

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

DISSERTAÇÃO | ARTIGO DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Carcinoma de Células de Merkel

Ana Cristina Gonçalves Castro

M

2019



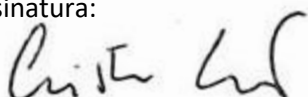
CARCINOMA DE CÉLULAS DE MERKEL

Dissertação de candidatura ao grau de Mestre em Medicina, submetida ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto

Ana Cristina Gonçalves Castro

Estudante do 6º ano profissionalizante do Mestrado Integrado em Medicina
Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto
Endereço: Rua de Jorge Viterbo Ferreira, n.º 228, 4050-313 Porto
Endereço eletrónico: cristinagcastro@hotmail.com

Assinatura:



Orientador: Dr. Vítor Manuel Correia Valente

Assistente Hospitalar de Cirurgia Geral do Centro Hospitalar Universitário do Porto, EPE – Hospital de Santo António
Assistente Associado Convidado de Cirurgia II do Mestrado Integrado em Medicina do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto
Serviço de Cirurgia Geral do Centro Hospitalar do Porto e Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto
Endereço: Largo Prof. Abel Salazar, 4099-001 Porto

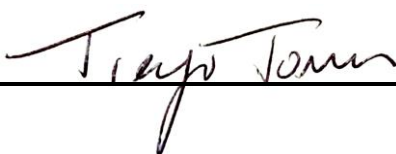
Assinatura:



Coorientador: Prof. Dr. Tiago da Costa Ferreira Torres

Assistente Hospitalar de Dermatologia e Venereologia do Centro Hospitalar Universitário do Porto, EPE – Hospital de Santo António
Responsável pela Consulta de Psoríase do Serviço de Dermatologia do Centro Hospitalar Universitário do Porto, EPE – Hospital de Santo António
Assistente Auxiliar Convidado de Medicina I do Mestrado Integrado em Medicina do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto
Serviço de Dermatologia e Venereologia do Centro Hospitalar do Porto e Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto
Endereço: Largo Prof. Abel Salazar, 4099-001 Porto

Assinatura:



Porto, junho de 2019

Dedicatória

Aos meus queridos pais, Alberto e Célia, pelo apoio incondicional e por todo o amor. Por me terem dado as mãos ao longo de todo o meu percurso, até ao chegar do momento de o percorrer sozinha. Por me mostrarem quem eu sou. Por me fazerem ter orgulho de onde venho.

Ao Alvin, por toda a doçura, pela serenidade, pela ternura. Por seres Casa, por seres Família.

À Nádia, a minha *colega nas trincheiras*. Por toda a amizade, pela companhia e apoio em todos os momentos. Por seres uma Mulher maravilhosa. Por me sentir verdadeiramente abençoada por te ter conhecido.

Por último, mas nunca menos importante: à minha querida Raquel. Por toda a doçura, por todo o apoio e amizade. Por seres das melhores pessoas que encontrei ao longo da minha vida, por a teres marcado de forma tão vasta e intensa. Por me teres permitido Sonhar e Acreditar.

Where there is love, there is life.

Mahatma Gandhi

Ao Orfeão Universitário do Porto e ao Coral de Biomédicas, por me permitirem viver a máxima *Quem só sabe de medicina, nem de medicina sabe*. Por todos os momentos, bons e maus, que me tornaram uma pessoa culturalmente mais rica e, a nível pessoal, mais robusta, capaz e determinada. Pela Música. Pela Cultura Portuguesa. Pelo Academismo.

Dullness is a disease.

Freddie Mercury

Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador, Dr. Vítor Valente, não só por todo o apoio no desenvolvimento deste manuscrito, como por encarnar um exemplo a seguir. Um sincero obrigada pelas constantes demonstrações de competência e dedicação.

Agradeço também ao meu coorientador, Prof. Doutor Tiago Torres, pelo auxílio na coordenação do presente trabalho. Ainda, um muito obrigada pela oportunidade de aprender consigo e de me suscitar o interesse numa área tão nobre quanto a Dermatovenereologia.

Por fim, mas não menos importante, aqui deixo um profundo agradecimento ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar e à Universidade do Porto por me terem acolhido de forma tão calorosa durante estes seis anos e, ainda, por me terem permitido crescer tanto enquanto futura profissional, como enquanto Mulher.

One day, in retrospect, the years of struggle will strike you as the most beautiful.

Sigmund Freud

Resumo

Introdução: O Carcinoma de Células de Merkel (CCM) é uma neoplasia neuroendócrina marcada pela elevada agressividade clínica, com tendência para metastização ganglionar e à distância. Ainda que constitua uma entidade rara, a sua incidência tem vindo a aumentar drasticamente, afetando maioritariamente idosos e imunodeprimidos. O CCM tem vindo a ser alvo de atenção crescente por parte da comunidade científica por vários motivos, nomeadamente a sua relação etiológica com um poliomavírus recentemente descoberto e exposição solar, a histogénese não completamente esclarecida, a elevada proporção de casos com remissão espontânea e, ainda, a recente instituição de imunoterapia com resultados promissores na doença avançada.

Objetivos: Pretende-se incluir neste trabalho uma análise da literatura disponível acerca do Carcinoma de Células de Merkel nas suas várias vertentes, numa perspetiva evolutiva desde a sua primeira descrição em 1972. Procura-se evidenciar as características diferenciadoras do CCM perante os seus diagnósticos diferenciais mais comuns na prática clínica, quer de etiologia maligna, quer benigna. Assim, pretende-se esclarecer o profissional de saúde com vista à minimização de erros diagnósticos com impacto direto na possibilidade de cura e sobrevida dos doentes.

Metodologia: A presente revisão baseou-se na pesquisa bibliográfica através da plataforma PubMed, recorrendo a artigos redigidos até janeiro de 2019, inclusive, que satisfizessem os filtros “Article Types: Case Reports, Clinical Study, Clinical Trial, Comparative Study, Historical Article, Journal Article, Observational Study, Randomized Controlled Trial” e “Languages: English, Portuguese, Spanish”. Estão também incluídos neste artigo os critérios e classificação de estadiamento segundo a *American Joint Committee on Cancer (AJCC)*, bem como as *guidelines* de tratamento internacionais da *National Comprehensive Cancer Network (NCCN)*.

Conclusão: A presente revisão bibliográfica permitiu o estudo dos tópicos fulcrais acerca desta patologia, bem como a discussão de vários focos de dúvida ainda presentes na atualidade. A importância da investigação é inegável a fim de obter uma melhor compreensão acerca da sua génese, dos fatores de prognóstico que lhe estão associados e o estabelecimento de novas armas terapêuticas, com vista à melhoria do prognóstico global.

Palavras-chave: Carcinoma de Células de Merkel; Carcinoma Cutâneo que não Melanoma; Poliomavírus de Células de Merkel; Radiação Ultravioleta; Imunossupressão

Abstract

Introduction: Merkel Cell Carcinoma is an aggressive neuroendocrine neoplasm marked by its clinical aggressiveness and propensity for both lymph node and distant metastatic invasion. Though it is a rare disease, its incidence has been increasing drastically, while affecting mainly the elderly and the immunocompromised. Merkel Cell Carcinoma has been gathering more attention by the scientific community for many reasons, such as its etiological relationship with a newly discovered polyomavirus and sun exposure, its not fully understood histogenesis, the high proportion of cases showing spontaneous remission and, yet, the recent use of immunotherapy and its promising results in the advanced disease.

Objectives: The intent of this article is to analyse the available literature regarding the Merkel Cell Carcinoma in its many aspects, emphasizing the important marks for its definition since its first report in 1972. An important point of this paper is to accentuate the main differentiating characteristics between this neoplasm and its differential diagnosis, either malignancies or benign entities which are more frequent in clinical practice. Therefore, this review is intended to clarify the healthcare professional in order to minimize diagnostic errors which affect directly both the possibility of cure and survival of these patients.

Methods: This review is based on a bibliographic research through the PubMed platform, resorting to articles written until January of 2019 which include the filters “Article Types: Case Reports, Clinical Study, Clinical Trial, Comparative Study, Historical Article, Journal Article, Observational Study, Randomized Controlled Trial” and “Languages: English, Portuguese, Spanish”. Both the American Joint Committee on Cancer staging criteria and the National Comprehensive Cancer Network international treatment guidelines are also included in this article.

Conclusion: This article as established the main topics regarding this disease and has discussed several questions which remain unanswered nowadays. It is undeniably important to investigate about Merkel Cell Carcinoma in order to attain better comprehension about its genesis, its prognostic factors and to establish new therapeutic weapons so as to improve overall prognosis.

Keywords: Merkel Cell Carcinoma; Nonmelanoma Skin Cancer; Merkel Cell Polyomavirus; Ultraviolet Radiation; Immunosuppression

Lista de abreviaturas

AJCC – *American Joint Committee on Cancer*

BGS – biópsia de gânglio sentinela

CCM – Carcinoma de Células de Merkel

CID-O – Classificação Internacional de Doenças para Oncologia

CK – citoqueratina

cm – centímetros

EADO – *European Association of Dermato-Oncology*

EORTC – *European Organisation for Research and Treatment of Cancer*

EUA – Estados Unidos da América

FDG – fluorodesoxiglucose

Gy – gray

LTA – *large T antigen*

MCV – Poliomavírus de Células De Merkel

ME – microscopia eletrônica

MO – microscopia ótica

NCCN – *National Comprehensive Cancer Network*

PD-1 – *Programmed Death 1*

PET – tomografia por emissão de positrões

RT – radioterapia

RMN – ressonância magnética nuclear

RT – radioterapia

sTA – *small T antigen*

TC – tomografia computadorizada

TNM – *Tumor-Node-Metastasis*

TTF-1 – fator transcricional tiroideu 1

UV – ultravioleta

Índice

Introdução.....	1
Contexto histórico.....	1
Epidemiologia.....	3
Incidência	3
Tendência	4
Fatores de risco.....	5
Patogênese.....	6
Histogênese.....	6
Poliomavírus de Células de Merkel	7
Radiação ultravioleta.....	8
Idosos e imunossupressão	8
Apresentação clínica	10
Dermatoscopia	12
Análise histológica e imunohistoquímica.....	13
Histologia.....	13
Imunohistoquímica	14
Diagnóstico.....	16
Diagnósticos diferenciais	17
Estadiamento	20
Tratamento	23
Cirurgia	23
Radioterapia	24
Terapêutica sistêmica.....	25
Vigilância	27
Prognóstico	28
Segundo o estadiamento TNM	28
Fatores de prognóstico	29
Conclusão	31
Apêndice	32
Referências bibliográficas	34

Introdução

Os carcinomas cutâneos que não o melanoma, como o Carcinoma Espinocelular e Basocelular, formam o conjunto de neoplasias malignas mais frequente a nível mundial por entre a população caucasiana e, para além disto, a sua incidência tem vindo a aumentar nos últimos anos.

¹ O Carcinoma de Células de Merkel (CCM), também denominado de Carcinoma Neuroendócrino Primário da Pele, é uma neoplasia neuroendócrina pertencente a este grupo, tendo sido relatada pela primeira vez nas últimas décadas do século XX. O CCM apresenta um elevado potencial maligno, constituindo a entidade tumoral cutânea com maior letalidade, ainda que a sua incidência seja cerca de 40 vezes menor que a do melanoma. ^{2,3}

Contexto histórico

O Carcinoma de Células de Merkel foi descrito pela primeira vez por Cyril Toker, em 1972, sob a designação de *Carcinoma Trabecular da Pele*. ⁴ Até então, o CCM era por vezes reconhecido, ainda que incorretamente, como *carcinoma indiferenciado da pele* ou como um tumor secundário a um carcinoma extra-cutâneo. No primeiro artigo publicado sobre a patologia, Toker expôs 5 casos clínicos, exaltando as características clínicas e anatomopatológicas que diferenciavam este conjunto de ocorrências das entidades conhecidas até à época e que distanciavam a hipótese de se tratar de uma metástase tumoral, tendo em conta a sua recorrência e invasão linfática. Considerando o aspeto histológico em microscopia ótica (MO), o patologista postulou a hipótese de se tratar de um tumor neuroendócrino. Porém, esta técnica não possibilitou a identificação de grânulos argirófilos característicos destas células. A hipótese foi corroborada com a visualização destas estruturas no ano de 1978, por Chik-Kwun Tang e pelo próprio Cyril Toker, no primeiro estudo ultraestrutural de CCM com microscopia eletrónica (ME). ^{5,6}

Esta descoberta permitiu a inclusão desta entidade neoplásica no grupo de tumores neuroendócrinos. Também pela inexistência de melanossomas ou pré-melanossomas, e sendo que as células de Merkel seriam as únicas com localização cutânea e com aspeto em ME sobreponível ao observado, a hipótese de estas células estarem na origem tumoral tornou-se mais forte. ^{5,6}

Assim, após esta data, esta entidade tumoral passou a ser referenciada por outros autores como *carcinoma de células de Merkel*, *carcinoma neuroendócrino* ou *APUDoma cutâneo*, *carcinoma de pequenas células primário da pele*, *carcinoma endócrino da pele*, *carcinoide primário da pele* e *carcinoma extra-pulmonar da pele*. ⁷⁻¹¹ Toker discutiu a existência desta multitude de designações,

argumentando favoravelmente à denominação de *carcinoma trabecular da pele* por, segundo este, ser a expressão que melhor resumiria os dados obtidos sobre a patologia até à altura.⁵

Esta nomenclatura múltipla fez-se transparecer aquando da introdução do CCM na primeira edição da Classificação Internacional de Doenças para Oncologia (CID-O), em 1976. A sua codificação era inespecífica, existindo vários códigos histológicos em que esta patologia poderia ser enquadrada mas não de uma forma exclusiva, nomeadamente *carcinoma trabecular* (8190/3), *carcinoma de pequenas células da pele* (8002/3, 8041/3, 8043/3 e 8044/3) e *carcinoma indiferenciado da pele* (8020/3).¹² Em 1986, o *Surveillance, Epidemiology and End Results* criou, pela primeira vez, um código histológico específico para CCM, o que possibilitou a recolha de dados daí em diante.¹³ E foi apenas a partir de 1990, com a segunda edição da CID-O, que surgiu o código único M8247/3 (Carcinoma de Células de Merkel) que possibilitou uma colheita de dados mais fidedigna a nível mundial, homogeneizando a informação obtida em vários países.^{2, 14} Este código foi mantido na terceira edição da CID-O, em vigor atualmente.¹⁵

Epidemiologia

Incidência

A determinação da incidência global de CCM é uma tarefa dificultada pela impossibilidade de realização de estudos retrospectivos a nível internacional. Principalmente nas fases mais incipientes da sua caracterização, outros fatores que prejudicaram a colheita de dados epidemiológicos remetem à multiplicidade de terminologias pelas quais a patologia foi reconhecida, bem como a sua inclusão tardia em sistemas de classificação internacionais.¹⁶

Assim, de um modo geral, a incidência do Carcinoma de Células de Merkel é estimada através de registos e revisões regionais ou nacionais, os quais indicam que atinja o maior número de casos ao nível da Oceânia, com uma incidência entre 0.82 e 1.6 por 100 000 pessoas na Austrália e de 0.88/100 000 na Nova Zelândia. Ambos os países apresentam um clima tendencialmente subtropical e elevados níveis de radiação ultravioleta (UV), o que despoletou a investigação sobre potenciais fatores de risco e agentes etiológicos envolvidos na patogénese do CCM.^{3, 17, 18}

Os dados obtidos apresentam algumas diferenças relativamente aos países com registos disponíveis. Na Finlândia, a incidência estimada de CCM em 2004-2008 foi de 0.11 e 0.12 casos por 100 000 pessoas em homens e mulheres, respetivamente.¹⁹ Na Dinamarca, são estimados 0.22 casos por 100 000 pessoas, nos anos 2000-2006.²⁰ Já na Alemanha, a incidência está estimada em 0.3 casos em 100 000 pessoas, entre 2008 e 2010, e o mesmo valor se estima para Espanha no período de 1995 a 2005.^{21, 22} Na Holanda, a incidência de CCM aumentou de 0.1 para 0.35/100 000 entre 1993 e 2007, aumentando também o seu valor em proporção dentro dos carcinomas cutâneos que não o Carcinoma Basocelular, constituindo 0.6% destes entre 1993 a 1997 e, de 2003 a 2007, atingindo a proporção de 0.9%.^{23, 24} Na Escócia, a incidência de CCM foi estimada em 0.48/100 000 no ano de 2009.²⁵ Na Suécia, o número de casos de CCM passou de 0.23/100 000, em 1993, para 0.49 por 100 000 pessoas em 2012.²⁶ Em França, a estimativa da incidência passou de 0.57/100 000 para 0.74 em 100 000 pessoas, uma das mais altas a nível europeu.²⁷ Já nos EUA, a incidência anual de CCM em 2013 foi estimada em 0.70/100 000 pessoas, superior à verificada na maioria dos países europeus com dados estatísticos disponíveis.^{16, 28-30}

