściej w czerniakach naciekających w porównaniu do czerniaków *in situ*; 2) objaw regresji występuje częściej w czerniakach naciekających o głębokości nacieku $\geq 1,00$ mm; 3) atypowe naczynia krwionośne oraz guzki są bardziej specyficzne dla czerniaków naciekających z występującymi owrzodzeniami oraz indeksem mitotycznym ≥ 1 . W ocenie odnoszącej się do lokalizacji ogniska pierwotnego na skórze zaobserwowaliśmy, że 1) pseudopodia stwierdzane były częściej w obrębie czerniaków występujących na kończynach dolnych, rzadziej na tułowie i kończynach górnych; 2) atypowa siatka barwnikowa częściej występowała w obrębie czerniaków zlokalizowanych na skórze kończyn dolnych i tułowia w porównaniu do skóry kończyn górnych i głowy. Ponadto w badanej grupie statystycznie częściej opisywano wystąpienie atypowych naczyń krwionośnych oraz wzorca złożonego w grupie kobiet w porównaniu do mężczyzn.

W badaniu pt.: „Diagnostic accuracy of reflectance confocal microscopy for pigmented skin lesions presenting dermoscopic features of cutaneous melanoma” analizie poddane zostały czułość i swoistość wyników badania refleksyjnym mikroskopem konfokalnym w odniesieniu do dermatoskopii oraz czułość i swoistość występowania poszczególnych struktur mikroskopowych (atypii komórkowej na poziomie skórno-naskórkowym, nieostro odgraniczonych brodawek skórnych, okrągławych komórek pagetoidalnych, rozległych nacieków z komórek pagetoidalnych, mózgopodobnych gniazd i komórek jądrazstych w górnych częściach warstwy brodawkowatej). W badaniu 46 zmian melanocytowych spełniających kryteria dermoskopowe rozpoznania czerniaka analiza z zastosowaniem RCM wykazała czułość na poziomie 100% oraz swoistość na poziomie 62%. W ocenie poszczególnych struktur mikroskopowych najwyższą swoistością cechowało się wystąpienie

struktur o obrazie mózgoidalnych gniazd (100%), natomiast największą czułość – na poziomie 93.9 % - zaobserwowano dla atypii komórkowej na poziomie skórno-naskórkowym.

W pracy pt.: „Predictive value of global dermoscopic pattern in patients diagnosed with cutaneous melanoma” oceniającej występowanie potencjalnych zależności pomiędzy dominującym wzorcem zmian melanocytowych u pacjentów ze stwierdzonym występowaniem czerniaka skóry a wiekiem i płcią pacjentów oraz lokalizacją guza na skórze stwierdziliśmy występowanie dominującego wzorca siatki barwnikowej u 27,16%, homogennego u 27,16%, 2- komponentowego u 12,96% oraz wieloskładnikowego u 32,72% pacjentów.

W poddanej badaniu grupie 162 chorych dorosłych w wieku 26-97 lat u nikogo nie stwierdzono występowania wzorca globularnego jako dominującego, co wynika z faktu, że średnia wieku badanych pacjentów wynosiła 63 lata (mediana 64) a wzorzec globularny obserwowany jest częściej u dzieci i młodzieży. Najczęściej w ocenianej grupie pacjentów obserwowano wzorce złożone (wieloskładnikowy oraz dwuskładnikowy stanowiące razem 45,68%). W badaniu zwraca uwagę statystycznie istotna większa częstość występowania dominującego wzorca siatki barwnikowej u mężczyzn w porównaniu do kobiet. Oceniając zależność pomiędzy dominującym wzorcem znamion melanocytowych u pacjentów a lokalizacją ogniska pierwotnego zaobserwowano statystycznie istotnie mniejszą częstość występowania wzorca siatki barwnikowej u pacjentów ze stwierdzonymi czerniakami skóry kończyn górnych. Wzorzec homogeny częściej występował u pacjentów u których czerniaki zlokalizowane były na skórze kończyn górnych oraz głowy.

