



Reflektans konfokal mikroskopi; normal deri morfolojisi ve melanositik lezyonlarda kullanımı

Reflectance confocal microscopy: its use in melanocytic lesions and morphology of normal skin

Aslı Vefa Turgut Erdemir, Ayşe Esra Koku Aksu

Istanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Dermatoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

Özet

İn vivo Reflektans Konfokal Mikroskopi (RKM); canlı deride, hücre ve diğer yapıların histolojik analize yakın düzeyde görüntülenmesini sağlayan noninvaziv bir tanı yöntemidir. Epidermis, papiller dermis ve yüzeysel retiküler dermisdeki dinamik olayların değerlendirilmesine olanak sağlar. Stratum korneumdan başlayarak maksimum 350 µm derinliğe kadar incelenebilir. Bu yöntemin noninvaziv özelliği, etkilenen alanda hasara yol açmadan tekrarlayan görüntüleme yapma ve tedavi yanıtının değerlendirilmesine olanak sağlar. RKM, melanin ve melanozomların yüksek kontrast kaynağı olması nedeni ile normal derinin ve özellikle melanositik deri lezyonlarının değerlendirilmesinde büyük kolaylıklar sağlamaktadır. Bu makalede RKM ile normal deri morfolojisi ve melanositik lezyonlarının özellikleri anlatılmaktadır. (Türkderm 2013; 47: 136-41)

Anahtar Kelimeler: Melanositik deri lezyonları, reflektans konfokal mikroskopi

Summary

In vivo reflectance confocal microscopy (RCM) is a noninvasive diagnostic method that allows imaging of cells and structures in living skin at high resolution with precision almost similar to histological analysis. RCM allows the assessment of dynamic events in the epidermis, papillary dermis and the superficial reticular dermis. From the stratum corneum to a depth of a maximum of 350µm can be analysed. The noninvasive feature of this technique allows repetitive imaging without any damage to the affected area and to evaluate the response to the treatment. RCM provides great convenience in the assessment of normal skin and particularly in evaluating melanocytic lesions due to high contrast features of melanins and melanosomes. In this article, morphology of normal skin and features of melanocytic lesions are described with RCM. (Turkderm 2013; 47: 136-41)

Key Words: Melanocytic skin lesions, reflectance confocal microscopy

Giriş

RKM yönteminin temel prensipleri ilk olarak Marvin Minsky tarafından 1957 yılında tanımlanmıştır, ancak teknolojinin insan derisinin görüntülenmesi için geliştirilmesi birkaç dekat sürmüştür. RKM'in insan derisinin görüntülenmesinde kullanılması ve tanımlama ilk olarak Rajadhyaksha ve arkadaşları tarafından 1995 yılında gerçekleşmiştir¹. Melanin ve melanozomlar, kuvvetli kontrast kaynağı

olması nedeni ile görüntülerde parlak yapılar şeklinde karşımıza çıkmaktadır¹. Bu durum konfokal araştırmalarının melanositik lezyonlar üzerinde yoğunlaşmasına neden olmuştur. Nevüslerin ve melanomun morfolojik özellikleri ilk olarak 2001 yılında tanımlanmıştır^{2,3}. Yakın zamanda melanom tanısında farklı tanısal algoritmalar geliştirilmiştir⁴⁻⁷. Konfokal mikroskopinin kullanıldığı diğer araştırma alanları non melanositik lezyonlar ve enflamatuvar deri lezyonlarıdır.

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Aslı Vefa Turgut Erdemir, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Dermatoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye
GSM: +90 505 268 56 51 E-posta: vefaasli@hotmail.com **Geliş Tarihi/Received:** 14.08.2013 **Kabul Tarihi/Accepted:** 28.08.2013

*Türkderm-Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi Dergisi, Galenos Yayınevi tarafından basılmıştır.
Türkderm-Archives of the Turkish Dermatology and Venerology, published by Galenos Publishing.*



Stratum spinosum ve stratum granulozum hücreleri parlak granüler stoplazma ve koyu oval-yuvarlak çekirdekleri ile birbirine yapışık bal peteği manzarasını oluşturur¹².