Tendência

Ainda que constitua uma doença rara, a incidência do Carcinoma de Células de Merkel tem vindo a aumentar e a uma maior escala que outros tumores. Entre os anos de 2000 e 2013, na população dos EUA, foi detetado um aumento na taxa padronizada de incidência de CCM superior a 95%, em clara superioridade face ao aumento da mesma taxa relativamente ao melanoma, de 57%, bem como de outros tumores sólidos, estimada em 15%.^{28,31}

Segundo dados do *Surveillance, Epidemiology and End Results*, estima-se que o número de casos de CCM por 100 000 indivíduos nos EUA tenha aumentado de 0.15 em 1981 para 0.44 em 2001, e para 0.70 em 2013.^{28, 30} A mesma tendência crescente observa-se, de um modo geral, noutros pontos do globo.³¹ A melhoria da eficácia diagnóstica nas últimas décadas constitui um fator que contribuiu em larga escala para este aumento. Muitos casos seriam subdiagnosticados previamente, já que o CCM constitui uma neoplasia de difícil destrição face aos respetivos diagnósticos diferenciais, bem mais frequentes na população geral.^{2, 32, 33} Um grande passo para este avanço foi a identificação da citoqueratina (CK) 20 como um marcador histológico de CCM, possibilitando a distinção histológica entre esta entidade e a metastização cutânea do Carcinoma de Pequenas Células do Pulmão, uma das patologias mais comumente implicadas como diagnóstico diferencial em termos histológicos. Isto, sem recurso a ME, um método menos disponível na maioria dos centros e que dificultava o acesso ao diagnóstico definitivo.³³⁻³⁵

Esta tendência de aumento de incidência justifica-se ainda por outros fatores, nomeadamente a franca melhoria a nível dos registos epidemiológicos, uma maior capacidade de reconhecimento e alerta por parte dos profissionais de saúde no reconhecimento do CCM como uma hipótese diagnóstica, bem como as estimativas de envelhecimento da população para as próximas décadas. Estima-se que, nos EUA, a proporção de indivíduos com 65 ou mais anos de idade seja de 20%, aumentando o número de pessoas com elevado risco relativamente a esta patologia.^{18-20, 26, 28-30, 33, 36} A incidência do CCM aumenta com a idade avançada sendo que, nos EUA, a incidência é de 0.1, 1 e 9.8/100 000, em indivíduos nas faixas etárias dos 40 aos 44 anos, 60 aos 64 anos, e mais de 85 anos, respetivamente.²⁸ Já em Queensland, um estado do noroeste australiano, estes valores são significativamente maiores: 0.41, 3.78 e 20.68/100 000 pessoas-ano, em indivíduos com 40-59 anos, 60-69 anos e mais de 80 anos, respetivamente.³

Fatores de risco

O Carcinoma de Células de Merkel é uma patologia característica dos idosos e com uma mediana estimada entre os 69 e 79 anos, em que 76% a 84% das ocorrências remetem a indivíduos com mais de 65 e 50% com mais de 70 anos. É uma patologia pouco frequente abaixo dos 50 anos de idade, correspondendo a 3-10.3% das ocorrências. A sua incidência apresenta um crescimento exponencial após os 50 anos, um pico tardio relativamente ao do melanoma.^{28, 33, 36-38}

É também, uma patologia que ocorre maioritariamente em homens, numa percentagem descrita que varia entre de 59% a 70%.^{16, 29, 30, 38, 39} Exceções a estas observações estão descritas apenas em estudos realizados na Finlândia e China, nos quais se constata uma maior percentagem de casos do sexo feminino. Estima-se que estes achados poderão dever-se à maior proporção de mulheres em escalões etários avançados.^{19, 40}

O CCM ocorre predominantemente na pele e em indivíduos de origem populacional caucasiana, especialmente não hispânica. Estes correspondem a 94-98.3% dos casos, sendo pouco frequente a sua ocorrência em indivíduos de raça negra (até 1.2%).^{16, 29, 31, 33, 36-39}

A exposição a radiação ultravioleta é um fator de risco bem estabelecido para o Carcinoma de Células de Merkel. Esta associação pode ser verificada por vários dados indiretos, nomeadamente o maior número de casos de CCM em zonas foto-expostas, como a cabeça e pescoço, membros superiores e inferiores.³³ Outro dado que contribuiu para esta hipótese é o facto de a incidência numa dada região apresentar uma relação direta com o respetivo índice de radiação UV, e também com a proximidade geográfica à linha do equador.^{17, 18, 31, 33, 36, 37} Para além disto, há relatos de casos após tratamentos de repetição com foto-quimioterapia (PUVA) – na qual o doente é exposto a uma sequência de psoralenos e radiação UV-A – estimando-se que a incidência de CCM nestes indivíduos seja 100 vezes maior relativamente à população geral.⁴¹ Também a maior frequência de neoplasias cutâneas malignas como o Carcinoma Espinocelular, Carcinoma Basocelular e Melanoma nestes doentes, quer em contexto prévio ou posterior ao diagnóstico de CCM, sustenta a hipótese de fatores de risco em comum, nomeadamente a radiação UV.^{13, 20}

A imunossupressão é um fator de risco importante, considerando a maior incidência de CCM em grupos de indivíduos com estados indutores de imunossupressão. De entre estes, figuram recetores de transplante de órgãos sólidos, indivíduos infetados pelo Vírus da Imunodeficiência Humana e em estágio de Síndrome de Imunodeficiência Adquirida, doentes sob terapêutica imunossupressora e estados de *follow-up* oncológicos, como em sede de Melanoma e neoplasias hematológicas como o Linfoma não-Hodgkin, Leucemia Linfocítica Crónica e Mieloma Múltiplo.^{13,}

^{29, 33, 37, 41-50}

Patogénese

Histogénese

A origem celular do Carcinoma de Células de Merkel permanece, ainda, uma incógnita.⁵¹

A formulação da hipótese de que as células de Merkel estariam na génese desta neoplasia iniciou-se com os primeiros estudos da patologia com microscopia eletrónica, elaborados por Tang e Toker. O aspeto em muito semelhante do CCM com tais células despoletou a origem desta teoria e, ainda, ao nome pela qual é designada mais comumente na atualidade.^{6, 8, 9} Esta designação deve-se também ao facto de ambas as entidades partilharem aspetos imunofenotípicos, nomeadamente a expressão de citoqueratina 20, sinaptofisina e CD56 (molécula de adesão celular neuronal).^{34, 52-55}

Ainda que estes dados apoiem a hipótese de a histogénese do CCM remeter para as células de Merkel, outros autores apresentam informação que contraria esta teoria. Isto, pela observação de diferenças notadas entre as células de Merkel e as de CCM em vários aspetos, nomeadamente ao nível da disposição de filamentos intermédios – ao passo que no CCM estes organizam-se segundo agregados em forma de placa ou espiral, nas células de Merkel dispõem-se de forma difusa.^{56, 57} Para além disto, ambas as entidades também diferem relativamente à expressão do recetor tirosina-cinase *c-kit* (CD117), apenas presente em células de CCM.^{56, 57}

Assim, vários autores defendem uma teoria alternativa em relação à histogénese do CCM, argumentando a favor da sua origem em células pluripotenciais da camada basal da epiderme que adquirem características neuroendócrinas no processo de oncogénese.^{8, 29, 51-53, 58-66} Um dos dados a favor desta hipótese reside na identificação de vários casos de CCM com focos de diferenciação escamosa, écrina, glandular, melanocítica, sarcomatosa (semelhantes a fibroxantoma atípico, fibrossarcoma, leio e rabdomyosarcoma) e, ainda, com aspeto de paraganglioma.^{60, 63, 67-74} Outro dado que suporta esta teoria alternativa consiste na observação de uma variante de transição entre o CCM e Carcinoma Espinocelular Cutâneo, com identificação a nível celular tanto de grânulos secretórios endócrinos típicos do primeiro, como de tonofibrilas características do segundo.^{52, 61, 75}

Um estudo realizado por Ingrid Moll *et al.* concluiu que as células de Merkel humanas são pós-mitóticas, após não ter sido observada qualquer figura mitótica em células de Merkel de pele humana de adultos e de fetos em vários estádios.⁷⁶ Um outro estudo evidenciou que a homeostase de células de Merkel adultas em ratos é assegurada a partir da diferenciação de células pluripotenciais epidérmicas, e não pela proliferação de células de Merkel pré-existentes.⁷⁷ Assim, e tendo em conta que a capacidade de restauração do potencial proliferativo de uma célula

constitui um pré-requisito obrigatório para que nesta resida a origem tumoral, estes autores admitem como pouco provável a histogênese do CCM em células de Merkel. ^{58, 76} Um outro dado que contesta esta teoria é a localização histológica do CCM e das células de Merkel, dado que o primeiro localiza-se maioritariamente a nível da derme e tecido celular subcutâneo, ao passo que as segundas se posicionam preferencialmente na camada basal da epiderme. ^{56, 78}

Por fim, alguns autores defendem que a histogênese do CCM remete a células pré e pró-B ou, ainda, fibroblastos da derme cutânea, apesar de os estudos remetentes a estas hipóteses constituírem, de momento, um número reduzido. ^{58, 79, 80}

Poliomavírus de Células de Merkel

A observação da maior incidência de CCM em indivíduos idosos ou com estados indutores de imunossupressão levou à formulação da hipótese da existência de uma etiologia viral para esta entidade. Isto, à semelhança do que fora já observado no Sarcoma de Kaposi, cuja etiologia se relaciona com a infeção por Herpesvírus humano 8 ou Herpesvírus associado ao Sarcoma de Kaposi, cujas ocorrências remetem maioritariamente em doentes imunocomprometidos. ^{81, 82}

Esta hipótese foi confirmada em 2008 por Huichen Feng *et al.*, com a identificação do genoma de um Polioma vírus humano não descrito na literatura que estaria associado a 80% dos casos analisados de CCM. O vírus passou a denominar-se de Polioma vírus de Células de Merkel (MCV), tratando-se de um vírus de DNA circular em cadeia dupla, não capsulado. ⁸¹ Corresponde a uma entidade viral existente no microbioma cutâneo em 40% da população e é eliminada cronicamente na forma de viriões reagrupados. ⁸³ A prevalência de anticorpos específicos para a cápside viral VP1 está presente em 40% das crianças e aumenta ao longo da vida, atingindo um valor 2 vezes superior por entre os idosos. Tal sugere que a aquisição da infeção dar-se-á não só na infância, algo característico por entre outros polioma vírus, como durante os anos decorrentes. ⁸⁴

Vários estudos demonstraram que o padrão de integração do MCV no genoma das células tumorais é monoclonal, sugerindo que este processo ocorra previamente à expansão clonal destas células estabelecendo, assim, uma forte possibilidade de uma relação causa-efeito entre a infeção pelo MCV e carcinogênese. ^{59, 81, 85, 86} Esta hipótese é, também, corroborada pela deteção de elevados números de cópias genómicas virais em células de CCM as quais, por sua vez, expressam formas truncadas de antigénios T, *large T antigen* (LTA) e *small T antigen* (sTA). As proteínas de regulação de ciclo celular e supressoras tumorais constituem o seu alvo de atuação, nomeadamente a proteína supressora de retinoblastoma, p53, proteína fosfatase-2A e Bub1. ^{59, 87}

Ainda, outros estudos confirmaram a relação entre a infeção por MCV e ocorrência de CCM,

excetuando na Austrália.⁸⁸⁻⁹³ Há, também, evidência de que o título de anticorpos específicos para MCV é mais elevado em doentes com CCM do que em controlos, o que sugere uma maior replicação viral nos primeiros em relação aos segundos.^{59, 64, 84}

Uma meta-análise concluiu que 79% dos casos de Carcinoma de Células de Merkel eram positivos para MCV, ao passo que tal apenas era constatado em 12% dos controlos.⁹⁴ Estes dados indicam ser possível a deteção do vírus em indivíduos saudáveis, como também por entre casos de Carcinoma Espinocelular Cutâneo, Leucemia Linfocítica Crónica e Linfoma Cutâneo. No entanto, a expressão de MCV em casos de CCM surge acompanhada de integração clonal do vírus e expressão de proteínas virais pelas células tumorais, o que não se verifica nos restantes casos.^{64, 94-100} Para além disto, há evidência de que casos de CCM combinados não apresentam positividade histoquímica para MCV, pelo que se assume que a sua patogénese seja distinta.¹⁰¹

Assim, o MCV integra o grupo de 7 vírus carcinogénicos em humanos conhecidos até ao momento, responsáveis por 10 a 15% de todas as neoplasias malignas a nível mundial.⁸² Ainda, esta entidade é categorizada como um carcinogéneo viral direto, uma vez que se encontra presente na totalidade das células tumorais e expressa, pelo menos, um oncogene responsável pela manutenção do fenótipo neoplásico – no caso do CCM, as oncoproteínas LTA e sTA.^{82, 87}

Radiação ultravioleta

Ainda que o Carcinoma de Células de Merkel possua uma etiologia viral bem estabelecida, cerca de um quinto dos casos não apresenta positividade para MCV.^{94, 102} A prevalência desta ocorrência é mais elevada na Austrália, sendo verificada em cerca de 76%.⁹³

Os tumores MCV negativos são caracterizados por uma elevada carga mutacional, cerca de 25 vezes superior à observada em casos MCV positivos. Destas mutações, a maioria ocorre em *loci* de genes supressores tumorais, como o TP53, RB1, NOTCH1 e PRUNE2. Ainda, 85% correspondem a substituições de citosina por timina, um marco indicativo de dano genético provocado por radiação UV.¹⁰³⁻¹⁰⁶ E, tal como referido anteriormente, vários são os dados que estabelecem a relação entre a exposição solar e a ocorrência de CCM (*Vide* Fatores de Risco).

Idosos e imunossupressão

Recorde-se que o Carcinoma de Células de Merkel é, essencialmente, uma entidade oncológica dos idosos e imunodeprimidos. A diferença de atuação do sistema imunológico entre indivíduos jovens e idosos levou à hipótese que defende que a debilidade imunológica nos mais

velhos se associa a maior suscetibilidade de contração não só de infeções, como também de doenças degenerativas – nomeadamente neurodegenerativas, oncológicas, cardiovasculares e autoimunes – a par de uma pior resposta à vacinação. Um importante marco deste processo de envelhecimento imunológico, denominado de *imunossenescência*, é a diminuição marcada do número de células T CD8⁺ *naïve* no sangue periférico, as quais possuem a capacidade de diferenciação em células T efetoras após contacto antigénico e possibilitam resposta imunológica a um grande repertório de antigénios.¹⁰⁷⁻¹⁰⁹

A sua redução, resultante da involução fisiológica do timo, acarreta defeitos ao nível do combate imunológico a novos agentes patogénicos, maior suscetibilidade para infeções e uma menor eficácia da vacinação nos idosos. Todavia, a linfopenia é algo rara neste grupo etário, dado que a contagem de células T CD8⁺ de memória, resultantes de repetida exposição antigénica, aumentam de número ao longo da vida. Este repertório celular caracteriza-se por uma senescência celular, na medida em que a sua capacidade proliferativa é muito baixa ou mesmo nula.^{107, 108} A este processo atribuiu-se a designação de *proliferação homeostática*, estimando-se que seja crucial para a contenção de infeções virais crónicas ou repetidas, nomeadamente pelo Citomegalovírus.^{109, 110} Assim, conclui-se que se deve considerar os idosos como indivíduos imunodeprimidos o que esclarece, de certa forma, a predileção do CCM por indivíduos quer idosos, quer com outros estados de imunossupressão.