7. WNIOSKI

Przedstawione badania analizowały możliwe czynniki prognostyczne oraz czynniki ryzyka w grupie pacjentów ze stwierdzonymi czerniakami skóry.

W pierwszym z przedstawionych badań stwierdziliśmy, że występowanie w obrazie dermoskopowym czerniaka atypowej siatki barwnikowej wiąże się z małym zaawansowaniem nacieku guza. Dla odróżnienia – wystąpienie pseudopodiów, objawu regresji, atypowych naczyń, guzków oraz wzorca wieloskładnikowego wskazuje na zaawansowane stadium guza dające potencjalnie większe ryzyko przerzutów in transit, do węzłów chłonnych lub przerzutów odległych.

W drugim badaniu – poddaliśmy ewaluacji potencjalne zalety dwustopniowej oceny zmian melanocytowych z zastosowaniem dermoskopii i refleksyjnej mikroskopii konfokalnej. W grupie zmian skórnych spełniających warunki rozpoznania czerniaka w dermoskopii stwierdziliśmy 100% czułość refleksyjnej mikroskopii konfokalnej jako metody uzupełniającej diagnostykę dermoskopową czerniaków skóry. Swoistość badania wyniosła 62%, co sugeruje słuszność zastosowania RCM jako uzupełniającego badania obrazowego. Refleksyjna mikroskopia konfokalna pozwala zwiększyć dokładność badania. W przypadku niezłośliwych znamion o stwierdzonej znacznej atypii w badaniu dermoskopowym – pozwala wykryć ponad 60% zmian nienowotworowych, dając potencjalnie redukcję niepotrzebnych zabiegów dermatochirurgicznych.

W trzecim z opisywanych badań w grupie pacjentów z rozpoznaniem czerniakiem skóry w dermoskopii stwierdziliśmy, że wzorzec złożony (mieszany i wielokomponentowy) – często kojarzony ze zwiększonym ryzykiem rozwoju czerniaka skóry - był najczęściej stwierdzanym wzorcem dominującym. Tym niemniej u znacznej liczby pacjentów w badaniu dominował wzorzec homogenny lub siatki barwnikowej. Ponadto statystycznie istotne częstsze występowanie dominującego wzorca siatki barwnikowej w grupie mężczyzn – u których stopień zaawansowania choroby był większy - w porównaniu do kobiet sugeruje, że także pacjenci z potencjalnie „łagodnym” dominującym wzorcem dermoskopowym powinni – podobnie jak pacjenci ze znamionami atypowymi – być poddawani regularnej kontroli.

8. IMPLIKACJE PRAKTYCZNE

Wyniki badań niniejszej dysertacji stanowią wkład w poznanie wybranych czynników ryzyka oraz czynników prognostycznych w diagnostyce obrazowej z zastosowaniem wideodermatoskopii i refleksyjnej mikroskopii konfokalnej w odniesieniu do badania histopatologicznego u pacjentów z czerniakami skóry. Podsumowując wydaje się, że:

