

Diagnóstico de precisão no câncer de pele tipo melanoma

Precision diagnosis of melanoma skin cancer

Gabriela Domingues Clos^a, Rogeria Maria Ventura^b

a: Graduanda do Curso de Biomedicina do Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas - FMU/Brasil

b: Bióloga, Profa. Dra. Docente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas - FMU/Brasil

RESUMO

O câncer de pele tipo melanoma é uma doença silenciosa e intensamente propagativa, que acomete os melanócitos, células presentes em todos os indivíduos com funções interativas sistemicamente. Objetivo: difundir o conhecimento das vias de nascimento e progressão do melanoma. Metodologia: levantamento bibliográfico de bancos de dados públicos abordando o tema estudado. Resultados: foram reunidas informações acerca da formação, classificação, marcadores e diagnóstico molecular do melanoma, bem como possíveis terapias alvo com foco em alterações no gene BRAF, disponíveis atualmente neste tipo de câncer. Conclusões: o melhor prognóstico para essa doença é o diagnóstico precoce, logo é de suma importância que as pessoas tenham o discernimento para consultar um profissional logo nas primeiras alterações na pele. A investigação aprofundada das ocorrências desse câncer abre horizontes para maior especificidade dos exames e possibilitar tratamentos mais assertivos.

Descritores: melanoma, biologia molecular, terapia alvo molecular

ABSTRACT

Melanoma skin cancer is a silent and intensely propagative disease that affects melanocytes, cells present in all individuals with systemically interactive functions. Objective: to spread the knowledge of the routes of birth and progression of melanoma. Methodology: bibliographic survey of public databases addressing the studied theme. Results: information about the formation, classification, markers and molecular diagnosis of melanoma was gathered, as well as possible target therapies focused on BRAF gene alterations, currently available in this type of cancer. Conclusions: the best prognosis for this disease is early diagnosis, so it is of utmost importance that people have the discernment to consult a professional soon after the first changes in the skin. A thorough investigation of the occurrences of this cancer opens horizons for greater specificity of examinations and enable more assertive treatments.

Descriptors: melanoma, molecular biology, molecular targeted therapy

INTRODUÇÃO

O câncer de pele é um dos mais frequentes do Brasil e corresponde a cerca de 30% de todos os tumores malignos registrados. Embora o melanoma represente apenas 3% das neoplasias malignas do órgão, é o tipo mais grave devido à sua alta possibilidade de provocar metástase (disseminação do câncer para outros órgãos). Estima-se que sejam diagnosticados 8.450 novos casos de melanoma (4.200 em homens e 4.250 em mulheres) para cada ano do triênio 2020/2022 no país.^{1,2}

A melanina promove a coloração do cabelo, olhos e pele e é um pigmento molecular responsável pela absorção da radiação visível e ultravioleta, produzida pelos melanócitos, através da melanogênese. Além dessa propriedade, os melanócitos demonstraram interagir intimamente com outros tipos de células da pele, participar de respostas imunes, atuar como sensores de estresse e ter propriedades neuroendócrinas.^{3, 4}

Múltiplas mutações que afetam proto-oncogenes e genes supressores de tumor (TP53, NF1, PTEN etc.), a transformação dos melanócitos em nevos benignos que, em 80% dos casos, abrigam a mutação BRAF v600E, podem induzir melanócitos comuns em células malignas. Esses nevos permanecem silenciosos durante décadas devido à vigilância imunológica, mas a radiação UV pode ser responsável pela presença de mutações em genes, como TERT e CDKN2A, que são capazes de formar nevos malignos.⁵

Esse artigo foi desenvolvido com a finalidade de tornar acessível o conhecimento dos sinais que acompanham o surgimento, evolução, diagnóstico e possíveis tratamentos do câncer de pele tipo melanoma, devido à sua incidência e agressividade serem substanciais no Brasil.