Apresentação clínica

O Carcinoma de Células de Merkel traduz-se clinicamente de forma inespecífica, geralmente como um nódulo elevado de consistência dura e elástica, de crescimento rápido e com diâmetro de 2 centímetros (cm) ou menos em 41.6 a 82% dos doentes, podendo apresentar-se sob a forma de placa ou lesão pediculada. Estão descritas lesões com dimensões de até 15 centímetros de maior eixo.^{23, 29, 33, 38, 111-114} Em 56% dos casos, a lesão apresenta uma tonalidade eritematosa ou rósea, sendo menos frequente a cor azulada ou violácea (em 26%), tom semelhante ao da pele (16%) ou branco-amarelada (2.5%). É assintomática (indolor) em 88 a 90% dos doentes.^{33, 113} Na maioria dos casos, a superfície tumoral encontra-se intacta, é brilhante e pode evidenciar telangiectasias. No entanto, pode apresentar-se ulcerada e hemorrágica.^{73, 113, 115-119}

Estima-se que a maioria dos pacientes (48.3-86%) seja diagnosticada com doença localizada. A doença com metastização ganglionar regional foi diagnosticada em 16.2 a 37% dos casos, ao passo que 2.1 a 13.5% dos doentes se apresentou inicialmente com metástases à distância, com localização preferencial na pele (27.7%), fígado (13.4), pulmão (10%), osso (9.9%) e cérebro (5.8%).^{19, 23, 29, 33, 38, 39, 111-113, 120, 121} Os doentes imunocomprometidos tendem a ser diagnosticados em estádios mais avançados.³³ Ainda, entre 4 a 14% dos casos foram classificados com doença em estágio desconhecido dado não ter sido encontrada a lesão primária, remetendo a ocorrências descritas previamente a 2010, ano em que foi publicado o primeiro sistema de estadiamento da *American Joint Committee on Cancer (AJCC)*.^{33, 112, 120-122} Isto, uma vez que, a partir dessa data, estes casos seriam classificados como IIIB, segundo a sétima versão e, atualmente, como estágio IIIA.^{122, 123}

Quanto à distribuição anatómica, o Carcinoma de Células de Merkel é uma neoplasia predominantemente cutânea (em 97.6% dos casos) e que ocorre preferencialmente em regiões anatómicas com elevada exposição a radiação solar. A maioria dos casos ocorre na cabeça e pescoço (29-53%), seguida dos membros inferiores (12-24%) e superiores (15-24.6%), tronco (6-13%), ouvido externo (3.1-3.36%), pálpebra (2.5-2.61%) e superfície externa do lábio (0.4-2.6%). Há ainda casos de CCM descritos em locais extra-cutâneos, nomeadamente na parótida (0.4%), glândula submandibular (0.1%), cavidade nasal (0.1%) e, em menor frequência, na mucosa genital, oral e esófago.^{19, 23, 25, 29, 33, 38, 111, 112, 121, 124-126}

A partir de um estudo com 195 doentes, Michelle Heath *et al.* geraram o acrónimo AEIOU, o qual encerra as 5 características mais comuns do Carcinoma de Células de Merkel: A – assintomático (*Asymptomatic/Lack of tenderness*), E – expansão rápida, igual ou inferior a 3 meses (*Expanding rapidly*), I – imunossupressão (*Immunosuppression*), O – mais de 50 anos (*Older than*

age 50), e U – local exposto a radiação UV em indivíduo de pele clara (*UV-exposed site on a person with fair skin*). O estudo permitiu concluir que 89% dos casos de CCM apresentavam 3 ou mais características respeitantes ao AEIOU, pelo que este é um critério com alta sensibilidade e com utilidade ao nível da decisão de realização de biópsia posterior. ³³

Dermatoscopia

A análise dermatoscópica do CCM prende-se maioritariamente à pesquisa de padrões vasculares, dado tratar-se de uma lesão amelanótica. Existem vários padrões associados ao CCM que, na sua individualidade, não são específicos. No entanto, a identificação de um padrão vascular atípico – composto pela associação de 3 ou mais estruturas vasculares ou pela presença isolada de áreas leitosas avermelhadas (*milky-red*) ou vasos lineares e irregulares numa só lesão – é indicativa de uma forte probabilidade de lesão maligna subjacente. ^{116, 127-129}

Um dos padrões comumente observados em CCM é a vascularização com ramificação arborizante, descrito na literatura como *arborizing*, *tree-like* ou *serpentine*, o qual constituiu também um achado frequente em casos de Carcinoma Basocelular. No entanto, nesta última, os vasos são visualizados de forma muito nítida e com tonalidade vermelho-vivo, dado participarem numa rede vascular localizada na superfície tumoral, imediatamente abaixo da epiderme. ^{129, 130} Já em contexto de CCM, a trama vascular é visualizada de modo algo desfocado, com vasos de maior calibre e com tonalidade rosada, o que indica uma localização mais profunda, já ao nível da derme. ^{115, 127, 129}

Outros padrões vasculares encontrados em lesões de CCM são igualmente comuns em sede de Melanoma Amelanótico, nomeadamente a presença de áreas leitosas avermelhadas e vasos lineares irregulares, pontilhados ou tipo vírgula. ^{115, 127-129, 131}

Para além disto, o padrão vascular glomerular está descrito em sede de CCM, o qual corresponde à tradução dermatoscópica de vasos situados nas papilas dérmicas, tortuosos e dilatados, associando-se a um maior fluxo sanguíneo nessa região. Esta característica está presente na Doença de Bowen em até 90% dos casos. ^{132, 133}

Em termos de estruturas não vasculares observadas em análise dermatoscópica de CCM, importa destacar que em nenhum registo dermatoscópico foram identificadas estruturas pigmentadas ou véu azul-esbranquiçado, típico do Melanoma Hipomelanótico, ou hiperqueratose, associada ao Carcinoma Espinocelular. ^{115, 129, 134} Porém, foram destacados focos esbranquiçados intralesionais sob a forma de estrias, glóbulos ou áreas maiores com limites mal definidos. ^{115, 116, 128} A ausência de simetria inequívoca das estruturas, ou distorção arquitetural, foi um achado comum numa série de casos. ¹¹⁵

Sumariamente, ainda que nenhum dos padrões visualizados em dermatoscopia seja específico de Carcinoma de Células de Merkel, a presença de um padrão vascular atípico é altamente sugestiva de patologia neoplásica maligna subjacente pelo que deverá motivar biópsia posterior para a obtenção de um diagnóstico precoce. ^{116, 127-129}

Análise histológica e imunohistoquímica

Histologia

O Carcinoma de Células de Merkel constitui uma entidade histológica de localização preferencialmente dérmica, com extensão frequente para estruturas em profundidade, nomeadamente a derme reticular e tecido celular subcutâneo. Geralmente, o tumor não ocupa a derme papilar, epiderme ou anexos cutâneos.^{78, 118} Todavia, há registos de extensão da lesão tumoral para além da derme num padrão pagetoide e, ainda, em que esta se localiza apenas na epiderme.^{62, 65, 118, 135-137} É mais comum o envolvimento desta camada cutânea em indivíduos com outras lesões neoplásicas cutâneas, concomitantes ou prévias, maioritariamente Carcinoma Espinocelular, Carcinoma Basocelular, Melanoma ou ainda respetivas lesões precursoras, tendo sido detetadas Doença de Bowen ou Queratose Actínica na superfície das lesões de CCM em 26% dos casos.^{62, 73, 74}

Os CCM apresentam elevado *turnover* celular pelo que são frequentemente visualizados elevados números de figuras mitóticas em MO. São comuns a invasão perineural e necrose tumoral, ambos identificados em 48% dos casos, bem como a invasão tumoral vascular, em 44%. A infiltração linfocítica na lesão é um aspeto menos típico, ocorrendo em 20% dos casos, bem como a angiogénese peri e intratumoral e a deposição de substância amiloide.^{75, 118}

Histologicamente, o CCM é formado por células basofílicas com citoplasma de reduzido volume. Estão descritos 3 padrões histológicos que não encerram valor de prognóstico.^{75, 78, 118, 138, 139} Porém, é possível a ocorrência de formas mistas entre os 3 padrões. Foram, também, observados casos com focos de diferenciação escamosa, écrina, glandular e melanocítica, ainda que sejam menos frequentes.⁷⁴

Tipo Intermédio

É o padrão histológico mais comum. Neste são visíveis nódulos sólidos de grandes dimensões, compostos por cordões difusos de células basofílicas, com núcleo redondo a ovalado, cromatina finamente granular (em “sal e pimenta”) e nucléolos impercetíveis.^{75, 119, 138, 140}

Tipo de Células Pequenas

Este tipo de CCM é descrito como um agregado de células redondas de pequeno volume, com citoplasma escasso, núcleo ovalado e hipercromático, bem como nucléolos proeminentes. Geralmente, as células tumorais tendem a dispor-se em trabéculas e ninhos, sendo frequente a observação de artefactos por esmagamento em MO. Trata-se de uma variante histologicamente semelhante ao Carcinoma de Pequenas Células do Pulmão, sendo difícil o diagnóstico diferencial tendo apenas como recurso os dados obtidos da análise histológica.^{75, 119, 138, 140, 141}

Tipo Trabecular

Este constitui o padrão menos frequente, caracterizando-se por células redondas ou poligonais, com citoplasma abundante e núcleo central arredondado, dispostas de forma trabecular ou em fita.^{75, 119, 138, 140}

Imunohistoquímica

O Carcinoma de Células de Merkel apresenta positividade para marcadores tanto de células neuroendócrinas, como epiteliais.^{34, 74, 119, 142, 143}

Por entre os marcadores epiteliais expressos pelo CCM encontram-se citoqueratinas como a CK20, AE1/AE3, CAM5.2, BER-EP4, 34BE12 e o antigénio epitelial de membrana.^{34, 74, 119, 139, 140, 142-147} A citoqueratina 20 merece um destaque especial uma vez que constituiu o primeiro marcador identificado para esta patologia e permitiu a abolição da realização de estudos com ME, até então obrigatórios para efeitos de diagnóstico definitivo.^{34, 35, 112} Esta é expressa no epitélio gástrico e intestinal, urotélio e nas células de Merkel.^{34, 148} Na maioria dos estudos publicados, a sua expressão em sede de CCM apresenta um padrão paranuclear punctiforme característico.^{34, 60, 139, 140, 143} Porém, estão hoje descritos casos atípicos de CCM em que não ocorre expressão de CK20, geralmente associados a uma elevada carga mutacional e sem infeção pelo MCV.^{75, 78, 139, 143, 145}

Por entre os marcadores neuroendócrinos expressos no CCM encontram-se as proteínas de neurofilamento, enolase neuroespecífica, cromogranina, sinaptofisina, CD56, bombesina, recetores de somatostatina, péptido intestinal vasoativo, proconvertases PC1, PC3 e PC2.7. A expressão simultânea de citoqueratinas e proteínas de neurofilamento é uma característica do CCM que permite afastar a hipótese de outros tumores de pequenas células.^{51, 55, 78, 139, 140, 145, 149-153}

Ainda, e segundo dois estudos, o CCM expressa CD117 em 75 e 95% dos casos. Este achado levou à formulação das primeiras hipóteses que questionavam sobre os potenciais efeitos dos inibidores da tirosina-cinase.^{57, 154} Para além disto, o CCM poderá também expressar TdT (desoxinucleotidiltransferase terminal) e CD99, numa menor proporção de casos.^{139, 155, 156}

Também a expressão do LTA do MCV poderá ser pesquisada via anticorpo CM2B4, cujo resultado se correlaciona diretamente com a carga viral.⁸⁶

O CCM é, ainda, geralmente negativo para fator transcricional tiroideu 1 (TTF-1), proteína S100, vimentina e CD45 (antigénio leucocitário comum).^{51, 139, 144, 147, 157-159}

Diagnóstico

A *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN) recomenda que o diagnóstico de CCM envolva uma primeira fase de avaliação clínica, com uma extensa inspeção da pele e pesquisa de adenomegalias, seguida de análise histopatológica de biópsia da lesão. A análise do espécimen deverá incluir cortes com coloração *standard* de hematoxilina-eosina e, também, marcação imunohistoquímica, com posterior visualização em MO. Este processo deve ser realizado por anatomopatologistas experientes de modo a aumentar a precisão diagnóstica e afastar a possibilidade de diagnósticos alternativos com semelhança em termos histológicos, nomeadamente o Carcinoma de Pequenas Células do Pulmão. Em termos imunohistoquímicos, deverá ser pesquisado um painel de marcadores que deve incluir, obrigatoriamente, marcação com CK20 e TTF-1. Se o padrão visualizado for atípico ou no caso de persistência de dúvidas no diagnóstico, poderá ser acrescentado um outro marcador como a cromogranina, citoqueratinas AE1/3, proteínas de neurofilamento, enolase neuroespecífica, sinaptofisina e CD56, ou uma associação destes. A marcação com CM2B4 poderá ser empregue em conjunto com este painel de marcadores, ou em sua alternativa.¹⁶⁰

A análise histopatológica do produto de biópsia do tumor primário tem como objetivos o diagnóstico preciso, de modo a distingui-lo de diagnósticos diferenciais; a recolha de informação acerca do tumor de modo a proceder ao seu estadiamento segundo a classificação TNM (*Tumor-Node-Metastasis*) da AJCC; e também a homogeneização da colheita de dados sobre o CCM, a fim de permitir uma melhor compreensão de fatores influenciadores do seu comportamento clínico e prognóstico.¹⁶⁰

A dermatoscopia pode ser útil no diagnóstico de lesões quer pigmentadas, quer não pigmentadas.^{130, 131, 161} A sua utilização em contexto de Carcinoma de Células de Merkel pode mostrar-se vantajosa na medida em que esta técnica permite evidenciar características atípicas ou malignas da lesão cutânea. Por sua vez, a identificação destes aspetos sugestivos de malignidade aumenta a probabilidade e a segurança do profissional médico na requisição de biópsia, possibilitando a obtenção de um diagnóstico definitivo precoce.¹²⁷ Tal é importante na medida em que o Carcinoma de Células de Merkel é uma entidade frequentemente confundida com lesões cutâneas de cariz benigno, o que se associa à protelação na requisição de exame histológico necessário para o diagnóstico.^{33, 127} De facto, num estudo realizado com 195 doentes, a média de intervalo temporal entre o aparecimento da lesão e o pedido de biópsia foi calculada em 5 meses, atingindo um máximo de 4.5 anos.³³

Diagnósticos diferenciais

O CCM é uma patologia clinicamente semelhante a outras lesões cutâneas, quer benignas: quistos, Granuloma Piogénico ou Lipoma; quer malignas ou pré-malignas: metástases cutâneas de tumores primários extra-cutâneos, Carcinoma Espinocelular, Carcinoma Basocelular, Melanoma Amelanótico, Queratoacantoma, Linfoma Cutâneo e tumores anexiais. Os diagnósticos diferenciais mais comuns em relação a lesões da região periocular são o calázio, quistos oculares e tumores blefáricos.^{51, 134, 162, 163}

A avaliação clínica, ainda que constitua um passo inicial e importante na marcha diagnóstica, é pouco esclarecedora acerca da etiologia da lesão. Numa série de 141 diagnósticos prévios a biópsia de lesões de CCM, apenas 1% destes diagnósticos presuntivos estava correto. Mais de metade (56%) das lesões foram inicialmente classificadas como benignas, nomeadamente quistos ou lesões acneiformes (32% das possibilidades de diagnóstico colocadas), para além de Lipoma (6%), Fibroma ou Dermatofibroma (4%), lesões vasculares (4%) e picadas de insetos (3%). Cerca de um terço (35%) destes diagnósticos iniciais apontavam para neoplasias malignas cutâneas que não o CCM, tais como os carcinomas Espinocelular e Basocelular, Linfoma, metástase ou Sarcoma.³³

Tendo isto em conta, os estudos anatomopatológicos constituem um passo importante para a obtenção de um diagnóstico final. No entanto, a análise histológica da lesão poderá não ser exclusivamente suficiente para este efeito. Numa série de 29 casos estudados, o diagnóstico final com base apenas na análise histológica estaria errado em 66%; num outro estudo, 40% dos casos apenas foram diagnosticados como CCM após estudos de imunohistoquímica. Assim, o estudo imunohistoquímico permite uma maior fiabilidade diagnóstica especialmente por entre patologias que se assemelham ao CCM histologicamente, dado que esta apresenta várias características em comum com outros tumores pouco diferenciados.^{112, 157, 164}

Carcinoma de Pequenas Células do Pulmão

Um dos diagnósticos diferenciais em sede de neoplasias cutâneas prende-se com a possibilidade de a lesão traduzir uma metastização de um tumor primário visceral.³³ A metastização cutânea é um fenómeno pouco comum, estimada em 5.3% de todas as neoplasias malignas. É mais frequente em casos de Cancro da Mama (ocorrendo em 24% dos casos), Renal (4%), do Ovário (3.8%), da Bexiga (3.6%), do Pulmão (3.4%) e Colorretal (3.4%). As metástases cutâneas localizam-

se preferencialmente no tronco (59.6%), seguida da região da cabeça e pescoço (23%), extremidades e cintura pélvica (18%). Esta distribuição anatômica difere da do CCM. ¹⁶⁵