- 1) W wykonywanych badaniach dermoskopowych/ wideodermoskopowych zmian melanocytowych spełniających kryteria podejrzenia czerniaka skóry istotne jest wyróżnienie i ocena poszczególnych struktur dermoskopowych w obrębie zmian. Umożliwia to wnioskowanie o możliwym lokalnym zaawansowaniu choroby ze względu na zróżnicowaną częstość występowania poszczególnych struktur w zależności od stopnia zaawansowania miejscowego zmiany. W świetle naszych obserwacji - wystąpienie pseudopodiów, objawu regresji, atypowych naczyń, guzków oraz wzorca wieloskładnikowego wskazuje na zaawansowane stadium guza dające potencjalnie większe ryzyko przerzutów in transit, do węzłów chłonnych lub przerzutów odległych. Wystąpienie natomiast atypowej siatki barwnikowej może wiązać się z niższym stopniem zaawansowania choroby.
- 2) W ocenie zmian melanocytowych spełniających w dermoskopii kryteria podejrzenia czerniaka refleksyjna mikroskopia konfokalna nie tylko może potwierdzić diagnozę, ale co równie istotne – pozwala na rozpoznanie około 60 % fałszywie dodatnich przypadków. Z naszej obserwacji wynika, że zastosowanie RCM jako drugorzędowej metody diagnostycznej może dzięki jej właściwościom zmniejszyć o około 62% liczbę niekonicznych zabiegów dermatochirurgicznych, co w konsekwencji zmniejszy liczbę związanych z nimi powikłań, obniży koszty terapii oraz potencjalnie – przez zmniejszenie ilości procedur – skróci okres oczekiwania na zabieg oraz zmniejszy obciążenie psychiczne pacjentów związane z podejrzeniem choroby nowotworowej.
- 3) W grupie pacjentów z czerniakiem skóry w dermoskopii całego ciała najczęściej jako dominujące obserwowane są wzorce złożone (dwuskładnikowy oraz wielokomponentowy), częściej kojarzone z atypią. Interesujące jest, że często stwierdzaliśmy dominujący wzorzec homogeny oraz siatki barwnikowej –nie kojarzone zwykle ze zwiększonym ryzykiem rozwoju czerniaka. W świetle tych wyników uważamy, że pacjenci z potencjalnie „łagodnym” dominującym wzorcem

dermoskopowym znamion – podobnie jak pacjenci ze znamionami atypowymi -
powinni być poddawani regularnej kontroli dermoskopowej.

9. PIŚMIENNICTWO

1. Matthews NH, Li W-Q, Qureshi AA, Weinstock MA, Cho E. Epidemiology of Melanoma. Codon Publications; 2017.
doi:10.15586/CODON.CUTANEOUSMELANOMA.2017.CH1
2. MacKie RM, Hauschild A, Eggermont AMM. Epidemiology of invasive cutaneous melanoma. *Ann Oncol.* 2009;20(suppl 6):vi1-vi7. doi:10.1093/annonc/mdp252
3. Nikolaou V, Stratigos AJ. Emerging trends in the epidemiology of melanoma. *Br J Dermatol.* 2014;170(1):11-19. doi:10.1111/bjd.12492
4. Rastrelli M, Tropea S, Rossi CR, Alaibac M. Melanoma: epidemiology, risk factors, pathogenesis, diagnosis and classification. *In Vivo.* 28(6):1005-1011.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25398793>. Accessed October 1, 2018.
5. Grob JJ, Gouvernet J, Aymar D, et al. Count of benign melanocytic nevi as a major indicator of risk for nonfamilial nodular and superficial spreading melanoma. *Cancer.* 1990;66(2):387-395. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2369719>. Accessed October 1, 2018.
6. Kulichová D, Dáňová J, Kunte C, Ruzicka T, Celko AM. Risk factors for malignant melanoma and preventive methods. *Cutis.* 2014;94(5):241-248.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25474453>. Accessed October 1, 2018.
7. Kośeła H, Świtaj T, Rutkowski P, Hanna Kośeła Klinika Nowotworów Tkanek Miękkich L, Czerniaków K. www.opk.viamedica.pl PRACA PRZEGLĄDOWA. 2011;7(5):246-253. www.opk.viamedica.pl. Accessed May 13, 2018.
8. Data explorer | ECIS. [https://ecis.jrc.ec.europa.eu/explorer.php?\\$0-0\\$1-All\\$2-All\\$4-1,2\\$3-27\\$6-0,14\\$5-2008,2008\\$7-8\\$CEstByCountry\\$X0_8-3\\$X0_19-AE28E\\$X0_20-No\\$CEstRelative\\$X1_8-3\\$X1_9-AE28\\$X1_19-AE28E\\$CEstByCountryTable\\$X2_19-AE28E](https://ecis.jrc.ec.europa.eu/explorer.php?$0-0$1-All$2-All$4-1,2$3-27$6-0,14$5-2008,2008$7-8$CEstByCountry$X0_8-3$X0_19-AE28E$X0_20-No$CEstRelative$X1_8-3$X1_9-AE28$X1_19-AE28E$CEstByCountryTable$X2_19-AE28E). Accessed March 30, 2020.
9. Fleming MD, Galan A, Gastman B, et al. NCCN Guidelines Version 1.2020 Cutaneous Melanoma Aim at Melanoma Continue NCCN Guidelines Panel Disclosures.; 2019.
10. Pehamberger H, Steiner A, Wolff K. In vivo epiluminescence microscopy of pigmented skin lesions. I. Pattern analysis of pigmented skin lesions. *J Am Acad Dermatol.* 1987;17(4):571-583. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3668002>. Accessed September 22, 2018.
11. Sheu SL, Cho HG, Nord KM. Videodermoscopy as a novel tool for dermatologic education. *Cutis.* 2017;100(2):E25-E27.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28961304>. Accessed September 17, 2018.