Stratum bazale: Yaklaşık olarak deri yüzeyinden 50-100 µm aşağıda tespit edilebilir. Bazal hücrelerin çapları yaklaşık 7-12 µm'dir. Bu hücreler soliter, parlak, yuvarlak-oval şekilli yapılar şeklinde görüntülenir (Resim 3d). Hücre çekirdekleri koyu halolar şeklindedir. Bazal hücreler kaldırım taşı paterni (cobblestone pattern) oluşturur. Pigmente keratinositler ve melanositler içerdikleri melaninin yüksek refraktilitesi nedeni ile RKM'de oldukça parlak olarak görülürler¹². Normal deride melanosit ve pigment bazal keratinosit ayırımını tam olarak yapmak zordur çünkü melanositlerin nadiren denritik uzantıları vardır ve yuvarlak oval yapılar şeklindedirler¹³. Bazal hücreler dermal papillanın etrafında parlak halkalar oluşturur, bu epidermis içinde karanlık delikler şeklinde karşımıza çıkar(kenarlı papilla)¹².

Dermis: Papiller dermis deri yüzeyinin 50-150 µm altında bulunur⁹. Dermal papilla koyu, yuvarlak-oval merkezinde vasküler yapıların bulunduğu, parlak bazal hücrelerden oluşmuş halka ile çevrelenmiş homojen alanlar şeklinde karşımıza çıkar (Resim 3e).

Gerçek zamanlı RKM incelemede papiller damarların içerisinde kan akımı gözlemlenebilir. Papiller damarlar çevredeki stromadan daha koyu şekilde görülür. Bu alanlar kollajen liflerle çevrelenmiştir. Bunların arasında yüksek refraktiliteleri nedeni ile melanofajlar kolaylıkla tespit edilir. Melanofajlar üst dermiste kan damarları çevresinde görülürler. Düzensiz şekilli, büyük, oldukça parlak nükleusu olmayan hücrelerdir². Retiküler dermisen sadece üst bölümü, ince deri alanlarında görülebilir,

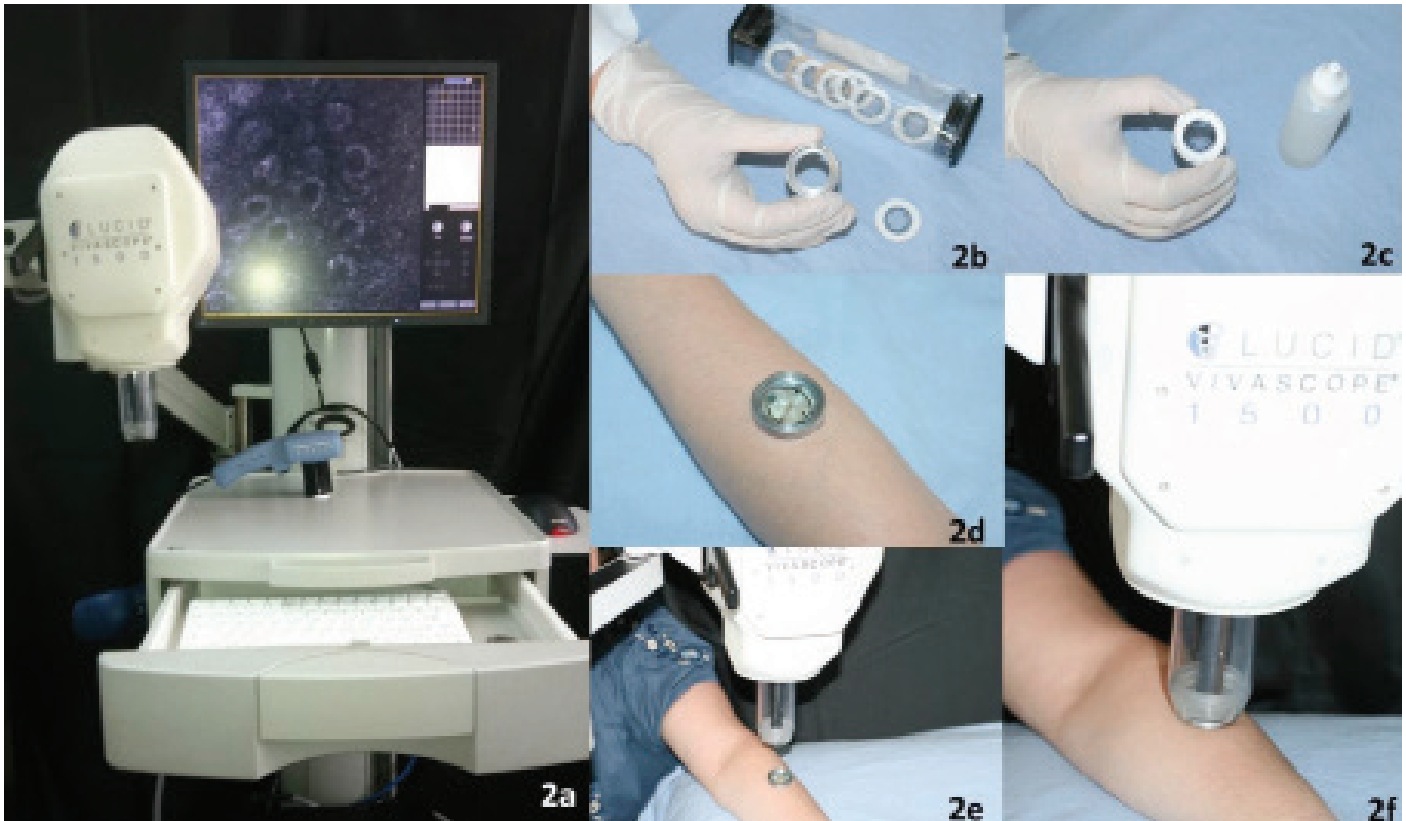
periferde parlak merkezde koyu kollajen lifleri(5-25 µm) tespit edilebilir (Resim 3f).