Ainda que seja esta constitua uma hipótese possível, a análise histológica será esclarecedora na maioria dos casos. No entanto, é necessário ressaltar que tumores de Células Pequenas, nomeadamente do Pulmão, podem ser indistinguíveis histologicamente do CCM, dado serem compostos por estruturas celulares muito semelhantes. A imunohistoquímica é o passo diagnóstico necessário para afastar esta hipótese, na medida em que o padrão característico de expressão de CK20 e ausência de TTF-1 em sede de CCM constitui um perfil exatamente oposto ao padrão imunohistoquímico do Carcinoma de Pequenas Células do Pulmão. Ainda, este é frequentemente positivo para CK7. ^{34, 139, 147, 159, 166}

Melanoma Cutâneo

A apresentação preferencialmente dérmica e a inexistência de pigmento melânico permitem afastar a hipótese de Melanoma com base na análise histológica. Porém, tendo esta observação em consideração, o subtipo Amelanótico permanece como um diagnóstico diferencial. Também o Melanoma de Pequenas Células é uma hipótese a colocar apenas com base na histologia, dado que os respetivos componentes celulares são em muito semelhantes aos do CCM. ^{142, 167, 168}

Ainda que também constitua uma patologia rara, o Melanoma Amelanótico constitui um diagnóstico diferencial importante tendo em conta a sua epidemiologia, fatores de risco semelhantes com o CCM – idade avançada e predileção por locais foto-expostos – e também pelo aspeto macroscópico sobreponível, podendo traduzir-se sob a forma de nódulo ou placa de tom eritematoso ou semelhante ao da restante pele. Também o Melanoma de Pequenas Células é pouco frequente na literatura, no entanto a sua apresentação histológica é sobreponível ao CCM, visualizando-se células pequenas, arredondadas, hiper cromáticas e com citoplasma escasso, dispostas na derme. ^{142, 167-169}

É possível afastar a hipótese diferencial de Melanoma a partir da imunohistoquímica, já que esta não expressa citoqueratinas, muito comuns em CCM, e apresenta positividade marcada para S-100, HMB-45 e Melan-A, sendo que nenhuma destas é encontrada em estudos imunohistoquímicos em sede de Carcinoma de Células de Merkel. ^{142, 167, 168}

Carcinoma Espinocelular Cutâneo

A Doença de Bowen corresponde a uma forma de Carcinoma Espinocelular *in situ* que se apresenta clinicamente como um pequeno nódulo eritematoso descamativo, constituindo uma lesão confinada à epiderme. Atentando à localização preferencialmente dérmica do Carcinoma de Células de Merkel, a descamação da lesão poderá ser uma característica comum da primeira, mas não da segunda.^{4, 132, 133} No entanto, o CCM poderá ter uma apresentação atípica segundo um padrão pagetoide, afetando a epiderme com ou sem a típica ocupação dérmica. Assim, tanto o Carcinoma Espinocelular Cutâneo como as respectivas lesões precursoras podem ser diferenciados do CCM quer pela morfologia celular diferencial entre ambas as entidades, como por via do estudo imunohistoquímico, dado que apenas o Carcinoma de Células de Merkel expressa CK20.^{69, 170}

Estadiamento

Foi em 2010 que a AJCC e a União Internacional de Controlo do Cancro, UICC, adotaram o primeiro sistema de consenso para o estadiamento do Carcinoma de Células de Merkel. Este baseou-se num dos primeiros estudos de dimensão considerável, o qual analisou 5823 casos ocorridos entre 1986 e 2004 descritos no *National Cancer Database* dos EUA.¹⁷¹ Até esta data, os sistemas de classificação utilizados eram vários e heterogéneos, resultando de estudos de pequena dimensão que oscilavam entre os 70 e 251 doentes analisados.¹⁷²⁻¹⁷⁵ Esta nova classificação seguiu os moldes do sistema TNM (*Tumor-Node-Metastasis*), estando incluída na sétima edição do *AJCC Cancer Staging Manual*.¹²²

A oitava edição do *AJCC Cancer Staging Manual* (*vide* Apêndice, Tabela I) encerrou alterações no sistema de classificação do Carcinoma de Células de Merkel, as quais são importantes em termos de prognóstico. Esta edição passou a incluir não só a avaliação clínica e/ou radiológica, como também uma classificação decorrente da avaliação histopatológica dos gânglios linfáticos drenantes.^{38, 123}

Assim, após confirmação do diagnóstico de Carcinoma de Células de Merkel deverá iniciar-se uma série de exames complementares de modo a incluir o doente num dado estágio, o qual afetará a decisão de tratamento e o seu prognóstico.¹⁶⁰

De salientar que, para além dos meios complementares de diagnóstico a seguir descritos, a avaliação inicial dos doentes deverá incluir a pesquisa de anticorpos para as oncoproteínas do MCV, o qual irá afetar tanto o prognóstico como o *follow-up*.¹⁶⁰

Classificação T (Tumor)

O relatório histopatológico da lesão deverá conter informação sinóptica sobre o diâmetro máximo da lesão, bem como sobre a sua extensão – invasão da fáscia, músculo, cartilagem ou osso. A lesão deverá também ser medida clinicamente, dado que a fixação do tecido para posterior análise em MO poderá resultar em redução do seu volume e, por conseguinte, subestimação do diâmetro tumoral.^{38, 123, 160} Ainda, o *College of American Pathologists* e a NCCN recomendam a medição da espessura tumoral máxima (Breslow), medida em milímetros desde a camada granulosa da epiderme até ao ponto máximo de profundidade tumoral, com recurso a MO.^{160, 176} O protocolo elaborado pelo *College of American Pathologists* acerca do estudo patológico de CCM inclui, ainda, elementos adicionais relativamente às *guidelines* da NCCN: local anatómico, se conhecido; estado das margens periféricas e profundas; e invasão linfovascular. Para além destes,

poderão também estar incluídos, de forma opcional, os seguintes: lateralidade, taxa mitótica, infiltrados linfocíticos, padrão de crescimento (nodular ou infiltrativo) e presença de segunda neoplasia maligna no espécimen analisado.^{160, 176}

Classificação N (Node)

Para além da classificação do envolvimento ganglionar, fruto de investigação clínica e/ou radiológica, a oitava edição do *AJCC Cancer Staging Manual* inclui uma avaliação histopatológica dos gânglios linfáticos.¹²³ Esta deverá ser feita em todos os doentes, independentemente da classificação clínica e/ou radiológica. A realização de aspiração por agulha fina e biópsia *core*, com posterior análise histológica e imunohistoquímica, estão reservadas a casos com classificação clínica de metastização ganglionar positiva; a realização de biópsia excisional deverá ser ponderada em casos negativos e se a suspeita de envolvimento ganglionar for elevada. Por outro lado, a biópsia do gânglio sentinela (BGS) é considerada a melhor técnica para identificação de metastização ganglionar subclínica, pelo que está indicada em todos os casos clinicamente negativos para envolvimento antes da cirurgia de excisão do tumor primário.¹⁶⁰ Esta técnica apresenta uma elevada taxa de falsos negativos (15.1 a 21.4%) que estima dever-se, pelo menos parcialmente, à importante proporção de tumores primários da cabeça e pescoço, marcados pela complexidade ao nível da drenagem linfática o que, por conseguinte, dificulta a deteção do gânglio sentinela.¹⁷⁷⁻¹⁸⁰

A separação entre as avaliações clínica e patológica encerra diferenças ao nível do prognóstico que se devem, essencialmente, a dois motivos. O primeiro prende-se ao facto de a deteção de envolvimento ganglionar pelo exame físico e/ou exames radiológicos apresentar menor sensibilidade comparativamente à análise histopatológica. Cerca de um terço dos doentes outrora clinicamente classificados como N negativos apresentavam envolvimento metastático ganglionar ao exame histopatológico, o que os coloca num estágio mais avançado da doença e, por conseguinte, com pior prognóstico face aos estádios I e II (nos quais estas estruturas não se encontram metastizadas).^{38, 123, 181} O segundo motivo pelo qual esta nova classificação altera o prognóstico da doença passa pela inclusão de uma nova categoria no estágio III, subdividindo-o no estágio IIIA e IIIB. Esta divisão parte de vários estudos que demonstram que a doença a nível ganglionar sem lesão primária identificada (tumores primários ocultos) apresenta melhor prognóstico relativamente a casos em que ambos os achados estão presentes.^{23, 38, 112, 123, 128, 181-187}

Classificação M (Metastasis)

A fim de identificar focos de metastização à distância, deverá ser realizado um conjunto de exames imagiológicos previamente à realização de técnicas com vista à análise histopatológica dos gânglios linfáticos regionais.^{160, 188} No entanto, é de realçar que a NCCN não recomenda a realização de exames de imagem para o estadiamento ganglionar.¹⁶⁰

A utilidade da panóplia de exames complementares disponíveis é foco de intensa discussão na literatura, ainda que a tomografia computadorizada (TC), ressonância magnética nuclear (RMN), tomografia por emissão de positrões com o radiofármaco fluorodesoxiglucose, isoladamente (PET-FDG) ou em associação com TC, sejam os meios complementares de diagnóstico com mais registos e evidência científica.^{181, 189-193} A utilização de qualquer um destes meios de imagem estará reservada para casos em que existe suspeita de metastização ou doença irressecável, nomeadamente após deteção de metastização ganglionar.¹²³

A NCCN recomenda uma bateria de exames imagiológicos que inclui a realização de RMN cranioencefálica com contraste, em conjunto com PET-FDG com TC de corpo inteiro ou, em alternativa, TC cervico-toraco-abdomino-pélvico com contraste. A PET-FDG com TC será o exame de eleição, principalmente em casos de tumor primário com localização nas extremidades.¹²³

Tratamento

A escolha do regime terapêutico a instituir deverá basear-se na decisão tomada em consulta de grupo, estando recomendada a presença de profissional médico das áreas da Dermatologia, Cirurgia, Radio-oncologia, Oncologia, Anatomopatologia e Radiologia. ^{160, 194}

Cirurgia

Dado o seu potencial de rápido crescimento e de disseminação metastática, o CCM é uma entidade em que a excisão cirúrgica da lesão primária constitui o *standard of care* em casos de doença localizada ou loco-regional. No entanto, a cirurgia poderá não ser um procedimento exequível. Isto, na medida em que a NCCN, a European Association of Dermato-Oncology (EADO) e a *European Organisation for Research and Treatment of Cancer* (EORTC) recomendam margens cirúrgicas de 1 a 2 cm em relação à fáscia, músculo ou periósteo craniano, independentemente do tamanho tumoral; tendo em conta a localização preferencial dos tumores na região da cabeça e pescoço, esta tarefa poderá não ser aceitável tanto por implicações funcionais, como estéticas. Para além disto, o CCM é uma patologia que ocorre maioritariamente em população idosa e, como tal, uma importante fração dos doentes não é elegível para cirurgias extensas dados os riscos anestésicos e de complicações pós-operatórias. Como tal, a decisão de prosseguir com tratamento cirúrgico deverá ter em linha de conta a sua morbilidade e não deverá atrasar a realização de radioterapia previamente planeada. ^{160, 188} No entanto, há que ressaltar que o grupo de doentes tratados com esquemas não-cirúrgicos apresenta piores *outcomes* que o grupo sujeito a cirurgia, tanto em estágio I, II ou III. ¹⁹⁵⁻¹⁹⁷

A técnica cirúrgica mais amplamente aplicada para a excisão do tumor primário é a excisão local ampla, ainda que não existam, até à data, recomendações específicas acerca de qual a técnica ótima a utilizar, e em que casos.¹⁹⁸ A cirurgia micrográfica de Mohs modificada é uma técnica cirúrgica com igual eficácia em relação à excisão local ampla, quando aplicada a tumores em estágio I ou II. ^{196, 198-202} A cirurgia micrográfica apresenta vantagens em relação à excisão local ampla tanto ao nível de controlo da expansão neoplásica, uma vez que assegura a total remoção do tumor primário com margens cirúrgicas livres, como também diminui a morbilidade funcional e estética ao minimizar a perda de tecido viável circundante à lesão neoplásica. ^{200, 203} Esta técnica é preferencialmente utilizada em tumores de estágio I e de localização na região da face, couro cabeludo e pescoço. ¹⁹⁶

Para além disto, por entre casos com doença loco-regional, a disseção ganglionar total deverá ser realizada, quer isoladamente ou em conjunto com radioterapia (RT). Também metástases em trânsito deverão ser excisadas sempre que possível. ^{160, 188}

A cirurgia poderá, ainda, ser equacionada em casos selecionados de doença disseminada, principalmente na ocorrência de oligometastização ou metastização sintomática. ^{160, 188}

Radioterapia

O Carcinoma de Células de Merkel é uma neoplasia altamente radiosensível, pelo que a radioterapia pode constituir o tratamento definitivo em casos selecionados, nos quais a excisão total da lesão primária não seja possível ou se esta for recusada pelo doente. A dose de radiação a instituir nestes casos é de 60 a 66 gray (Gy). ^{160, 197}

Pode ser utilizada após cirurgia para excisão do tumor primário em casos de maior risco de recorrência, nomeadamente em indivíduos com lesões primárias de diâmetro igual ou superior a 1 cm, casos de excisão com margens positivas ou com fatores de risco, como invasão linfovascular ou imunossupressão. Nos restantes casos, a observação poderá ser uma estratégia razoável. Na adjuvância, a dose de radiação a administrar depende da *performance* cirúrgica prévia. Assim, doses de 50 a 56 Gy serão suficientes em resseções com margens negativas, ao passo que casos que apresentem margens positivas deverão receber doses de RT de até 60 Gy, se estiver planeada uma nova resseção, ou 66 Gy, caso tal não seja possível. ¹⁶⁰ Um estudo com 6908 doentes concluiu que a terapêutica com RT em adjuvância em casos de doença localizada se associa a melhores resultados em termos de sobrevivência, relativamente a doentes tratados unicamente com cirurgia. ²⁰⁴ Nestes casos, a radioterapia deverá ser iniciada o mais precocemente possível, estando descritos piores *outcomes* nos casos com maiores intervalos de tempo ocorridos entre a cirurgia e a instituição de RT. ¹⁶⁰

Na doença com metastização ganglionar, está recomendada a realização de radioterapia após disseção dos gânglios linfáticos caso seja constatada doença multiganglionar ou com extensão extra-capsular, numa dose de 50-60 Gy. Não está recomendada nos casos em que estas condições não se verificam. Poderá, ainda, ser executada em alternativa à disseção dos gânglios ganglionares, apesar de constituir uma opção de segunda linha. ^{160, 188}

Para além disto, mesmo em casos com BGS negativa – classificados como pN0 – poderá ser ponderada a instituição de RT. Tal aplicar-se-á a doentes imunodeprimidos ou que apresentem fatores que se associam a falsos negativos em BGS, como falha do operador ou da técnica histológica, história cirúrgica prévia no local afetado ou localização na região da cabeça e pescoço.