MÉTODO

O presente trabalho de conclusão de curso é uma revisão por levantamento bibliográfico de banco de dados públicos obtidos através de pesquisas nos sites *PUBMED*, *SCIELO* e livros, sendo selecionados artigos entre os anos de 1995 e 2022, publicados em português ou em inglês, abordando assuntos relacionados ao câncer de pele tipo melanoma, suas classificações e diagnósticos, assim como terapias-alvo para essa doença.

DISCUSSÃO

Tipos de melanoma

Cada subtipo de melanoma pode evoluir de diferentes lesões precursoras, e podem envolver diferentes genes, mutações e estágio de transformação, são classificados de acordo com o padrão de crescimento, conforme a figura 1.



Figura 1. A - melanoma extensivo superficial em ombro esquerdo; B - melanoma nodular em região retroauricular esquerda; C - lentigo maligno em região zigomática esquerda; D - melanoma acral em planta direita.⁶

O melanoma extensivo superficial é o mais comum (70% dos casos), ocorrendo principalmente entre os 40 e 50 anos de vida, principalmente no tronco em homens e em extremidades inferiores em mulheres, sugerindo que esta forma clínica esteja associada à exposição solar sazonal. Ocorre sobre um nevo pré-existente e compreende a ter crescimento radial, com comprometimento da derme e metástases mais posteriores.⁷

O melanoma nodular é o subtipo mais comum em pessoas de ascendência africana, asiática e alguns latino-americanos. Isso representa cerca de 5% dos tumores invasivos. As lesões ocorrem preferencialmente na pele escamosa, extremidades e áreas expostas à pressão prolongada, principalmente nos calcanhares.⁸

O melanoma lentigoso acral geralmente ocorre nas palmas das mãos, solas dos pés ou sob a panturrilha e constituem cerca de 2% a 8% de todos os tumores. É menos comum em populações brancas e mais comum entre grupos étnicos pretos e asiáticos.⁹

O melanoma lentigo maligno representa 4-15% dos melanomas cutâneos definidos na literatura mundial e está associado à exposição crônica aos raios UV. Têm incidência crescente com o envelhecimento e sua maior prevalência ocorre em pacientes com mais de 60 anos. A área afetada é principalmente a cabeça e o pescoço justamente por ser esse o local que costuma ficar mais exposto ao sol.⁸

Estádios do melanoma

O sistema de estadiamento tumor-nódulo-metástase (TNM) (tabela 1) é uma importante ferramenta de pesquisa e prática clínica para avaliação de prognóstico de pacientes, atribuição de tratamento e inscrição em estudos, bem como para estudos epidemiológicos e coleta de dados de registros de câncer em todo o mundo.¹⁰

De acordo com o *American Joint Committee on Câncer (AJCC)*, a classificação do estadiamento do melanoma é baseada no sistema TNM, em que T representa as características do cisto primário (espessura, estado de ulceração e número de replicações), N representa o número e a massa tumoral de metástases linfonodais existentes adjacentes ao cisto primário e M o número de metástases internas.¹¹

Estadiamento Clínico Patológico (pTNM) (Figura 2) usa informações tanto do micro estadiamento da lesão primária (com detalhes completos pós-ampliação das margens da mesma) bem como da avaliação histológica dos linfonodos regionais (após biopsia do linfonodo sentinela - BLNS e/ou linfadenectomia regional completa).¹²

ESTADIAMENTO CLÍNICO-PATOLÓGICO (pTNM) 8ª EDIÇÃO AJCC – 2017			
ESTADIO	T	N	M
0	Tis	N0	M0
IA	T1a	N0	M0
IB	T1b ou T2a	N0	M0
IIA	T2b ou T3a	N0	M0
IIB	T3b ou T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0
IIIA	T1a, T1b ou T2a	N1a ou N2a	M0
IIIB	T0	N1b ou N1c	M0
	T1a, T1b ou T2a	N1b/c ou N2b	M0
	T2b ou T3a	N1a–N2b	M0
IIIC	T0	N2b, N2c, N3b ou N3c	M0
	T1a – T3a	N2c ou N3(a,b,c)	M0
	T3b, T4a	Qualquer N ≥ N1	M0
	T4b	N1a–N2c	M0
IIID	T4b	N3 (a,b,c)	M0
IV	Qualquer T	Qualquer N	M1