Kıl folikülleri ve ektrin glandlar gibi deri ekleri de RKM ile görüntülenebilir. Kıl folikülleri pilosebase ünitesi ile birlikte parlak, sirküler, çevresinde uzamış eliptik hücrelerin bulunduğu refraktil uzun kıl folikülleri şeklinde karşımıza çıkar (Resim 4a). Ektrin ter bezleri ortaları koyu, parlak, oval-yuvarlak, spiral yapılar şeklinde epidermis ve dermiste görülür (Resim 4b)¹⁰.

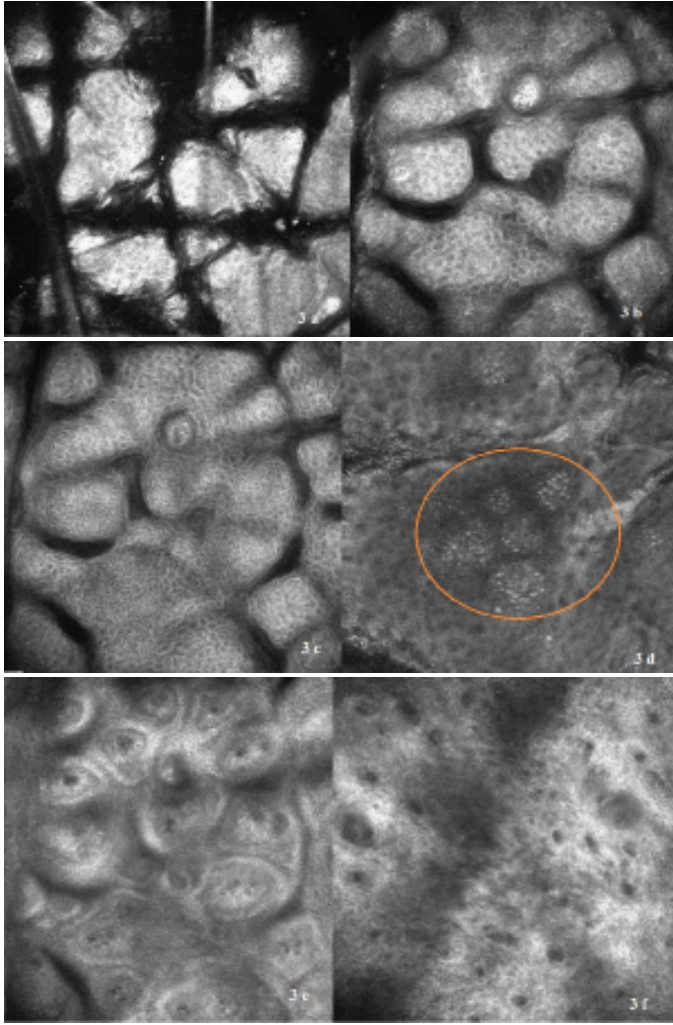
Melanositik Deri Lezyonları

Melanositik deri tümörlerinin morfolojik RKM özellikleri ilk olarak Busam ve arkadaşları ve Langley ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır^{2,3}. Sıradan benign nevuslerde bulunan monomorfik özelliklerin yerini atipik nevus ve melanomlarda pleomorfizm ve yapısal düzensizlik almaktadır. Melanositik lezyonların RKM özellikleri dermoskopi ve histopatoloji ile iyi korelasyon göstermektedir^{12,14-16}. RKM, benign ve malign melanositik lezyonların ayırımında faydalıdır^{17,18}. Melanomun erken evresinde, küçük çaplı melanomlarda ve açık renkli