Da mesma forma, em casos em que a BGS não possa ser realizada ou seja inconclusiva, a NCCN sugere que deverá ser ponderada a realização de ciclo de tratamento com RT. Por outro lado, a EADO-EORTC defende uma estratégia de vigilância clínica e ecográfica a cada 4 meses.^{160, 188}

Ainda, a RT deve ser realizada na doença disseminada ou irressecável como primeira linha, em conjunto com terapêutica sistêmica.¹⁶⁰

Terapêutica sistêmica

Imunoterapia

A imunoterapia, ou terapêutica biológica, encerra uma importante arma terapêutica em oncologia dado o seu potencial de atuação transversal a várias entidades neoplásicas. A sua aplicabilidade no Carcinoma de Células de Merkel prende-se à sua imunogenicidade. Isto, tendo em conta a maior incidência em indivíduos imunocomprometidos e o seu pior prognóstico, a expressão constitutiva de proteínas virais em casos MCV positivos e a elevada carga mutacional associada a radiação UV em tumores MCV negativos; a presença de resposta ao MCV – com base na identificação de células T específicas para os antígenos LTA e sTA; e a infiltração de células T em vários casos de CCM.²⁰⁵⁻²⁰⁷

A identificação da expressão elevada de *checkpoint* imunológico *Programmed Death 1* (PD-1) em infiltrados linfocíticos tumorais, bem como da *upregulation* dos seus ligandos em entidades oncológicas, constituíram passos fulcrais para o início do estudo da aplicabilidade de fármacos bloqueadores do *checkpoint* imunológico PD-1.^{208, 209} Para além disto, após a análise de vários casos de CCM, foi detetada a presença de células T no leito tumoral com potencial de controlo do seu crescimento, as quais estão suprimidas pela hiperatividade de células T reguladoras e pela sobre-expressão da via PD-1.²¹⁰ Daí que este e o seu principal ligando em sede de tumores sólidos, *Programmed Death Ligand 1*, constituam os principais alvos de imunoterapia em CCM. Isto, independentemente da positividade tumoral para MCV.^{104, 208, 211-214}

Em relação à quimioterapia, a terapêutica biológica apresenta vantagens como a maior durabilidade de resposta e melhor perfil de toxicidade. Para além disto, constitui uma importante arma terapêutica para a doença recidivante após tratamento com quimioterapia, a qual vigorou como único tratamento sistémico até 2016.^{51, 211, 212} No entanto, a ocorrência de eventos adversos não é rara e poderá implicar tratamento com corticosteroides, internamento hospitalar ou a suspensão da imunoterapia. Ainda que raras, as emergências médicas como a colite aguda grave,

insuficiência adrenal aguda secundária a adrenalite, hepatite autoimune e pneumonite deverão, pela sua severidade, implicar a descontinuação da terapia biológica.²¹⁵

Assim, a NCCN recomenda a implementação de esquemas de imunoterapia como primeira linha em casos de doença disseminada ou irressecável. No presente momento, estão aprovadas intervenções terapêuticas com avelumab, pembrolizumab e nivolumab.¹⁶⁰

Quimioterapia

A NCCN recomenda a implementação de esquemas de quimioterapia em segunda linha na doença metastática à distância ou irressecável. A sua instituição como primeira linha terapêutica poderá ser equacionada na presença de contraindicações para esquemas de imunoterapia. Os esquemas quimioterápicos não estão indicados na doença localizada podendo, no entanto, ser aplicada a casos selecionados de doença loco-regional, ainda que não apresente benefício em termos de sobrevivência.^{160, 204}

A resposta global da doença aos fármacos quimioterápicos situa-se entre os 40 e 60% e é caracteristicamente de curta duração, com uma mediana de 2 a 9 meses. Estudos apontam para uma capacidade de resposta que se relaciona inversamente com o número prévio de ciclos de tratamento realizados, com taxas de resposta superiores a 70% em doentes *naïve* e, por outro lado, entre 9 e 20% em doentes que haviam recebido um ou mais ciclos de quimioterapia previamente. Para além disto, a instituição desta terapêutica deverá ser ponderada tendo em conta o perfil clínico do doente. Isto, uma vez que apresenta elevada toxicidade, apresentando uma taxa de letalidade que se situa entre os 3 e 10% dos casos – sendo mais elevada em doentes idosos, os quais constituem a larga maioria dos casos de CCM.^{121, 216-221}

Os esquemas recomendados incluem fármacos utilizados na generalidade dos carcinomas de pequenas células, nomeadamente: cisplatina, com ou sem etopósido; carboplatina, isolada ou associada a etopósido; topotecano; ou, ainda, a associação de ciclofosfamida, doxo ou epirrubicina e vincristina.¹⁶⁰

Vigilância

A NCCN recomenda que se proceda a uma vigilância clínica imediatamente após o diagnóstico e tratamento em doentes com CCM. O exame físico deverá incluir uma avaliação completa da pele e cadeias linfáticas a cada 3-6 meses durante os primeiros 3 anos; daí em diante, o intervalo de tempo entre cada examinação deverá ser de 6-12 meses. O doente deverá ser instruído sobre a importância do autoexame da pele, tendo em conta o seu elevado risco de desenvolvimento de outros tumores cutâneos.^{13, 20, 160}

Os exames imagiológicos estão indicados na sequência de novos achados clínicos, como adeno ou organomegalias *de novo*, alterações inexplicáveis de exames analíticos ou desenvolvimento de sintomatologia suspeita. As modalidades de imagem recomendadas pela NCCN são, à semelhança da situação descrita previamente para a deteção de doença metastática, a RMN cranioencefálica com contraste, a par de PET-FDG com TC de corpo inteiro ou TC cervico-toraco-abdomino-pélvico com contraste.¹⁶⁰

Por outro lado, por entre casos de alto risco como doentes em estádios IIIB, IV ou estados de imunossupressão, a realização de exames de imagem poderá estar indicada de forma rotineira. Dado constituírem um grupo com elevado risco de recorrência, este último grupo deverá ser alvo de um *follow-up* com visitas médicas mais frequentes. A terapêutica imunossupressora, se previamente instituída, deverá ser reduzida ao mínimo clinicamente possível.¹⁶⁰

Também é útil a análise seriada do título de anticorpos para as oncoproteínas do MCV em doentes seropositivos. Isto, pois títulos crescentes ao longo de curtos períodos de tempo poderão constituir um indicativo precoce de recorrência. Por outro lado, por entre doentes seronegativos para estes anticorpos, está preconizada uma vigilância clínica intensificada devido ao maior risco de recorrência associado.^{160, 222-225}

Prognóstico

De um modo geral, o CCM é uma entidade oncológica com elevada agressividade clínica. Estão descritos casos de recorrência loco-regional em 26 a 60% dos casos, a maioria dentro de 24 meses após o diagnóstico.^{38, 226} A taxa de mortalidade global estimada é de 30 e 60%.^{171, 227}

Segundo o estadiamento TNM

O prognóstico do Carcinoma de Células de Merkel correlaciona-se com a extensão da doença, o que valida a aplicação do estadiamento TNM a cada doente. Tendo por base o estudo de Harms *et al.* que está na base da oitava edição do *AJCC Cancer Staging Manual*, verifica-se que a proporção de doentes que sobrevivem 5 anos após o diagnóstico decresce à medida que a doença se encontra em estádios mais avançados.³⁸

Doença localizada

A proporção de sobreviventes a 5 anos com doença localizada é de 50.6%. Este valor difere entre cada um dos estádios que constituem esta classificação de doença, os quais dependem apenas do tamanho da lesão tumoral primária. Quando este é T1, estágio I, a proporção de sobrevivência a 5 anos é de 55.8%. Já na doença em estágio IIA, com lesão tumoral classificada como T2 ou T3, este valor decresce para os 41.1%. Por último, em casos T4, estágio IIB, a proporção estimada de sobreviventes é de 31.8%. Assim, quanto maior for a lesão primária, pior será o prognóstico da doença.³⁸

Doença loco-regional

Esta classificação engloba os estádios IIIA e IIIB, apresentando uma proporção conjunta de 35.4% de sobreviventes a 5 anos. O estágio IIIA inclui duas subcategorias de doença: uma delas composta por tumores T1 a T4 com metastização ganglionar clinicamente oculta e comprovada histopatologicamente (N1a); a segunda subcategoria inclui casos com tumor primário oculto (T0), em que a doença foi diagnosticada pela metastização ganglionar tanto em termos clínicos como patológicos (N1b). A primeira apresenta uma sobrevivência a 5 anos de 39.7%, um valor não estatisticamente diferente do verificado na segunda subcategoria, de 42.2%. Ou seja, ainda que

ambas as categorias difiram quanto à apresentação clínica de metastização ganglionar e presença de lesão primária, a sobrevivência é semelhante e tal justifica a sua inclusão num mesmo estágio.

Por sua vez, o estágio IIIA com T0 apresenta melhor prognóstico que lesões da mesma categoria ganglionar (N1b) mas que apresentam lesão primária (T1-4), já que a sobrevivência a 5 anos estimada para esta última subcategoria é de 26.8%. Assim, a doença com metastização ganglionar com tumor primário oculto é a entidade desta classificação que apresenta melhor prognóstico em termos de sobrevivência.³⁸

Doença disseminada

Esta classificação enquadra todos os casos com metastização à distância. A sobrevivência a 5 anos estimada é de 13.5%.³⁸

Fatores de prognóstico

Constituem fatores de pior prognóstico em sede de CCM a localização do tumor primário na região da cabeça, pescoço e membro inferior, diâmetro da lesão primária superior a 2 cm, sexo masculino, imunossupressão, idade superior a 74 anos e, por fim, estado seronegativo em relação ao MCV.^{38, 128, 172, 177, 183, 222-226, 228-234} Um estudo realizado por Harms *et al.* relacionou a expressão de EZH2 na lesão primária, estabelecendo que a sua expressão em níveis elevados se associa a menor tempo livre de doença, e, portanto, pior prognóstico.²³⁵ Por outro lado, a presença de infiltrados de células T específicas para o MCV associa-se a um melhor prognóstico.^{210, 236, 237}

A remissão espontânea é um achado raro por entre a generalidade das neoplasias malignas, ocorrendo em 0.0013% destas. No entanto, em sede de CCM, este fenómeno verifica-se numa proporção largamente mais elevada, estimada em 1.5 a 3% dos casos.^{128, 182, 183} Existem vários registos de remissão espontânea de CCM na literatura, quer esta seja completa, parcial ou com recorrência subsequente. Este fenómeno é mais comum por entre doentes do sexo feminino, numa proporção de 2:1, e tem vindo a ser detetado tanto em doença localizada, como metastática ganglionar e à distância. Nestas últimas situações, também as lesões metastáticas regridem.^{128, 183-187, 234, 238-242} O processo de regressão tumoral decorre num intervalo de tempo que varia entre 1 a 5 meses, segundo dados retirados dos registos disponíveis.^{182, 234, 243} Tendo em conta que a maioria das lesões primárias havia sido sujeita a biópsia previamente à sua regressão, Takenaka *et al.* sugeriram um possível efeito desta agressão cirúrgica na estimulação da atuação do sistema imunológico na destruição de células tumorais.¹⁸⁴ Sugere-se que a regressão tumoral em sede de

CCM seja consequência da atuação de células T CD8⁺, T CD4⁺ e TCD3⁺ frequentemente encontradas nas estruturas tumorais que sofreram regressão. ^{123, 128, 206}

Conclusão

O Carcinoma de Células de Merkel constitui uma entidade oncológica que tem vindo a suscitar o interesse da comunidade médica e científica no seu todo, tendo em conta tratar-se de uma patologia de reconhecimento recente com várias questões ainda sem resposta.

A recente identificação do Poliomavírus de Células de Merkel e a sua associação etiológica com esta patologia culminou na inclusão do CCM no grupo restrito de neoplasias relacionadas por vírus em humanos. Este feito permitiu, ainda, a definição sólida da imunogenicidade desta neoplasia, direcionando a investigação biomédica no sentido de avaliar a instituição de terapias mais eficazes no controlo da doença avançada e de mau prognóstico. No entanto, a ubiquidade do MCV face à baixa incidência do CCM e, ainda, a descrição de casos não associados a infeção viral suscitam questões ao nível do processo de oncogénese, as quais se encontram ainda por responder.

Um dos temas mais controversos remete à histogénese do CCM, pelo que a denominação atualmente mais utilizada para a sua designação, a qual encerra uma visão clássica com origem nas células de Merkel, poderá ser posta em causa no futuro. Isto, considerando o crescente volume de evidência que suporta visões alternativas de origem neoplásica em células pluripotentes da camada basal da epiderme, células pré e pró-B ou, ainda, fibroblastos dérmicos.

Algumas das dificuldades sentidas na realização deste artigo remetem ao processo de análise e validação da literatura disponível. Isto, dado tratar-se de uma doença rara pelo que a larga maioria dos artigos existentes reporta um reduzido número de doentes, acarretando um importante risco de baixa representatividade das amostras estudadas em relação à população real.

É necessária a realização de maior número de estudos multicêntricos e coordenação de entidades a nível internacional para um melhor estudo da patologia. A investigação em sede de Carcinoma de Células de Merkel é fulcral, considerando a ocorrência preferencial por entre a população idosa e imunodeprimida: o envelhecimento da população e a melhoria dos cuidados de saúde, com conseguinte aumento de imunossupressão iatrogénica, associar-se-á, muito provavelmente, à continuidade da tendência crescente em termos de incidência.

Assim, é importante consciencializar o corpo profissional médico para esta entidade neoplásica, principalmente ao nível dos cuidados de saúde primários. Tendo em conta constituírem um primeiro contacto entre médico e doente na rede de cuidados de saúde, importa sensibilizar o profissional de saúde relativamente às características de maior risco, reconhecendo o acrónimo AEIOU como uma importante ferramenta de rastreio e de auxílio à tomada de decisão relativamente à continuidade da investigação clínica. Tal possibilitará, por conseguinte, o aumento da probabilidade de obtenção rastreio precoce e, assim, melhoria do prognóstico.

Apêndice

Tabela I: Estadiamento TNM pela AJCC do Carcinoma de Células de Merkel, adaptado de ¹²³

Tumor primário (T)	
Categoria	Critérios
TX	Tumor primário não acessível (por exemplo, curetado)
T0	Sem evidência de tumor primário
Tis	Tumor primário <i>in situ</i>
T1	Diâmetro tumoral máximo igual ou inferior a 2 cm
T2	Diâmetro tumoral máximo superior a 2 cm, mas igual ou inferior a 5 cm
T3	Diâmetro tumoral máximo superior a 5 cm
T4	Tumor primário com invasão da fáscia, músculo, cartilagem ou osso

Gânglios linfáticos regionais (N)	
Classificação clínica (c)	
Categoria	Critérios
cNX	Gânglios linfáticos regionais não acessíveis clinicamente (por exemplo, excisão prévia por outro motivo)
cN0	Sem metástases ganglionares identificadas
cN1	Gânglios linfáticos regionais metastizados
cN2	Metástases em trânsito, sem metastização ganglionar
cN3	Metástases em trânsito, com metastização ganglionar

Classificação patológica (p)	
Categoria	Critérios
pNX	Gânglios linfáticos regionais não acessíveis (não excisados para avaliação histopatológica; excisão prévia por outro motivo)
pN0	Sem metástases ganglionares identificadas
pN1	Gânglios linfáticos regionais metastizados
pN1a(sn)	Metastização ganglionar clinicamente oculta, apenas identificada por BGS
pN1a	Metastização ganglionar clinicamente oculta, identificada após disseção ganglionar
pN1b	Metastização ganglionar detetada clínica e/ou radiologicamente com confirmação histopatológica
pN2	Metástases em trânsito sem metastização ganglionar
pN3	Metástases em trânsito com metastização ganglionar

Metastização à distância

Classificação clínica	
M0	Ausência clínica e/ou radiológica de metastização à distância
M1	Metastização à distância detetada clínica e/ou radiologicamente
M1a	Metastização para pele, tecido celular subcutâneo ou gânglios linfáticos distantes
M1b	Metastização pulmonar
M1c	Metastização para outros locais anatómicos
Classificação patológica (p)	
M0	Ausência clínica e/ou radiológica de metastização à distância
pM1	Metastização à distância detetada clínica e/ou radiologicamente
pM1a	Metastização para pele, tecido celular subcutâneo ou gânglios linfáticos distantes, confirmada microscopicamente
pM1b	Metastização pulmonar, confirmada microscopicamente
pM1c	Metastização para outros locais anatómicos, confirmada microscopicamente

Estadiamento

Classificação clínica (c)			
Estádio	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
IIA	T2-3	N0	M0
IIB	T4	N0	M0
III	T0-4	N1-3	M0
IV	T0-4	Qualquer N	M1
Classificação patológica (p)			
Estádio	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
IIA	T2-3	N0	M0
IIB	T4	N0	M0
IIIA	T1-4	N1a(sn) ou N1a	M0
	T0	N1b	M0
IIIB	T1-4	N1b-3	M0
IV	T0-4	Qualquer N	M1

Referências bibliográficas

1. Lomas A, Leonardi-Bee J, Bath-Hextall F. *A systematic review of worldwide incidence of nonmelanoma skin cancer*. Br J Dermatol. 2012; **166**(5):1069-80.
2. Becker JC, Stang A, zur Hausen A, et al. *Epidemiology, biology and therapy of Merkel cell carcinoma: conclusions from the EU project IMMOMECC*. Cancer Immunol Immunother. 2018; **67**(3):341-351.
3. Youlten DR, Soyer HP, Youl PH, Fritschi L, Baade PD. *Incidence and survival for Merkel cell carcinoma in Queensland, Australia, 1993-2010*. JAMA Dermatol. 2014; **150**(8):864-72.
4. Toker C. *Trabecular Carcinoma of the Skin*. Arch Derm. 1972; **105**:3.
5. Toker C. *Trabecular carcinoma of the skin. A question of title*. Am J Dermatopathol. 1982; **4**(6):497-500.
6. Tang CK, Toker C. *Trabecular carcinoma of the skin: an ultrastructural study*. Cancer. 1978; **42**(5):2311-21.
7. Silva E, Mackay B. *Neuroendocrine (Merkel cell) carcinomas of the skin: an ultrastructural study of nine cases*. Ultrastruct Pathol. 1981; **2**(1):1-9.
8. Sibley RK, Dehner LP, Rosai J. *Primary neuroendocrine (Merkel cell?) carcinoma of the skin. A clinicopathologic and ultrastructural study of 43 cases*. Am J Surg Pathol. 1985; **9**(2):95-108.
9. de Wolf-Peeters C, Marien K, Mebis J, Desmet V. *A cutaneous APUDoma or Merkel cell tumor? A morphologically recognizable tumor with a biological and histological malignant aspect in contrast with its clinical behavior*. Cancer. 1980; **46**(8):1810-6.
10. Taxy JB, Ettinger DS, Wharam MD. *Primary small cell carcinoma of the skin*. Cancer. 1980; **46**(10):2308-11.
11. van Dijk CV, ten Seldam RE. *A possible primary cutaneous carcinoid*. Cancer. 1975; **36**(3):1016-20.
12. *International Classification of Diseases for Oncology, 1st edition (ICD-O-1)*. World Health Organization. 1976.
13. Howard RA, Dores GM, Curtis RE, Anderson WF, Travis LB. *Merkel cell carcinoma and multiple primary cancers*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2006; **15**(8):1545-9.
14. *International Classification of Diseases for Oncology, 2nd edition (ICD-O-2)*. World Health Organization. 1990.
15. *International Classification of Diseases for Oncology, 3rd edition (ICD-O-3)*. World Health Organization. 2000.
16. Fitzgerald TL, Dennis S, Kachare SD, et al. *Dramatic Increase in the Incidence and Mortality from Merkel Cell Carcinoma in the United States*. Am Surg. 2015; **81**(8):802-6.
17. Robertson JP, Liang ES, Martin RC. *Epidemiology of Merkel cell carcinoma in New Zealand: a population-based study*. Br J Dermatol. 2015; **173**(3):835-7.
18. Girschik J, Thorn K, Beer TW, Heenan PJ, Fritschi L. *Merkel cell carcinoma in Western Australia: a population-based study of incidence and survival*. Br J Dermatol. 2011; **165**(5):1051-7.
19. Kukko H, Bohling T, Koljonen V, et al. *Merkel cell carcinoma - a population-based epidemiological study in Finland with a clinical series of 181 cases*. Eur J Cancer. 2012; **48**(5):737-42.
20. Kaae J, Hansen AV, Biggar RJ, et al. *Merkel cell carcinoma: incidence, mortality, and risk of other cancers*. J Natl Cancer Inst. 2010; **102**(11):793-801.
21. Eisemann N, Waldmann A, Geller AC, et al. *Non-melanoma skin cancer incidence and impact of skin cancer screening on incidence*. J Invest Dermatol. 2014; **134**(1):43-50.
22. Vilar-Coromina N, Pérez Bueno F, Alsina Maqueda M, et al. *Merkel cell cancer of the skin: population-based incidence and survival, 1995-2005*. Med Clin (Barc). 2009; **132**(18):701-3.