12. Pellacani G, Cesinaro AM, Seidenari S. Reflectance-mode confocal microscopy of pigmented skin lesions—improvement in melanoma diagnostic specificity. *J Am Acad Dermatol*. 2005;53(6):979-985. doi:10.1016/j.jaad.2005.08.022

10. STRESZCZENIE

Cel:

Celem naszej pracy było wyznaczenie i ocena czynników prognostycznych w badaniach dermoskopowych i refleksyjnej mikroskopii konfokalnej (RCM) czerniaków skóry. Ocena przeprowadzona została przez szczegółowe zbadanie zależności pomiędzy występowaniem poszczególnych struktur dermoskopowych a stopniem zaawansowania czerniaków skóry; zbadanie wartości predykcyjnej dominującego wzorca dermoskopowego znamion w grupie pacjentów z czerniakiem oraz w drodze oceny skuteczności diagnostycznej RCM w odniesieniu do zmian skórnych spełniających dermoskopowe kryteria rozpoznania czerniaka.

Materiał i metody :

Badania zostały przeprowadzone w Gabinetzie Zaburzeń Barwnikowych Katedry i Kliniki Dermatologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Badania wykonane były z zastosowaniem dermatoskopów ręcznych Heine Delta 20/ Heine Delta 20 Plus/ Heine Delta 20 T (Heine Optotechnik). Obrazy wideodermoskopowe zostały zebrane z zastosowaniem wideodermoskopów Fotofinder (TeachScreen GmbH, Bad Birnbach, Germany). Obrazy refleksyjnej mikroskopii konfokalnej zostały wykonane z użyciem mikroskopu Vivascope 1500 (MAVIG GmbH, Munich, Germany). Obrazy oceniane były w sposób niezależny przez 2 dermatologów z minimum 6-letnim doświadczeniem w dermatologii ogólnej i dermoskopii. W celu obiektywizacji przeprowadzanej oceny wyniki badań histopatologicznych zostały zaślepione przed osobami oceniającymi.

Wyniki:

W badaniu dermoskopowym czerniaków skóry pseudopodia oraz wzorzec wielokomponentowy występowały statystycznie częściej w czerniakach naciekających w porównaniu do czerniaków in situ; objaw regresji występował częściej w czerniakach naciekających o głębokości nacieku $\geq 1,00$ mm; atypowe naczynia krwionośne oraz guzki były bardziej swoiste dla czerniaków naciekających z występującymi owrzodzeniami oraz indeksem mitotycznym ≥ 1 . W ocenie odnoszącej się do lokalizacji ogniska pierwotnego pseudopodia występowały częściej w obrębie czerniaków zlokalizowanych na kończynach dolnych; atypowa siatka barwnikowa częściej w obrębie czerniaków zlokalizowanych na skórze kończyn dolnych i tułowia. Ponadto w badanej grupie statystycznie częściej opisywano wystąpienie

atypowych naczyń krwionośnych oraz wzorca złożonego w grupie kobiet w porównaniu do mężczyzn.