Figura 2. Descrição do estadiamento clínico patológico (pTNM) do melanoma.¹²

Tabela 1. Classificação descritiva dos estádios de desenvolvimento do melanoma.¹³

T – Tumor	T0	Sem evidência de tumor primário
	T1	≤1,0 mm
	T1a	<0,8 mm sem ulceração
		<0,8 mm com ulceração
	T1b	0,8–1,0 mm, com ou sem ulceração
	T2	>1,0–2,0 mm
	T2a	>1,0–2,0 mm sem ulceração
	T2b	>1,0–2,0 mm com ulceração
	T3	>2,0–4,0 mm
	T3a	>2,0–4,0 mm sem ulceração
	T3b	>2,0–4,0 mm com ulceração
	T4	>4,0 milímetros
	T4a	>4,0 mm sem ulceração
	T4b	>4,0 mm com ulceração
N - Nódulo	N1	1 nódulo envolvido no tumor ou qualquer número de metástases em trânsito, satélite e/ou microssatélite sem nódulos envolvidos no tumor
	N1a	1 nódulo clinicamente oculto (isto é, detectado por biópsia do linfonodo sentinela) 1 nódulo clinicamente detectado Sem doença linfonodal regional
	N2	2 ou 3 nódulos envolvidos no tumor ou qualquer número de metástases em trânsito, satélite e/ou microssatélite com 1 nódulo envolvido no tumor
	N2a	2–3 clinicamente ocultos (ou seja, detectados por biópsia do SLN)
	N2b	
	N2c	2–3, dos quais pelo menos 1 foi clinicamente detectado 1 clinicamente oculto ou clinicamente detectado
	N3	4 ou mais nódulos envolvidos em tumor ou qualquer número de metástases em trânsito, satélite e/ou
N3a		

		microssatélite com 2 ou mais nódulos envolvidos em tumor, ou qualquer número de nódulos emaranhados sem ou com em trânsito, satélite e/ou microssatélite metástases
	N3b	4 ou mais clinicamente ocultos (ou seja, detectados por biópsia do SLN)
	N3c	4 ou mais, pelo menos 1 dos quais foi clinicamente detectado, ou a presença de qualquer número de nós emaranhados 2 ou mais clinicamente ocultos ou clinicamente detectados e/ou presença de qualquer número de nós emaranhados
M – Metástase		
	M0	Sem evidência de metástases à distância
	M1a	Metástase à distância para a pele, tecidos moles, incluindo músculo e/ou linfonodo não regional
	M1a (0)	Com LDH normal
	M1a (1)	Com LDH elevado
	M1b	Metástase à distância para o pulmão com ou sem sítios M1a da doença Com LDH normal Com LDH elevado
	M1B (1)	Metástase à distância para sítios viscerais não SNC com ou sem sítios M1a ou M1b da doença Com LDH normal
	M1c	Com LDH elevado
	M1c (0)	Metástase à distância para o SNC com ou sem locais de doença M1a, M1b ou M1c
	M1c (1)	
	M1d	Com LDH normal Com LDH elevado

Marcadores moleculares do melanoma

A “marca do câncer” (Figura 3) tem sido proposta como um conjunto de funcionalidades celulares adquiridas durante a transição de estados de crescimento normais para tumores. Isso é especialmente importante para sua capacidade de se tornarem malignas.¹⁴ Muitos dos aspectos representados pelas células tumorais são devidos a variações genéticas com possível envolvimento de mutações que amplificam e/ou causam a expressão de oncogenes e mutações de perda de função, deleção e/ou de silenciamento da epigenética dos genes supressores de neoplasia.¹⁵

Há oito características atuais que compreendem as capacidades mutadas para sustentar o câncer, porém no desenvolvimento desta revisão, será descrito sua relação com evitar supressores de crescimento, resistir à morte celular, induzir/acessar a vascularização e ativar a invasão e metástase.