23. Reichgelt BA, Visser O. *Epidemiology and survival of Merkel cell carcinoma in the Netherlands. A population-based study of 808 cases in 1993-2007.* Eur J Cancer. 2011; **47**(4):579-85.
24. Holterhues C, Vries E, Louwman MW, Koljenovic S, Nijsten T. *Incidence and trends of cutaneous malignancies in the Netherlands, 1989-2005.* J Invest Dermatol. 2010; **130**(7):1807-12.
25. Samuel RJ, Matthews AG, Holme SA. *Merkel cell carcinoma in Scotland 2000-10.* Br J Dermatol. 2015; **173**(4):1073-5.
26. Zaar O, Gillstedt M, Lindelöf B, Wennberg-Larkö AM, Paoli J. *Merkel cell carcinoma incidence is increasing in Sweden.* J Eur Acad Dermatol Venereol. 2016; **30**(10):1708-1713.
27. Fondain M, Dereure O, Uhry Z, et al. *Merkel cell carcinoma in France: a registries-based, comprehensive epidemiological survey.* J Eur Acad Dermatol Venereol. 2018.
28. Paulson KG, Park SY, Vandeven NA, et al. *Merkel cell carcinoma: Current US incidence and projected increases based on changing demographics.* J Am Acad Dermatol. 2018; **78**(3):457-463 e2.
29. Albores-Saavedra J, Batich K, Chable-Montero F, et al. *Merkel cell carcinoma demographics, morphology, and survival based on 3870 cases: a population based study.* J Cutan Pathol. 2010; **37**(1):20-7.
30. Hodgson NC. *Merkel cell carcinoma: changing incidence trends.* J Surg Oncol. 2005; **89**(1):1-4.
31. Stang A, Becker JC, Nghiem P, Ferlay J. *The association between geographic location and incidence of Merkel cell carcinoma in comparison to melanoma: An international assessment.* Eur J Cancer. 2018; **94**:47-60.
32. Coggshall K, Tello TL, North JP, Yu SS. *Merkel cell carcinoma: An update and review: Pathogenesis, diagnosis, and staging.* J Am Acad Dermatol. 2018; **78**(3):433-442.
33. Heath M, Jaimes N, Lemos B, et al. *Clinical characteristics of Merkel cell carcinoma at diagnosis in 195 patients: the AEIOU features.* J Am Acad Dermatol. 2008; **58**(3):375-81.
34. Moll R, Löwe A, Laufer J, Franke WW. *Cytokeratin 20 in human carcinomas. A new histodiagnostic marker detected by monoclonal antibodies.* Am J Pathol. 1992; **140**(2):427-47.
35. Kuwamoto S. *Recent advances in the biology of Merkel cell carcinoma.* Hum Pathol. 2011; **42**(8):1063-77.
36. Agelli M, Clegg LX. *Epidemiology of primary Merkel cell carcinoma in the United States.* J Am Acad Dermatol. 2003; **49**(5):832-41.
37. Miller RW, Rabkin CS. *Merkel cell carcinoma and melanoma: etiological similarities and differences.* Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1999; **8**(2):6.
38. Harms KL, Healy MA, Nghiem P, et al. *Analysis of Prognostic Factors from 9387 Merkel Cell Carcinoma Cases Forms the Basis for the New 8th Edition AJCC Staging System.* Ann Surg Oncol. 2016; **23**(11):3564-3571.
39. Tarantola TI, Vallow LA, Halyard MY, et al. *Prognostic factors in Merkel cell carcinoma: analysis of 240 cases.* J Am Acad Dermatol. 2013; **68**(3):425-32.
40. Song PI, Liang H, Wei WQ, et al. *The clinical profile of Merkel cell carcinoma in mainland China.* Int J Dermatol. 2012; **51**(9):1054-9.
41. Lunder EJ, Stern RS. *Merkel-cell carcinomas in patients treated with methoxsalen and ultraviolet A radiation.* N Engl J Med. 1998; **339**(17):1247-8.
42. Tadmor T, Aviv A, Polliack A. *Merkel cell carcinoma, chronic lymphocytic leukemia and other lymphoproliferative disorders: an old bond with possible new viral ties.* Ann Oncol. 2011; **22**(2):250-6.
43. Manganoni MA, Farisoglio C, Tucci G, et al. *Merkel cell carcinoma and HIV infection: a case report and review of the literature.* AIDS Patient Care STDS. 2007; **21**(7):447-51.
44. Clarke CA, Robbins HA, Tatalovich Z, et al. *Risk of merkel cell carcinoma after solid organ transplantation.* J Natl Cancer Inst. 2015; **107**(2).

45. Gooptu C, Woollons A, Ross J, et al. *Merkel cell carcinoma arising after therapeutic immunosuppression*. Br J Dermatol. 1997; **137**(4):637-41.
46. Engels EA, Frisch M, Goedert JJ, Biggar RJ, Miller RW. *Merkel cell carcinoma and HIV infection*. Lancet. 2002; **359**(9305):497-8.
47. Penn I, First MR. *Merkel's cell carcinoma in organ recipients: report of 41 cases*. Transplantation. 1999; **68**(11):1717-21.
48. Koljonen V, Rantanen M, Sahi H, et al. *Joint occurrence of Merkel cell carcinoma and non-Hodgkin lymphomas in four Nordic countries*. Leuk Lymphoma. 2015; **56**(12):3315-9.
49. Dogu MH, Sari I, Hacıoglu S, et al. *Two rare diagnoses during chronic lymphocytic leukaemia follow-up: Kaposi's sarcoma and Merkel cell carcinoma*. Scott Med J. 2016; **61**(1):60-3.
50. Buell JF, Trofe J, Hanaway MJ, et al. *Immunosuppression and Merkel cell cancer*. Transplant Proc. 2002; **34**(5):1780-1.
51. Becker JC, Stang A, DeCaprio JA, et al. *Merkel cell carcinoma*. Nat Rev Dis Primers. 2017; **3**:17077.
52. Foschini MP, Eusebi V. *Divergent differentiation in endocrine and nonendocrine tumors of the skin*. Semin Diagn Pathol. 2000; **17**(2):162-8.
53. Calder KB, Smoller BR. *New insights into merkel cell carcinoma*. Adv Anat Pathol. 2010; **17**(3):155-61.
54. Eispert AC, Fuchs F, Brandner JM, et al. *Evidence for distinct populations of human Merkel cells*. Histochem Cell Biol. 2009; **132**(1):83-93.
55. Kurokawa M, Nabeshima K, Akiyama Y, et al. *CD56: a useful marker for diagnosing Merkel cell carcinoma*. J Dermatol Sci. 2003; **31**(3):219-24.
56. Moll I, Roessler M, Brandner JM, et al. *Human Merkel cells--aspects of cell biology, distribution and functions*. Eur J Cell Biol. 2005; **84**(2-3):259-71.
57. Su LD, Fullen DR, Lowe L, et al. *CD117 (KIT receptor) expression in Merkel cell carcinoma*. Am J Dermatopathol. 2002; **24**(4):289-93.
58. Tilling T, Wladykowski E, Failla AV, et al. *Immunohistochemical analyses point to epidermal origin of human Merkel cells*. Histochem Cell Biol. 2014; **141**(4):407-21.
59. Sastre-Garau X, Peter M, Avril MF, et al. *Merkel cell carcinoma of the skin: pathological and molecular evidence for a causative role of MCV in oncogenesis*. J Pathol. 2009; **218**(1):48-56.
60. Saeb-Lima M, Montante-Montes de Oca D, Albores-Saavedra J. *Merkel cell carcinoma with eccrine differentiation: a clinicopathologic study of 7 cases*. Ann Diagn Pathol. 2008; **12**(6):410-4.
61. Iacocca MV, Abernethy JL, Stefanato CM, Allan AE, Bhawan J. *Mixed Merkel cell carcinoma and squamous cell carcinoma of the skin*. J Am Acad Dermatol. 1998; **39**(5 Pt 2):882-7.
62. Hashimoto K, Lee MW, D'Annunzio DR, Balle MR, Narisawa Y. *Pagetoid Merkel cell carcinoma: epidermal origin of the tumor*. J Cutan Pathol. 1998; **25**(10):572-9.
63. Gould E, Albores-Saavedra J, Dubner B, Smith W, Payne CM. *Eccrine and squamous differentiation in Merkel cell carcinoma. An immunohistochemical study*. Am J Surg Pathol. 1988; **12**(10):768-72.
64. Foulongne V, Dereure O, Kluger N, et al. *Merkel cell polyomavirus DNA detection in lesional and nonlesional skin from patients with Merkel cell carcinoma or other skin diseases*. Br J Dermatol. 2010; **162**(1):59-63.
65. Ferringer T, Rogers HC, Metcalf JS. *Merkel cell carcinoma in situ*. J Cutan Pathol. 2005; **32**(2):162-5.
66. Lemasson G, Coquart N, Lebonvallet N, et al. *Presence of putative stem cells in Merkel cell carcinomas*. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2012; **26**(6):789-95.
67. Tan KB, Murali R, Karim RZ, et al. *Merkel cell carcinoma with fibrosarcomatous differentiation*. Pathology. 2008; **40**(3):314-6.
68. Youker SR, Billingsley EM. *Combined Merkel cell carcinoma and atypical fibroxanthoma*. J Cutan Med Surg. 2005; **9**(1):6-9.

69. Hwang JH, Alanen K, Dabbs KD, Danyluk J, Silverman S. *Merkel cell carcinoma with squamous and sarcomatous differentiation*. J Cutan Pathol. 2008; **35**(10):955-9.
70. Fernández-Figueras MT, Puig L, Gilaberte M, et al. *Merkel cell (primary neuroendocrine) carcinoma of the skin with nodal metastasis showing rhabdomyosarcomatous differentiation*. J Cutan Pathol. 2002; **29**(10):619-22.
71. Cooper L, Debono R, Alsanjari N, Al-Nafussi A. *Merkel cell tumour with leiomyosarcomatous differentiation*. Histopathology. 2000; **36**(6):540-3.
72. Nuciforo PG, Frassetta F, Fasani R, Braidotti P, Nuciforo G. *Neuroendocrine carcinoma of the vulva with paraganglioma-like features*. Histopathology. 2004; **44**(3):304-6.
73. Walsh NM. *Primary neuroendocrine (Merkel cell) carcinoma of the skin: morphologic diversity and implications thereof*. Hum Pathol. 2001; **32**(7):680-9.
74. Narisawa Y, Koba S, Inoue T, Nagase K. *Histogenesis of pure and combined Merkel cell carcinomas: An immunohistochemical study of 14 cases*. J Dermatol. 2015; **42**(5):445-52.
75. Pulitzer MP, Amin BD, Busam KJ. *Merkel cell carcinoma: review*. Adv Anat Pathol. 2009; **16**(3):135-44.
76. Moll I, Zieger W, Schmelz M. *Proliferative Merkel cells were not detected in human skin*. Arch Dermatol Res. 1996; **288**(4):184-7.
77. Van Keymeulen A, Mascre G, Youseff KK, et al. *Epidermal progenitors give rise to Merkel cells during embryonic development and adult homeostasis*. J Cell Biol. 2009; **187**(1):91-100.
78. Wong HH, Wang J. *Merkel cell carcinoma*. Arch Pathol Lab Med. 2010; **134**(11):1711-6.
79. Zur Hausen A, Rennspiess D, Winnepeninckx V, Speel EJ, Kurz AK. *Early B-cell differentiation in Merkel cell carcinomas: clues to cellular ancestry*. Cancer Res. 2013; **73**(16):4982-7.
80. Sauer CM, Haugg AM, Chteinberg E, et al. *Reviewing the current evidence supporting early B-cells as the cellular origin of Merkel cell carcinoma*. Crit Rev Oncol Hematol. 2017; **116**:99-105.
81. Feng H, Shuda M, Chang Y, Moore PS. *Clonal integration of a polyomavirus in human Merkel cell carcinoma*. Science. 2008; **319**(5866):1096-100.
82. Moore PS, Chang Y. *Why do viruses cause cancer? Highlights of the first century of human tumour virology*. Nat Rev Cancer. 2010; **10**(12):878-89.
83. Schowalter RM, Pastrana DV, Pumphrey KA, Moyer AL, Buck CB. *Merkel cell polyomavirus and two previously unknown polyomaviruses are chronically shed from human skin*. Cell Host Microbe. 2010; **7**(6):509-15.
84. Viscidi RP, Rollison DE, Sondak VK, et al. *Age-specific seroprevalence of Merkel cell polyomavirus, BK virus, and JC virus*. Clin Vaccine Immunol. 2011; **18**(10):1737-43.
85. Houben R, Shuda M, Weinkam R, et al. *Merkel cell polyomavirus-infected Merkel cell carcinoma cells require expression of viral T antigens*. J Virol. 2010; **84**(14):7064-72.
86. Leroux-Kozal V, Lévêque N, Brodard V, et al. *Merkel cell carcinoma: histopathologic and prognostic features according to the immunohistochemical expression of Merkel cell polyomavirus large T antigen correlated with viral load*. Hum Pathol. 2015; **46**(3):443-53.
87. Shuda M, Feng H, Kwun HJ, et al. *T antigen mutations are a human tumor-specific signature for Merkel cell polyomavirus*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008; **105**(42):16272-7.
88. Becker JC, Houben R, Ugurel S, et al. *MC polyomavirus is frequently present in Merkel cell carcinoma of European patients*. J Invest Dermatol. 2009; **129**(1):248-50.
89. Kassem A, Schopflin A, Diaz C, et al. *Frequent detection of Merkel cell polyomavirus in human Merkel cell carcinomas and identification of a unique deletion in the VP1 gene*. Cancer Res. 2008; **68**(13):5009-13.
90. Carter JJ, Paulson KG, Wipf GC, et al. *Association of Merkel cell polyomavirus-specific antibodies with Merkel cell carcinoma*. J Natl Cancer Inst. 2009; **101**(21):1510-22.
91. Andres C, Belloni B, Puchta U, Sander CA, Flaig MJ. *Prevalence of MCPyV in Merkel cell carcinoma and non-MCC tumors*. J Cutan Pathol. 2010; **37**(1):28-34.