W analizie wyników badania refleksyjnym mikroskopem konfokalnym w odniesieniu do dermatoskopii zmian spełniających dermoskopowe kryteria rozpoznania czerniaka RCM wykazała czułość na poziomie 100% oraz swoistość na poziomie 62%. W ocenie poszczególnych struktur mikroskopowych najwyższą swoistością cechowało się wystąpienie struktur o obrazie mózgoidalnych gniazd (100%), natomiast największą czułość – na poziomie 93.9 % - zaobserwowano dla atypii komórkowej na poziomie skórno-naskórkowym.

W badaniu oceniającym wartość predykcyjną dominującego wzorca dermoskopowego znamion w grupie pacjentów z czerniakiem skóry stwierdzono, że najczęściej w tej grupie pacjentów występują wzorce złożone (wieloskładnikowy oraz dwuskładnikowy stanowiące razem 45,68%). Stwierdzono też statystycznie istotną większą częstość występowania dominującego wzorca siatki barwnikowej u mężczyzn w porównaniu do kobiet; statystycznie istotną mniejszą częstość występowania wzorca siatki barwnikowej u pacjentów ze stwierdzonymi czerniakami skóry kończyn górnych; większą częstość występowania wzorca homogennego u pacjentów u których czerniaki zlokalizowane były na skórze kończyn górnych oraz głowy.

Wnioski:

Wyniki powyższych badań wskazują, że w badaniu dermoskopowym zmian spełniających kryteria podejrzenia czerniaka skóry stwierdzenie niektórych ze struktur dermoskopowych może wskazywać na stopień zaawansowania choroby. Zastosowanie refleksyjnej mikroskopii konfokalnej może zwiększyć dokładność diagnostyczną prowadząc do zmniejszenia ilości wyników fałszywie dodatnich wpływając tym samym na redukcję liczby niekoniecznych zabiegów dermatochirurgicznych. Przeprowadzone badania wskazują, że wzorce złożone najczęściej są wzorcami dominującymi w grupie pacjentów z czerniakami skóry, ale pacjenci z innymi wzorcami dominującymi powinni również być poddawani regularnym badaniom dermoskopowym.

11. ABSTRACT

Aim:

The aim of our study was to determine and assess the prognostic value of dermoscopic and reflectance confocal microscopy (RCM) evaluation of cutaneous melanoma. The assessment was carried out by detailed examination of the relationship between the presence of different dermoscopic structures and the grade of melanomas, by testing predictive value of the dominant dermoscopic pattern in the group of patients diagnosed with melanoma and by assessment of diagnostic accuracy of RCM in the lesions meeting the dermoscopic criteria for melanoma diagnosis.

Material and methods:

The studies were conducted at the Dermatology Department of the Jagiellonian University Medical College in Krakow, Poland. Heine Delta 20/ Heine Delta 20 Plus/ Heine Delta 20 T (Heine Optotechnik) handheld dermoscopes were used in the study as well as Fotofinder videodermoscope (TeachScreen GmbH, Bad Birnbach, Germany) and Vivascope 1500 reflectance confocal microscope (MAVIG GmbH, Munich, Germany). The tests were conducted independently by 2 dermatologists with the minimum of 6 years of experience in general dermatology and dermoscopy. In order to objectify the assessments, the results of histopathological examinations were blinded to evaluators.

Results:

Pseudopods and multicomponent pattern in dermoscopy were statistically more prevalent in invasive melanomas in comparison to in situ melanomas; regression structures were more prevalent in tumors ≥ 1 mm at Breslow Scale; atypical blood vessels and nodules were more specific for invasive melanomas with mitotic index ≥ 1 and ulceration present in histopathological examination. Assessing the relation between dermoscopic structures and location of primary tumor, we have shown that pseudopods were more commonly observed in melanomas localized on the lower extremities and atypical pigment network on the lower extremities and the trunk. Furthermore, the presence of atypical blood vessels and the complex pattern are statistically more prevalent in female patients.

A comparative analysis of the results of reflectance confocal microscopy and dermoscopy applied for skin lesions meeting the dermoscopic diagnostic criteria of melanoma have shown 100% sensitivity and 62% specificity. In the assessment of distinct microscopic

structures, the highest specificity was observed for the cerebriform nests (100%). Cell atypia at dermoepidermal junction showed 93,3% sensitivity.