melanositik lezyonların değerlendirilmesinde doğru tanı için dermoskopi ile birlikte RKM incelemesi önem taşımaktadır¹⁹⁻²¹. RKM ile nevusitler genellikle yuvarlak-oval, merkezinde yuvarlak nükleus bulunan refraktil sitoplazmalı hücreler şeklinde görülür².

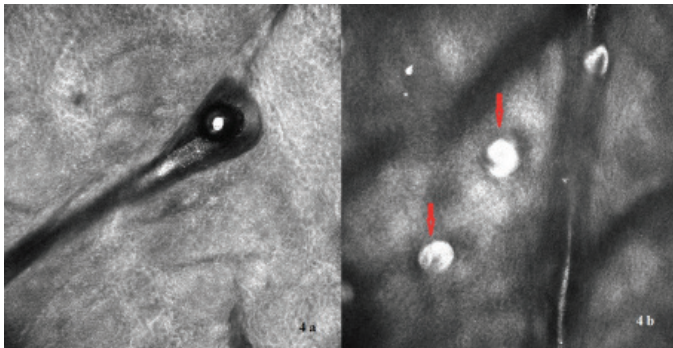
Konjenital melanositik nevüs(KMN): Bu nevuslar genellikle bileşik veya intradermaldir. Edinsel banal nevuslardan ayrı edilemezler. Tanı için dermal yapının görülmesi gerektiğinden RKM ile yapılan yüzeysel görüntü yeterli olmamaktadır. KMN basitçe RKM ile benign nevus özellikleri gösterir.



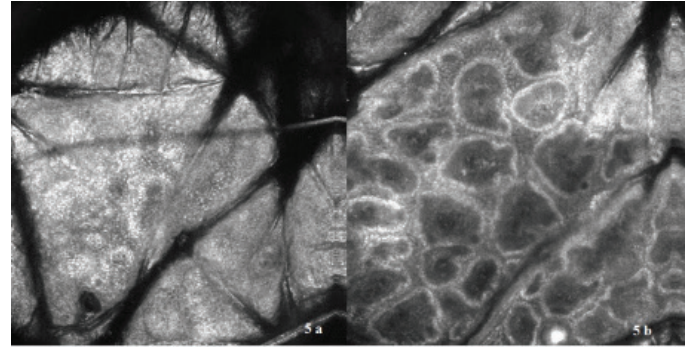
Resim 2. Reflektans Konfokal Mikroskopisi ile görüntüleme. 2a; Vivascope 1500. 2b,c; Metal halkaya yapıştırılan pencerenin diğer yüzüne yağ bazlı immersiyon damlatılması 2c; Yağ damlatılan yüzdeki yapıştırıcı bant çıkarılarak deri üzerine yerleştirilmesi ve halkanın içerisine su bazlı bir immersiyon jeli koyulması. 2d,e; Vivascope başlığı ve metal halka dik olacak şekilde birleştirilmesi