92. Sihto H, Kukko H, Koljonen V, et al. *Clinical factors associated with Merkel cell polyomavirus infection in Merkel cell carcinoma*. J Natl Cancer Inst. 2009; **101**(13):938-45.
93. Garneski KM, Warcola AH, Feng Q, et al. *Merkel cell polyomavirus is more frequently present in North American than Australian Merkel cell carcinoma tumors*. J Invest Dermatol. 2009; **129**(1):246-8.
94. Santos-Juanes J, Fernández-Vega I, Fuentes N, et al. *Merkel cell carcinoma and Merkel cell polyomavirus: a systematic review and meta-analysis*. Br J Dermatol. 2015; **173**(1):42-9.
95. Kassem A, Technau K, Kurz AK, et al. *Merkel cell polyomavirus sequences are frequently detected in nonmelanoma skin cancer of immunosuppressed patients*. Int J Cancer. 2009; **125**(2):356-61.
96. Rollison DE, Giuliano AR, Messina JL, et al. *Case-control study of Merkel cell polyomavirus infection and cutaneous squamous cell carcinoma*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2012; **21**(1):74-81.
97. Dworkin AM, Tseng SY, Allain DC, et al. *Merkel cell polyomavirus in cutaneous squamous cell carcinoma of immunocompetent individuals*. J Invest Dermatol. 2009; **129**(12):2868-74.
98. Trizuljak J, Srovnal J, Plevova K, et al. *Analysis of prognostic significance of merkel cell polyomavirus in chronic lymphocytic leukemia*. Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2015; **15**(7):439-42.
99. Du-Thanh A, Dereure O, Guillot B, Foulongne V. *Merkel cell polyomavirus: its putative involvement in a particular subset of cutaneous lymphoma with possibly unfavorable outcome*. J Clin Virol. 2014; **61**(1):161-5.
100. Reisinger DM, Shiffer JD, Cognetta AB, Jr., Chang Y, Moore PS. *Lack of evidence for basal or squamous cell carcinoma infection with Merkel cell polyomavirus in immunocompetent patients with Merkel cell carcinoma*. J Am Acad Dermatol. 2010; **63**(3):400-3.
101. Ly TY, Walsh NM, Pasternak S. *The spectrum of Merkel cell polyomavirus expression in Merkel cell carcinoma, in a variety of cutaneous neoplasms, and in neuroendocrine carcinomas from different anatomical sites*. Hum Pathol. 2012; **43**(4):557-66.
102. Moshiri AS, Doumani R, Yelistratova L, et al. *Polyomavirus-Negative Merkel Cell Carcinoma: A More Aggressive Subtype Based on Analysis of 282 Cases Using Multimodal Tumor Virus Detection*. J Invest Dermatol. 2017; **137**(4):819-827.
103. Harms PW, Vats P, Verhaegen ME, et al. *The Distinctive Mutational Spectra of Polyomavirus-Negative Merkel Cell Carcinoma*. Cancer Res. 2015; **75**(18):3720-3727.
104. Goh G, Walradt T, Markarov V, et al. *Mutational landscape of MCPyV-positive and MCPyV-negative merkel cell carcinomas with implications for immunotherapy*. Oncotarget. 2016(7):13.
105. Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, et al. *Signatures of mutational processes in human cancer*. Nature. 2013; **500**(7463):415-21.
106. Popp S, Waltering S, Herbst C, Moll I, Boukamp P. *UV-B-type mutations and chromosomal imbalances indicate common pathways for the development of Merkel and skin squamous cell carcinomas*. Int J Cancer. 2002; **99**(3):352-60.
107. Goronzy JJ, Weyand CM. *Understanding immunosenescence to improve responses to vaccines*. Nat Immunol. 2013; **14**(5):428-36.
108. Fukushima Y, Minato N, Hattori M. *The impact of senescence-associated T cells on immunosenescence and age-related disorders*. Inflamm Regen. 2018; **38**:24.
109. Fagnoni FF, Vescovini R, Passeri G, et al. *Shortage of circulating naive CD8(+) T cells provides new insights on immunodeficiency in aging*. Blood. 2000; **95**(9):2860-8.
110. Alam I, Goldeck D, Larbi A, Pawelec G. *Aging affects the proportions of T and B cells in a group of elderly men in a developing country-a pilot study from Pakistan*. Age (Dordr). 2013; **35**(5):1521-30.
111. Smith VA, Camp ER, Lentsch EJ. *Merkel cell carcinoma: identification of prognostic factors unique to tumors located in the head and neck based on analysis of SEER data*. Laryngoscope. 2012; **122**(6):1283-90.

112. Goepfert H, Remmler D, Silva E, Wheeler B. *Merkel cell carcinoma (endocrine carcinoma of the skin) of the head and neck*. Arch Otolaryngol. 1984; **110**(11):707-12.
113. Dañino-García M, Domínguez-Cruz JJ, Pérez-Ruiz C, Conejo-Mir J, Pereyra-Rodríguez JJ. *Características clínico-epidemiológicas del carcinoma de células de Merkel en una serie de 38 pacientes*. Actas Dermosifiliogr. 2018.
114. Schadendorf D, Lebbé C, zur Hausen A, et al. *Merkel cell carcinoma: Epidemiology, prognosis, therapy and unmet medical needs*. Eur J Cancer. 2017; **71**:53-69.
115. Jalilian C, Chamberlain AJ, Haskett M, et al. *Clinical and dermoscopic characteristics of Merkel cell carcinoma*. Br J Dermatol. 2013; **169**(2):294-7.
116. Laureano A, Cunha D, Fernandes C, Cardoso J. *Dermoscopy in Merkel cell carcinoma: a case report*. Dermatol Online J. 2014; **20**(2).
117. Ratner D, Nelson BR, Brown MD, Johnson TM. *Merkel cell carcinoma*. J Am Acad Dermatol. 1993; **29**(2 Pt 1):143-56.
118. Mott RT, Smoller BR, Morgan MB. *Merkel cell carcinoma: a clinicopathologic study with prognostic implications*. J Cutan Pathol. 2004; **31**(3):217-23.
119. Skelton HG, Smith KJ, Hitchcock CL, et al. *Merkel cell carcinoma: analysis of clinical, histologic, and immunohistologic features of 132 cases with relation to survival*. J Am Acad Dermatol. 1997; **37**(5 Pt 1):734-9.
120. Hitchcock CL, Bland KI, Laney RG, 3rd, et al. *Neuroendocrine (Merkel cell) carcinoma of the skin. Its natural history, diagnosis, and treatment*. Ann Surg. 1988; **207**(2):201-7.
121. Voog E, Biron P, Martin JP, Blay JY. *Chemotherapy for patients with locally advanced or metastatic Merkel cell carcinoma*. Cancer. 1999; **85**(12):2589-95.
122. *Merkel Cell Carcinoma*. In: American Joint Committee on Cancer. AJCC Cancer Staging Manual. 7th ed. NY: Springer. 2010.
123. *Merkel Cell Carcinoma*. In: American Joint Committee on Cancer. AJCC Cancer Staging Manual. 8th ed. NY: Springer. 2017.
124. Nagao T, Gaffey TA, Olsen KD, Serizawa H, Lewis JE. *Small cell carcinoma of the major salivary glands: clinicopathologic study with emphasis on cytokeratin 20 immunoreactivity and clinical outcome*. Am J Surg Pathol. 2004; **28**(6):762-70.
125. Mir R, Sciubba JJ, Bhuiya TA, et al. *Merkel cell carcinoma arising in the oral mucosa*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1988; **65**(1):71-5.
126. Mohit M, Mosallai A, Monabbati A, Mortazavi H. *Merkel cell carcinoma of the vulva*. Saudi Med J. 2009; **30**(5):717-8.
127. Harting MS, Ludgate MW, Fullen DR, Johnson TM, Bichakjian CK. *Dermatoscopic vascular patterns in cutaneous Merkel cell carcinoma*. J Am Acad Dermatol. 2012; **66**(6):923-7.
128. Ciudad C, Avilés JA, Alfageme F, et al. *Spontaneous regression in merkel cell carcinoma: report of two cases with a description of dermoscopic features and review of the literature*. Dermatol Surg. 2010; **36**(5):687-93.
129. Dalle S, Parmentier L, Moscarella E, et al. *Dermoscopy of Merkel cell carcinoma*. Dermatology. 2012; **224**(2):140-4.
130. Kreusch JF. *Vascular patterns in skin tumors*. Clin Dermatol. 2002; **20**(3):248-54.
131. Argenziano G, Zalaudek I, Corona R, et al. *Vascular structures in skin tumors: a dermoscopy study*. Arch Dermatol. 2004; **140**(12):1485-9.
132. Zalaudek I, Argenziano G, Leinweber B, et al. *Dermoscopy of Bowen's disease*. Br J Dermatol. 2004; **150**(6):1112-6.
133. Neagu TP, Tiglis M, Botezatu D, et al. *Clinical, histological and therapeutic features of Bowen's disease*. Rom J Morphol Embryol. 2017; **58**(1):33-40.
134. Scalvenzi M, Palmisano F, Ilardi G, Varricchio S, Costa C. *Clinical, dermoscopic and histological features of a Merkel cell carcinoma of the hand*. J Dermatol Case Rep. 2013; **7**(1):15-7.
135. LeBoit PE, Crutcher WA, Shapiro PE. *Pagetoid intraepidermal spread in Merkel cell (primary neuroendocrine) carcinoma of the skin*. Am J Surg Pathol. 1992; **16**(6):584-92.

136. Smith KJ, Skelton HG, 3rd, Holland TT, Morgan AM, Lupton GP. *Neuroendocrine (Merkel cell) carcinoma with an intraepidermal component*. Am J Dermatopathol. 1993; **15**(6):528-33.
137. Brown HA, Sawyer DM, Woo T. *Intraepidermal Merkel cell carcinoma with no dermal involvement*. Am J Dermatopathol. 2000; **22**(1):65-9.
138. Gould E, Moll R, Moll I, Lee I, Franke WW. *Neuroendocrine (Merkel) cells of the skin: hyperplasias, dysplasias, and neoplasms*. Lab Invest. 1985; **52**(4):334-53.
139. Poulsen M. *Merkel-cell carcinoma of the skin*. Lancet Oncol. 2004; **5**(10):593-9.
140. Bobos M, Hytiroglou P, Kostopoulos I, Karkavelas G, Papadimitriou CS. *Immunohistochemical distinction between merkel cell carcinoma and small cell carcinoma of the lung*. Am J Dermatopathol. 2006; **28**(2):99-104.
141. Schmidt U, Müller U, Metz KA, Leder LD. *Cytokeratin and neurofilament protein staining in Merkel cell carcinoma of the small cell type and small cell carcinoma of the lung*. Am J Dermatopathol. 1998; **20**(4):346-51.
142. Battifora H, Silva EG. *The use of antikeratin antibodies in the immunohistochemical distinction between neuroendocrine (Merkel cell) carcinoma of the skin, lymphoma, and oat cell carcinoma*. Cancer. 1986; **58**(5):1040-6.
143. Jensen K, Kohler S, Rouse RV. *Cytokeratin staining in Merkel cell carcinoma: an immunohistochemical study of cytokeratins 5/6, 7, 17, and 20*. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2000; **8**(4):310-5.
144. Pectasides D, Pectasides M, Economopoulos T. *Merkel cell cancer of the skin*. Ann Oncol. 2006; **17**(10):1489-95.
145. Calder KB, Coplowitz S, Schlauder S, Morgan MB. *A case series and immunophenotypic analysis of CK20-/CK7+ primary neuroendocrine carcinoma of the skin*. J Cutan Pathol. 2007; **34**(12):918-23.
146. Chan JK, Suster S, Wenig BM, et al. *Cytokeratin 20 immunoreactivity distinguishes Merkel cell (primary cutaneous neuroendocrine) carcinomas and salivary gland small cell carcinomas from small cell carcinomas of various sites*. Am J Surg Pathol. 1997; **21**(2):226-34.
147. Cheuk W, Kwan MY, Suster S, Chan JK. *Immunostaining for thyroid transcription factor 1 and cytokeratin 20 aids the distinction of small cell carcinoma from Merkel cell carcinoma, but not pulmonary from extra-pulmonary small cell carcinomas*. Arch Pathol Lab Med. 2001; **125**(2):228-31.
148. Moll R, Schiller DL, Franke WW. *Identification of protein IT of the intestinal cytoskeleton as a novel type I cytokeratin with unusual properties and expression patterns*. J Cell Biol. 1990; **111**(2):567-80.
149. Haneke E, Schulze HJ, Mahrle G. *Immunohistochemical and immunoelectron microscopic demonstration of chromogranin A in formalin-fixed tissue of Merkel cell carcinoma*. J Am Acad Dermatol. 1993; **28**(2 Pt 1):222-6.
150. Shah IA, Netto D, Schlageter MO, et al. *Neurofilament immunoreactivity in Merkel-cell tumors: a differentiating feature from small-cell carcinoma*. Mod Pathol. 1993; **6**(1):3-9.
151. Gardair C, Samimi M, Touzé A, et al. *Somatostatin Receptors 2A and 5 Are Expressed in Merkel Cell Carcinoma with No Association with Disease Severity*. Neuroendocrinology. 2015; **101**(3):223-35.
152. Barksdale SK. *Advances in Merkel cell carcinoma from a pathologist's perspective*. Pathology. 2017; **49**(6):568-574.
153. Moll R, Osborn M, Hartschuh W, et al. *Variability of expression and arrangement of cytokeratin and neurofilaments in cutaneous neuroendocrine carcinomas (Merkel cell tumors): immunocytochemical and biochemical analysis of twelve cases*. Ultrastruct Pathol. 1986; **10**(6):473-95.
154. Strong S, Shalders K, Carr R, Snead DR. *KIT receptor (CD117) expression in Merkel cell carcinoma*. Br J Dermatol. 2004; **150**(2):384-5.

155. Nicholson SA, McDermott MB, Swanson PE, Wick MR. *CD99 and cytokeratin-20 in small-cell and basaloid tumors of the skin*. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2000; **8**(1):37-41.
156. Sur M, AlArdati H, Ross C, Alowami S. *TdT expression in Merkel cell carcinoma: potential diagnostic pitfall with blastic hematological malignancies and expanded immunohistochemical analysis*. Mod Pathol. 2007; **20**(11):1113-20.
157. Agoff SN, Lamps LW, Philip AT, et al. *Thyroid transcription factor-1 is expressed in extra-pulmonary small cell carcinomas but not in other extra-pulmonary neuroendocrine tumors*. Mod Pathol. 2000; **13**(3):238-42.
158. Ordóñez NG. *Value of thyroid transcription factor-1 immunostaining in distinguishing small cell lung carcinomas from other small cell carcinomas*. Am J Surg Pathol. 2000; **24**(9):1217-23.
159. Hanly AJ, Elgart GW, Jorda M, Smith J, Nadji M. *Analysis of thyroid transcription factor-1 and cytokeratin 20 separates merkel cell carcinoma from small cell carcinoma of lung*. J Cutan Pathol. 2000; **27**(3):118-20.
160. NCCN. *NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Merkel Cell Carcinoma*. V. 2. 2019. 2019.
161. Menzies SW, Kreuzsch J, Byth K, et al. *Dermoscopic evaluation of amelanotic and hypomelanotic melanoma*. Arch Dermatol. 2008; **144**(9):1120-7.
162. Peters GB, 3rd, Meyer DR, Shields JA, et al. *Management and prognosis of Merkel cell carcinoma of the eyelid*. Ophthalmology. 2001; **108**(9):1575-9.
163. Merritt H, Sniegowski MC, Esmali B. *Merkel cell carcinoma of the eyelid and periorcular region*. Cancers (Basel). 2014; **6**(2):1128-37.
164. Eftekhari F, Wallace S, Silva EG, Lenzi R. *Merkel cell carcinoma of the skin: imaging and clinical features in 93 cases*. Br J Radiol. 1996; **69**(819):226-33.
165. Krathen RA, Orengo IF, Rosen T. *Cutaneous metastasis: a meta-analysis of data*. South Med J. 2003; **96**(2):164-7.
166. Leech SN, Kolar AJ, Barrett PD, Sinclair SA, Leonard N. *Merkel cell carcinoma can be distinguished from metastatic small cell carcinoma using antibodies to cytokeratin 20 and thyroid transcription factor 1*. J Clin Pathol. 2001; **54**(9):727-9.
167. Song HS, Kim YC. *Small cell melanoma*. Ann Dermatol. 2014; **26**(3):419-21.
168. Ohsie SJ, Sarantopoulos GP, Cochran AJ, Binder SW. *Immunohistochemical characteristics of melanoma*. J Cutan Pathol. 2008; **35**(5):433-44.
169. Pizzichetta MA, Talamini R, Stanganelli I, et al. *A melanotic/hypomelanotic melanoma: clinical and dermoscopic features*. Br J Dermatol. 2004; **150**(6):1117-24.
170. Alhumaidi A. *Practical immunohistochemistry of epithelial skin tumor*. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2012; **78**(6):698-708.
171. Lemos BD, Storer BE, Iyer JG, et al. *Pathologic nodal evaluation improves prognostic accuracy in Merkel cell carcinoma: analysis of 5823 cases as the basis of the first consensus staging system*. J Am Acad Dermatol. 2010; **63**(5):751-61.
172. Allen PJ, Bowne WB, Jaques DP, et al. *Merkel cell carcinoma: prognosis and treatment of patients from a single institution*. J Clin Oncol. 2005; **23**(10):2300-9.
173. Allen PJ, Zhang ZF, Coit DG. *Surgical management of Merkel cell carcinoma*. Ann Surg. 1999; **229**(1):97-105.
174. Clark JR, Veness MJ, Gilbert R, O'Brien CJ, Gullane PJ. *Merkel cell carcinoma of the head and neck: is adjuvant radiotherapy necessary?* Head Neck. 2007; **29**(3):249-57.
175. Yiengpruksawan A, Coit DG, Thaler HT, Urmacher C, Knapper WK. *Merkel cell carcinoma. Prognosis and management*. Arch Surg. 1991; **126**(12):1514-9.
176. Smoller BR, Bichakjian CK, Brown A, et al. *Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Merkel Cell Carcinoma of the Skin, Version 4.0.0.1*. College of American Pathologists Cancer Protocol Templates 2017. 2017.