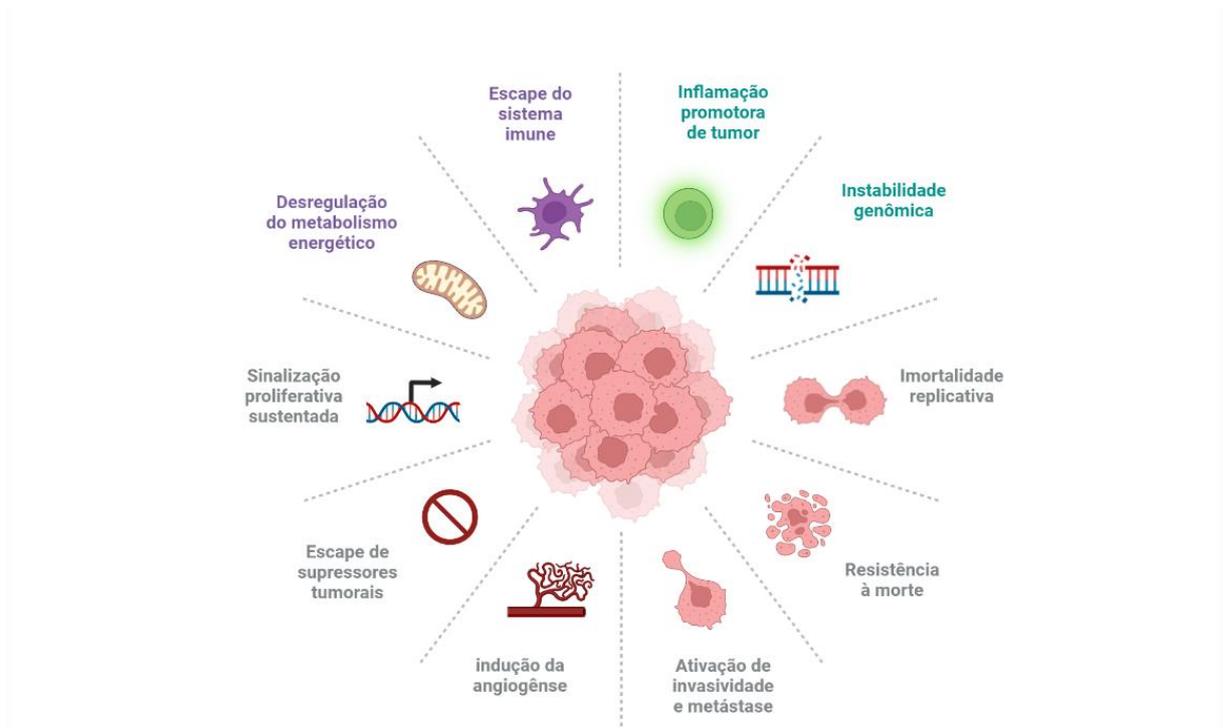


Figura 3. As Marcas do Câncer.¹⁴

O gene supressor tumoral CDKN2A (inibidor de quinase dependente de ciclina 2A), codificador das proteínas p16 e p14ARF, promove a parada do ciclo celular na fase G1-S devido a proteína p16INK4a inibir a formação do complexo ativo CDK-ciclina D, na qual ciclino-dependentes CDK4 e CDK6 se ligam e ocorre a fosforilação da proteína retinoblastoma (pRB).^{16,17} O aumento da proliferação de células tumorais na fase de crescimento vertical do melanoma pode ocorrer devido à perda da expressão da proteína p16.¹⁸

A proteína p53 é capaz de manter uma célula em estado de repouso e de iniciar o processo apoptótico se um defeito no DNA não for reparado em tumores benignos e malignos.¹⁹ Os melanócitos adquirem resistência à apoptose realizada pelo gene TP53 quando são expostos à radiação UV, pois a mesma induz variações nas vias de apoptose p53 dependentes, sendo a UVA capaz de provocar estresse oxidativo e a UVB danos genéticos diretos.²⁰