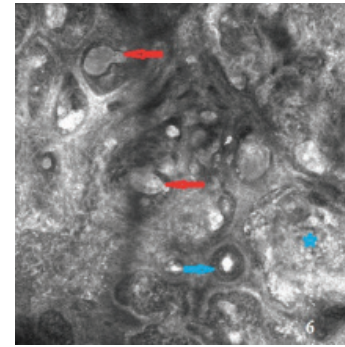
Resim 3. Normal deri. 3a; Stratum korneumda oldukça parlak yüzey ve belirgin deri kıvrımları. 3b; Stratum granülozumda poligonal keratinositler, lezyonun orta kısmında daha derinde stratum spinosum izlenmekte. 3c; Bal peteği manzarası gösteren stratum spinosum. 3d; Stratum bazalenin yüzeyel kısmında biraraya gelecek kümeler oluşturmuş yuvarlak hücrelerden oluşan melanin başlıklar (melanin capturucu halka). 3e; Dermoepidermal bileşkenin yüzeyel kısımlarında dermal papillayı çevreleyen dermal papiller halkalar 3f; Retiküler yapı gösteren dermal papiller fibriller kollajen)



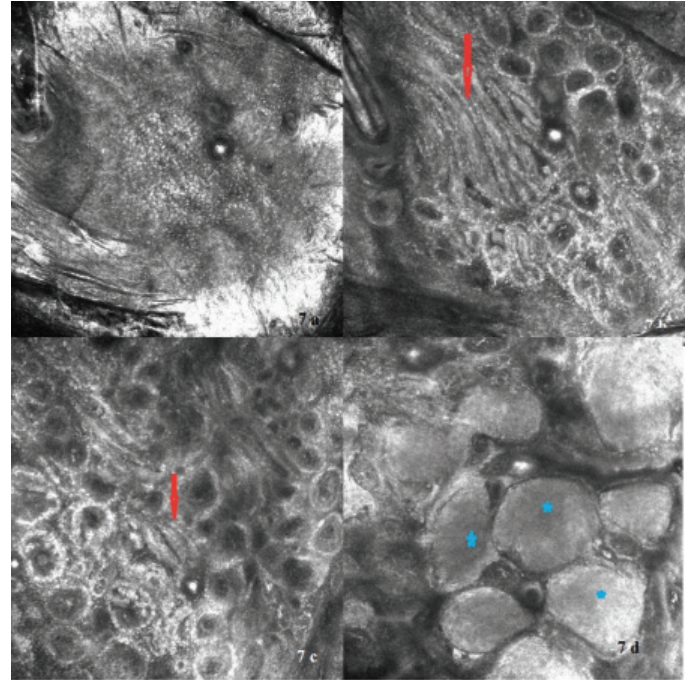
Resim 4. 4a;Kıl shaftı ve bulbus . 4b; Ekrin ter bezleri ortaları; parlak, oval-yuvarlak, spiral yapılar (kırmızı ok)



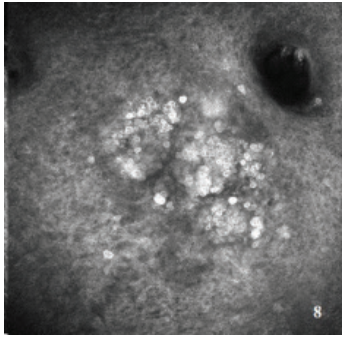
Resim 5. Konjenital melanositik nevüs. 5a; Epidermal tabakada parlak kaldırım taşı şeklinde pigmente keratinositler. 5b; Refraktif hücrelerle çevrilmiş düzenli papillalar.