In the study assessing predictive the value of the dominant dermoscopic pattern of nevi in the group of patients diagnosed with cutaneous melanoma complex, (multicomponent and two-component) patterns were most prevalent, representing 45.68%. A statistically significant higher prevalence of the dominant pigment network pattern was also found in men when compared to women. Moreover, there was a statistically significant lower prevalence of the pigment network in patients diagnosed with melanomas of the upper limbs and a higher prevalence of dominant homogenous pattern in patients diagnosed with melanomas on head and upper limbs.

Conclusions:

The results of cited/ above-presented studies suggest that identification of some specific dermoscopic structures in a dermoscopic examination of lesions meeting the diagnostic criteria of melanoma may indicate severity of the disease. The use of the reflectance confocal microscopy may increase the diagnostic accuracy, resulting in a reduction of the number of false positive diagnoses and unnecessary dermatosurgical procedures. Complex pattern is most commonly observed as dominant in patients diagnosed with melanoma; however, our studies indicate that patients with other dominant dermoscopic patterns should also undergo regular dermoscopic examinations.

12. OŚWIADCZENIA WSPÓŁAUTORÓW

Kraków, dnia 29.04.2020

Lek. Agnieszka Bronikowska

(tytuł zawodowy, imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. "Dermoscopic features in different dermatopathological stages of cutaneous melanomas".

Oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji to: ocena badań obrazowych.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez lek. Katarzynę Podolec jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Katarzynę Podolec przy opracowywaniu koncepcji, wykonywaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy.

Agnieszka Bronikowska

(podpis współautora)

Kraków, dnia 29.04.2020

Dr n. med. Paweł Brzewski

.....
(tytuł zawodowy, imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. "Predictive value of global dermoscopic pattern in patients diagnosed with cutaneous melanoma."

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji to:
ocena badań obrazowych.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez lek Katarzynę Podolec jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Katarzynę Podolec przy opracowywaniu koncepcji, wykonywaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy.



.....
(podpis współautora)

Kraków, dnia 29.04.2020

Prof. dr hab. Anna Wojaś Pele
.....
(tytuł zawodowy, imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor prac pt. „Dermoscopic features in different dermatopathological stages of cutaneous melanomas.”; “Diagnostic accuracy of reflectance confocal microscopy for pigmented skin lesions presenting dermoscopic features of cutaneous melanoma.”; “Predictive value of global dermoscopic pattern in patients diagnosed with cutaneous melanoma.”

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji to:
nadzór merytoryczny oraz krytyczna rewizja powstałych manuskryptów.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Katarzynę Podolec jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Katarzynę Podolec przy opracowywaniu koncepcji, wykonywaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy.

.....
(podpis współautora)

Kraków, dnia 29.04.2020

Dr n. med. Grzegorz Dyduch

.....
(tytuł zawodowy, imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

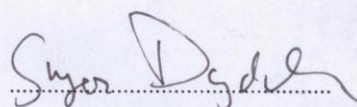
Jako współautor pracy pt. "Diagnostic accuracy of reflectance confocal microscopy for pigmented skin lesions presenting dermoscopic features of cutaneous melanoma."

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji to:

ocena badań histopatologicznych.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez lek Katarzynę Podolec jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Katarzynę Podolec przy opracowywaniu koncepcji, wykonywaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy.



(podpis współautora)

Kraków, dnia 29.04.2020

Dr n. Med. Magdalena Pirowska
.....
(tytuł zawodowy, imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor prac pt. „**Dermoscopic features in different dermatopathological stages of cutaneous melanomas.**”; “**Diagnostic accuracy of reflectance confocal microscopy for pigmented skin lesions presenting dermoscopic features of cutaneous melanoma.**”; “**Predictive value of global dermoscopic pattern in patients diagnosed with cutaneous melanoma.**”

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji to:

Ocena badań obrazowych

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez lek Katarzynę Podolec jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Katarzynę Podolec przy opracowywaniu koncepcji, wykonywaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy.


.....
(podpis współautora)