177. Gunaratne DA, Howle JR, Veness MJ. *Sentinel lymph node biopsy in Merkel cell carcinoma: a 15-year institutional experience and statistical analysis of 721 reported cases*. Br J Dermatol. 2016; **174**(2):273-81.
178. Jouary T, Kubica E, Dalle S, et al. *Sentinel node status and immunosuppression: recurrence factors in localized Merkel cell carcinoma*. Acta Derm Venereol. 2015; **95**(7):835-40.
179. Servy A, Maubec E, Sugier PE, et al. *Merkel cell carcinoma: value of sentinel lymph-node status and adjuvant radiation therapy*. Ann Oncol. 2016; **27**(5):914-9.
180. Fields RC, Busam KJ, Chou JF, et al. *Recurrence and survival in patients undergoing sentinel lymph node biopsy for merkel cell carcinoma: analysis of 153 patients from a single institution*. Ann Surg Oncol. 2011; **18**(9):2529-37.
181. Gupta SG, Wang LC, Peñas PF, et al. *Sentinel lymph node biopsy for evaluation and treatment of patients with Merkel cell carcinoma: The Dana-Farber experience and meta-analysis of the literature*. Arch Dermatol. 2006; **142**(6):685-90.
182. Connelly TJ, Cribier B, Brown TJ, Yanguas I. *Complete spontaneous regression of Merkel cell carcinoma: a review of the 10 reported cases*. Dermatol Surg. 2000; **26**(9):853-6.
183. Sais G, Admella C, Soler T. *Spontaneous regression in primary cutaneous neuroendocrine (Merkel cell) carcinoma: a rare immune phenomenon?* J Eur Acad Dermatol Venereol. 2002; **16**(1):82-3.
184. Takenaka H, Kishimoto S, Shibagaki R, Nagata M, Yasuno H. *Merkel cell carcinoma with partial spontaneous regression: an immunohistochemical, ultrastructural, and TUNEL labeling study*. Am J Dermatopathol. 1997; **19**(6):614-8.
185. Ahmadi Moghaddam P, Cornejo KM, Hutchinson L, et al. *Complete Spontaneous Regression of Merkel Cell Carcinoma After Biopsy: A Case Report and Review of the Literature*. Am J Dermatopathol. 2016; **38**(11):e154-e158.
186. Kayashima K, Ono T, Johno M, et al. *Spontaneous regression in Merkel cell (neuroendocrine) carcinoma of the skin*. Arch Dermatol. 1991; **127**(4):550-3.
187. Yanguas I, Goday JJ, González-Güemes M, et al. *Spontaneous regression of Merkel cell carcinoma of the skin*. Br J Dermatol. 1997; **137**(2):296-8.
188. Lebbe C, Becker JC, Grob JJ, et al. *Diagnosis and treatment of Merkel Cell Carcinoma. European consensus-based interdisciplinary guideline*. Eur J Cancer. 2015; **51**(16):2396-403.
189. Anderson SE, Beer KT, Banic A, et al. *MRI of merkel cell carcinoma: histologic correlation and review of the literature*. AJR Am J Roentgenol. 2005; **185**(6):1441-8.
190. Concannon R, Larcos GS, Veness M. *The impact of (18)F-FDG PET-CT scanning for staging and management of Merkel cell carcinoma: results from Westmead Hospital, Sydney, Australia*. J Am Acad Dermatol. 2010; **62**(1):76-84.
191. George A, Girault S, Testard A, et al. *The impact of (18)F-FDG-PET/CT on Merkel cell carcinoma management: a retrospective study of 66 scans from a single institution*. Nucl Med Commun. 2014; **35**(3):282-90.
192. Treglia G, Kakhki VR, Giovanella L, Sadeghi R. *Diagnostic performance of fluorine-18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in patients with Merkel cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis*. Am J Clin Dermatol. 2013; **14**(6):437-47.
193. Duncan JR, Carr D, Kaffenberger BH. *The utility of positron emission tomography with and without computed tomography in patients with nonmelanoma skin cancer*. J Am Acad Dermatol. 2016; **75**(1):186-96.
194. Schneider S, Thurnher D, Erovic BM. *Merkel cell carcinoma: interdisciplinary management of a rare disease*. J Skin Cancer. 2013; **2013**:189342.
195. Wright GP, Holtzman MP. *Surgical resection improves median overall survival with marginal improvement in long-term survival when compared with definitive radiotherapy in Merkel cell carcinoma: A propensity score matched analysis of the National Cancer Database*. Am J Surg. 2018; **215**(3):384-387.

196. Shaikh WR, Sobanko JF, Etkorn JR, Shin TM, Miller CJ. *Utilization patterns and survival outcomes after wide local excision or Mohs micrographic surgery for Merkel cell carcinoma in the United States, 2004-2009.* J Am Acad Dermatol. 2018; **78**(1):175-177 e3.
197. Veness M, Howle J. *Radiotherapy alone in patients with Merkel cell carcinoma: the Westmead Hospital experience of 41 patients.* Australas J Dermatol. 2015; **56**(1):19-24.
198. Singh B, Qureshi MM, Truong MT, Sahni D. *Demographics and outcomes of stage I and II Merkel cell carcinoma treated with Mohs micrographic surgery compared with wide local excision in the National Cancer Database.* J Am Acad Dermatol. 2018; **79**(1):126-134 e3.
199. Su C, Bai HX, Christensen S. *Relative survival analysis in patients with stage I-II Merkel cell carcinoma treated with Mohs micrographic surgery or wide local excision.* J Am Acad Dermatol. 2018.
200. O'Connor WJ, Roenigk RK, Brodland DG. *Merkel cell carcinoma. Comparison of Mohs micrographic surgery and wide excision in eighty-six patients.* Dermatol Surg. 1997; **23**(10):929-33.
201. Boyer JD, Zitelli JA, Brodland DG, D'Angelo G. *Local control of primary Merkel cell carcinoma: review of 45 cases treated with Mohs micrographic surgery with and without adjuvant radiation.* J Am Acad Dermatol. 2002; **47**(6):885-92.
202. Tromovich TA, Stegeman SJ. *Microscopically controlled excision of skin tumors: chemosurgery (Mohs): fresh tissue technique.* Arch Derm. 1974; **110**:231-232.
203. Pennington BE, Leffell DJ. *Mohs micrographic surgery: established uses and emerging trends.* Oncology (Williston Park). 2005; **19**(9):1165-71; discussion 1171-2, 1175.
204. Bhatia S, Storer BE, Iyer JG, et al. *Adjuvant Radiation Therapy and Chemotherapy in Merkel Cell Carcinoma: Survival Analyses of 6908 Cases From the National Cancer Data Base.* J Natl Cancer Inst. 2016; **108**(9).
205. Paulson KG, Iyer JG, Blom A, et al. *Systemic immune suppression predicts diminished Merkel cell carcinoma-specific survival independent of stage.* J Invest Dermatol. 2013; **133**(3):642-646.
206. Lyngaa R, Pedersen NW, Schrama D, et al. *T-cell responses to oncogenic merkel cell polyomavirus proteins distinguish patients with merkel cell carcinoma from healthy donors.* Clin Cancer Res. 2014; **20**(7):1768-78.
207. Afanasiev OK, Yelistratova L, Miller N, et al. *Merkel polyomavirus-specific T cells fluctuate with merkel cell carcinoma burden and express therapeutically targetable PD-1 and Tim-3 exhaustion markers.* Clin Cancer Res. 2013; **19**(19):5351-60.
208. Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. *Immune checkpoint blockade: a common denominator approach to cancer therapy.* Cancer Cell. 2015; **27**(4):450-61.
209. Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. *Targeting the PD-1/B7-H1(PD-L1) pathway to activate anti-tumor immunity.* Curr Opin Immunol. 2012; **24**(2):207-12.
210. Dowlatshahi M, Huang V, Gehad AE, et al. *Tumor-specific T cells in human Merkel cell carcinomas: a possible role for Tregs and T-cell exhaustion in reducing T-cell responses.* J Invest Dermatol. 2013; **133**(7):1879-89.
211. Nghiem PT, Bhatia S, Lipson EJ, et al. *PD-1 Blockade with Pembrolizumab in Advanced Merkel-Cell Carcinoma.* N Engl J Med. 2016; **374**(26):2542-52.
212. Kaufman HL, Russell J, Hamid O, et al. *Avelumab in patients with chemotherapy-refractory metastatic Merkel cell carcinoma: a multicentre, single-group, open-label, phase 2 trial.* Lancet Oncol. 2016; **17**(10):1374-1385.
213. Walocko FM, Scheier BY, Harms PW, Fecher LA, Lao CD. *Metastatic Merkel cell carcinoma response to nivolumab.* J Immunother Cancer. 2016; **4**:79.
214. Winkler JK, Bender C, Kratochwil C, Enk A, Hassel JC. *PD-1 blockade: a therapeutic option for treatment of metastatic Merkel cell carcinoma.* Br J Dermatol. 2017; **176**(1):216-219.
215. Abdel-Wahab N, Alshawa A, Suarez-Almazor ME. *Adverse Events in Cancer Immunotherapy.* Adv Exp Med Biol. 2017; **995**:155-174.

216. Fenig E, Brenner B, Katz A, et al. *The role of radiation therapy and chemotherapy in the treatment of Merkel cell carcinoma*. *Cancer*. 1997; **80**(5):881-5.
217. Tai PT, Yu E, Winquist E, et al. *Chemotherapy in neuroendocrine/Merkel cell carcinoma of the skin: case series and review of 204 cases*. *J Clin Oncol*. 2000; **18**(12):2493-9.
218. Sharma D, Flora G, Grunberg SM. *Chemotherapy of metastatic Merkel cell carcinoma: case report and review of the literature*. *Am J Clin Oncol*. 1991; **14**(2):166-9.
219. Iyer JG, Blom A, Doumani R, et al. *Response rates and durability of chemotherapy among 62 patients with metastatic Merkel cell carcinoma*. *Cancer Med*. 2016; **5**(9):2294-301.
220. Cowey CL, Mahnke L, Espirito J, et al. *Real-world treatment outcomes in patients with metastatic Merkel cell carcinoma treated with chemotherapy in the USA*. *Future Oncol*. 2017; **13**(19):1699-1710.
221. Becker JC, Lorenz E, Ugurel S, et al. *Evaluation of real-world treatment outcomes in patients with distant metastatic Merkel cell carcinoma following second-line chemotherapy in Europe*. *Oncotarget*. 2017; **8**(45):79731-79741.
222. Paulson KG, Carter JJ, Johnson LG, et al. *Antibodies to merkel cell polyomavirus T antigen oncoproteins reflect tumor burden in merkel cell carcinoma patients*. *Cancer Res*. 2010; **70**(21):8388-97.
223. Paulson KG, Lewis CW, Redman MW, et al. *Viral oncoprotein antibodies as a marker for recurrence of Merkel cell carcinoma: A prospective validation study*. *Cancer*. 2017; **123**(8):1464-1474.
224. Touzé A, Le Bidre E, Laude H, et al. *High levels of antibodies against merkel cell polyomavirus identify a subset of patients with merkel cell carcinoma with better clinical outcome*. *J Clin Oncol*. 2011; **29**(12):1612-9.
225. Samimi M, Molet L, Fleury M, et al. *Prognostic value of antibodies to Merkel cell polyomavirus T antigens and VP1 protein in patients with Merkel cell carcinoma*. *Br J Dermatol*. 2016; **174**(4):813-22.
226. Poulsen M, Round C, Keller J, Tripcony L, Veness M. *Factors influencing relapse-free survival in Merkel cell carcinoma of the lower limb--a review of 60 cases*. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2010; **76**(2):393-7.
227. Medina-Franco H, Urist MM, Fiveash J, et al. *Multimodality treatment of Merkel cell carcinoma: case series and literature review of 1024 cases*. *Ann Surg Oncol*. 2001; **8**(3):204-8.
228. Singh M, Calonje E. *Serological biomarkers for determining prognosis in Merkel cell carcinoma*. *Br J Dermatol*. 2016; **174**(4):715-6.
229. Touze A, Gaitan J, Maruani A, et al. *Merkel cell polyomavirus strains in patients with merkel cell carcinoma*. *Emerg Infect Dis*. 2009; **15**(6):960-2.
230. van Veenendaal LM, van Akkooi ACJ, Verhoef C, et al. *Merkel cell carcinoma: Clinical outcome and prognostic factors in 351 patients*. *J Surg Oncol*. 2018; **117**(8):1768-1775.
231. Maruo K, Kayashima KI, Ono T. *Regressing Merkel cell carcinoma--a case showing replacement of tumour cells by foamy cells*. *Br J Dermatol*. 2000; **142**(6):1184-9.
232. Richetta AG, Mancini M, Torroni A, et al. *Total spontaneous regression of advanced merkel cell carcinoma after biopsy: review and a new case*. *Dermatol Surg*. 2008; **34**(6):815-22.
233. Wooff JC, Trites JR, Walsh NM, Bullock MJ. *Complete spontaneous regression of metastatic merkel cell carcinoma: a case report and review of the literature*. *Am J Dermatopathol*. 2010; **32**(6):614-7.
234. Vesely MJ, Murray DJ, Neligan PC, et al. *Complete spontaneous regression in Merkel cell carcinoma*. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2008; **61**(2):165-71.
235. Harms KL, Chubb H, Zhao L, et al. *Increased expression of EZH2 in Merkel cell carcinoma is associated with disease progression and poorer prognosis*. *Hum Pathol*. 2017; **67**:78-84.
236. Miller NJ, Church CD, Dong L, et al. *Tumor-Infiltrating Merkel Cell Polyomavirus-Specific T Cells Are Diverse and Associated with Improved Patient Survival*. *Cancer Immunol Res*. 2017; **5**(2):137-147.

237. Sihto H, Bohling T, Kavola H, et al. *Tumor infiltrating immune cells and outcome of Merkel cell carcinoma: a population-based study*. Clin Cancer Res. 2012; **18**(10):2872-81.
238. Connelly TJ, Kowalcyk AP. *Another case of spontaneous regression of Merkel cell (neuroendocrine) carcinoma*. Dermatol Surg. 1997; **23**(7):588-90.
239. Marcoval J, Valentí-Medina F, Penín RM, Bermejo J. *Complete Spontaneous Regression of the Primary Tumor in Merkel Cell Carcinoma*. Actas Dermosifiliogr. 2018; **109**(8):752-754.
240. Nagase K, Inoue T, Koba S, Narisawa Y. *Case of probable spontaneous regression of Merkel cell carcinoma combined with squamous cell carcinoma without surgical intervention*. J Dermatol. 2018; **45**(7):858-861.
241. Nijjar Y, Bigras G, Tai P, Joseph K. *Spontaneous Regression of Merkel Cell Carcinoma of the Male Breast with Ongoing Immune Response*. Cureus. 2018; **10**(11):e3589.
242. Terui H, Fujimura T, Kakizaki A, Furudate S, Aiba S. *Merkel Cell Carcinoma with Spontaneous Regression: A Case Report and Immunohistochemical Study*. Case Rep Dermatol. 2016; **8**(1):52-8.
243. Walsh NM. *Complete spontaneous regression of Merkel cell carcinoma (1986-2016): a 30 year perspective*. J Cutan Pathol. 2016; **43**(12):1150-1154.