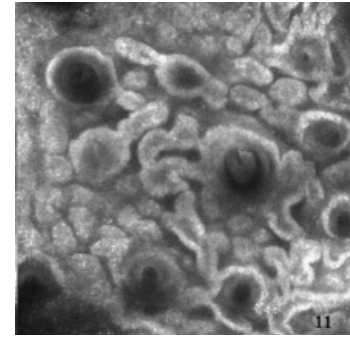
Resim 6. Bileşke nevüsü (Junctional). Dermal papillalarla bağlantılı papilla içlerine uzantı gösteren bileşke kümeleri (kırmızı oklar). Ortası oldukça refraktif düzgün sınırlı milia benzeri kist (mavi ok) Papillayı tamamen doldurmuş dermal hücre kümeleri (mavi yıldız)



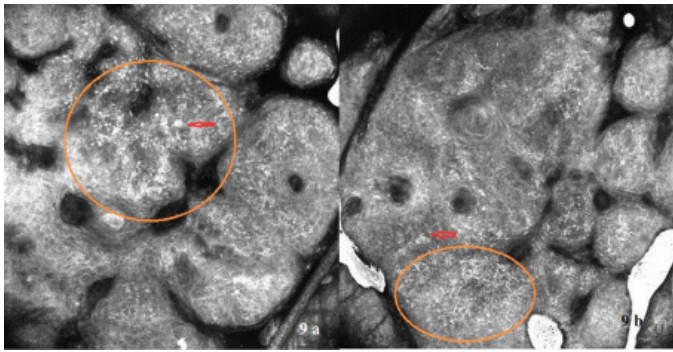
Resim 7. Bileşik nevüs (Compound). 7a; Epidermiste kaldırım taşı paterni. 7b-7c; Bileşke kalınlaşmaları (kırmızı ok) 7d; Dermiste yerleşmiş keskin sınırlı papillaları tamamen dolduran dermal nestler (mavi yıldız)



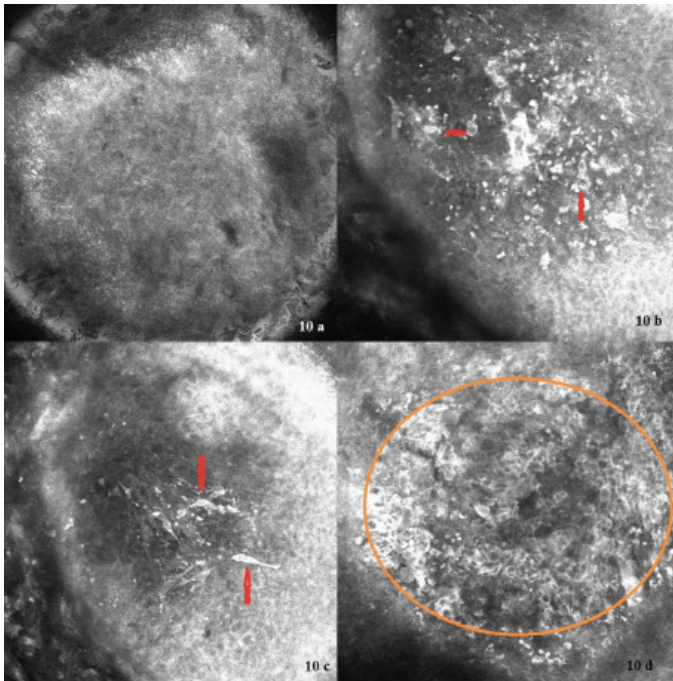
Resim 8. Dermal nevus. Dermiste nevus hücre kümeleri



Resim 11. Lentigo. Polisiklik papiller sınırlar



Resim 9. Displastik nevus. 9a-9b; Papillaların net seçilemediği, az sayıda, yuvarlak parlak atipik melanositik hücreler (kırmızı ok). Çok sayıda dentritik hücre (turuncu halka)



Resim 10. Melanom. 10 a; Epidermiste bozulmuş yapı. 10b; Dermiste dağınık yerleşimli yuvarlak pajetoid hücreler(kırmızı ok). 10 c; Dermiste küme oluşturmuş dentritik hücreler (kırmızı ok).10 d; Atipik hücrelerin oluşturduğu tümör yapısı

Bazen hücre kümeleri adneksal veya vasküler yapılar boyunca görüntülenebilir. Bu özellik konjenital paterni akla getirmelidir. KMN'de saptanan diğer özellikler hafif gevşek hücre kümeleri, dermisteki melanosit kordonları ve papiller dermisteki nükleuslu refraktil hücrelerdir (Resim 5)²².

Edinsel melanositik nevus: Bu tip nevuslarda bazal tabakada, merkeze yerleşmiş nükleusu bulunan, monomorf, yuvarlak-oval, parlak refraktil hücreler bulunur. Nadiren nevus hücreleri kısa ve ince dendritler taşıyabilir. Epidermisteki bal peteği görüntüsü korunmuştur. Nevus hücreleri genellikle keratinositlerden daha büyük ve sitoplazmaları oldukça refraktildir. Dermal papillalar düzgün dağılımlıdır ve küçük melanositler ve melaninden zengin keratinositlerin oluşturduğu refraktil hücrelerle çevrelenmiştir²³.

a) Bileşke nevusları (junctional nevus): Nevus hücreleri sadece dermoepidermal (DEJ) bileşkede sınırlıdır (Resim 6).

b) Bileşik nevuslar: Nevus hücreleri DEJ ve üst dermiste görülebilir (Resim 7).

c) Dermal nevus: Nevus hücreleri kümeler oluşturmuş şekilde dermiste tespit edilir (Resim 8)¹¹.

Displastik nevus: Hücre popülasyonu boyut, şekil ve refraktilite açısından daha heterojendir. Hücreler banal nevuslerde olduğu gibi yuvarlak veya ovaldır. Epidermiste keratinosit hücre sınırlarında focal silinme vardır. Atipi melanositlerdeki azalmış parlaklıkla bağlantılıdır(Resim 9)²³. Sitolojik atipi ve atipik jonksiyonel kümelenmeler saptanır¹⁸. Melanom: Kalın dallanan dentritik uzantıları bulunan polimorfik, düzensiz şekilli hücrelerden oluşur. Atipik hücreler epidermiste birkaç tabakasına yayılmış olabilir bu durum pajetoid yayılımla uyumludur. Keratinosit hücre sınırları zorlukla seçilir veya yoktur. Bu da bal peteği paterninin bozulması ile sonuçlanır. Dermal papillalar küçük ve düzensizdir²³ (Resim 10). Bazal tabakada atipik hücreler, parlak sınırlı çevrili olmayan papilla (nonedged), serebriform kümelenmeler izlenebilir¹⁷.

Spitz nevus: RKM ile tespit edilen uniform agregate globüller dermoskopik olarak tespit edilen globuler tip ile uyumluluk gösterir. Üst epidermiste pigment kümeleri ile uyumluluk gösteren parlak granüler parçacıklar görülebilir. Suprabazal tabakada sporadik yuvarlak-oval granüler sitoplazmalı, koyu nükleuslu, pajetoid yayılan nevomelanositler tespit edilebilir. Dermal papillalar içerisinde parlak tombul hücreler (melanofajlar)izlenebilir¹⁵.

Lentigo: RKM ile lentigo simpleks stratum granulozum ve spinozumda karakteristik balpeteği paterni, hiperrefraktil bazal tabaka kaldırım taşı paterni gösterir. Dermal papiller halkalar parlak monomorfik hücrelerden oluşan tek bir tabaka oluşturur(Resim 11)¹⁶.

Kaynaklar

1. Rajadhyaksha M, Grossman M, Esterowitz D, Webb RH, Anderson RR: In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin: melanin provides strong contrast. *J Invest Dermatol* 1995;104:946-52.
2. Busam KJ, Charles C, Lee G, Halpern AC: Morphologic features of melanocytes, pigmented keratinocytes, and melanophages by in vivo confocal scanning laser microscopy. *Mod Pathol* 2001;14:862-68.
3. Langley RG, Rajadhyaksha M, Dwyer PJ, et al: Confocal scanning laser microscopy of benign and malignant melanocytic skin lesions in vivo. *J Am Acad Dermatol* 2001;45:365-76.
4. 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.
5. 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.
6. Gerger A, Wiltgen M, Langsenlehner U, et al: Diagnostic image analysis of malignant melanoma in in vivo confocal laser-scanning microscopy: a preliminary study. *Skin Res Technol* 2008;14:359-63.
7. Segura S, Puig S, Carrera C, Palou J, Malvehy J: Development of a two-step method for the diagnosis of melanoma by reflectance confocal microscopy. *J Am Acad Dermatol* 2009;61:216-29.
8. Gonzalez S, Swindells K, Rajadhyaksha M, Torres A: Changing paradigms in dermatology: confocal microscopy in clinical and surgical dermatology. *Clin Dermatol* 2003;21:359-69.
9. Rajadhyaksha M, Gonzalez S, Zavislan JM, Anderson RR, Webb RH: In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin II: advances in instrumentation and comparison with histology. *J Invest Dermatol* 1999;113:293-303.
10. Hofmann-Wellenhof R, Wurm EM, Ahlgrim-Siess V, et al: Reflectance confocal microscopy—state-of-art and research overview. *Semin Cutan Med Surg* 2009;28:172-79.
11. Branzan AL, Landthaler M, Szeimies RM: In vivo confocal scanning laser microscopy in dermatology. *Lasers Med Sci* 2007;22:73-82.
12. Scope A, Benvenuto-Andrade C, Agero AL et al: In vivo reflectance confocal microscopy imaging of melanocytic skin lesions: consensus terminology glossary and illustrative images. *J Am Acad Dermatol* 2007;57:644-58.
13. Ahlgrim-Siess V, Massone C, Koller S, et al: In vivo confocal scanning laser microscopy of common naevi with globular, homogeneous and reticular pattern in dermoscopy. *Br J Dermatol* 2008;158:1000-7.
14. Pellacani G, Cesinaro AM, Seidenari S: In vivo confocal reflectance microscopy for the characterization of melanocytic nests and correlation with dermoscopy and histology. *Br J Dermatol* 2005;152:384-6.
15. Pellacani G, Cesinaro AM, Grana C, Seidenari S: In vivo confocal scanning laser microscopy of pigmented Spitz nevi: comparison of in vivo confocal images with dermoscopy and routine histopathology. *J Am Acad Dermatol* 2004;51:371-6.
16. Langley RG, Burton E, Walsh N, Propperova I, Murray SJ: In vivo confocal scanning laser microscopy of benign lentiginosities: comparison to conventional histology and in vivo characteristics of lentigo maligna. *J Am Acad Dermatol* 2006;55:88-97.
17. Pellacani G, Vinceti M, Bassoli S, et al: Reflectance confocal microscopy and features of melanocytic lesions: an internet-based study of the reproducibility of terminology. *Arch Dermatol*. 2009;145:1137-43.
18. Pellacani G, Farnetani F, Gonzalez S, et al: In vivo confocal microscopy for detection and grading of dysplastic nevi: a pilot study. *J Am Acad Dermatol* 2012;66:109-21.
19. Debarbieux S, Depaepe L, Poulalhon N, Balme B, Dalle S, Thomas L: Reflectance confocal microscopy accurately discriminates between benign and malignant melanocytic lesions exhibiting a 'dermoscopic island': *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2013;27:159-65.
20. Pupelli G, Longo C, Veneziano L, et al: Small-diameter melanocytic lesions: morphological analysis by means of in vivo confocal microscopy. *Br J Dermatol* 2013;168:1027-33.
21. Guitera P, Pellacani G, Longo C, et al: In vivo reflectance confocal microscopy enhances secondary evaluation of melanocytic lesions. *J Invest Dermatol* 2009;129:131-8.
22. Marghoob AA, Charles CA, Busam KJ, et al: In vivo confocal scanning laser microscopy of a series of congenital melanocytic nevi suggestive of having developed malignant melanoma. *Arch Dermatol* 2005;141:1401-12.
23. Gerger A, Hofmann-Wellenhof R, Samonigg H, Smolle J: In vivo confocal laser scanning microscopy in the diagnosis of melanocytic skin tumours. *Br J Dermatol* 2009;160:475-81.