Um dos genes mais potentes na indução da permeabilidade vascular das células endoteliais é o Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF), operante em condições de baixo oxigênio, mutações no gene p53 e se apresenta positivo em linhagens celulares dos melanomas.^{21,22}

A via da proteína quinase estimulada por mitógeno (MAPK) desempenha um papel importante no desenvolvimento do melanoma por ser altamente regulada e transmitir sinais extracelulares da membrana celular para o núcleo através de eventos de fosforilação RAS–RAF–MEK–ERK (Figura 4). Sua desregularização ocorre comumente devido a mutações ativadoras nos genes BRAF e RAS ou outras modificações genéticas ou epigenéticas, desencadeando o aumento da atividade de sinalização, que se reflete na proliferação celular, invasão, metástase, migração, sobrevivência e angiogênese. Logo sua descoberta abriu horizontes valiosos para o manejo da terapia de melanoma avançado e, mais recentemente, para o estágio III e IV.^{23,24}

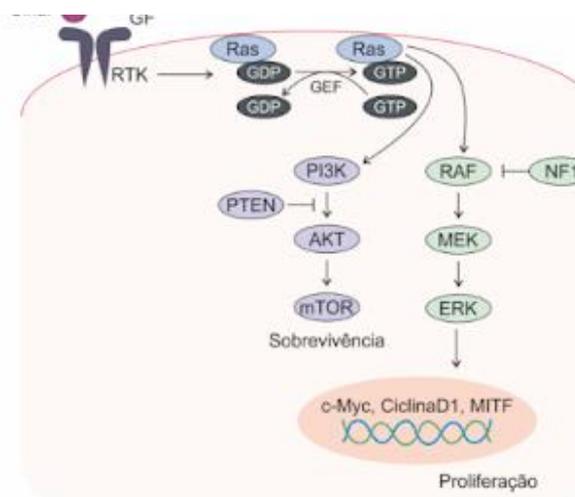


Figura 4. Principais vias de sinalização associadas ao melanoma.¹⁵

As vias PI3K/Akt e MAPK são ativadas por receptores tirosina quinase (RTK) através de sinalização por fatores de crescimento (GF), sendo a primeira associada à capacidade de sobrevivência celular, pois as funções do gene PTEN incluem a quebra dos produtos de PI3K.

Logo, em sua ausência, ocorre acúmulo de lipídeos críticos do segundo mensageiro, que aumentam a fosforilação e a atividade da Akt, assim a perda de PTEN também é responsável pela maior resistência à apoptose, e a segunda referente a proliferação celular. A proteína serina/treonina quinase Raf, em sua forma BRAF v600E, promove a fosforilação de MEK quando possui mutação, causando estímulo para produção exagerada de células tumorais. As células tumorais também são consequência da inativação do supressor tumoral e regulação negativa de quinases dependentes de ciclina, ao aumento da sobrevivência através da modulação de MITF e proteção contra apoptose e à invasão e metástase devido ao remodelamento da matriz extracelular e angiogênese.^{15, 25, 26}

Métodos diagnósticos

O avanço dos métodos diagnósticos e a crescente aplicação de testes moleculares permitem a identificação de anormalidades cada vez mais específicas, além de identificar alterações genômicas e de expressão gênica que são muito úteis para um melhor entendimento da neoplasia.⁸ O sequenciamento de próxima geração (NGS), realizado em tecido de biópsia é o padrão-ouro para detectar mutações BRAF em pacientes diagnosticados com melanoma. Outra alternativa diagnóstica é o emprego na imunohistoquímica.²⁷

Biópsia

O melanoma pode ser diagnosticado com uma biópsia, procedimento em que uma pequena quantidade de tecido é retirada, preservando toda a lesão, sendo a amostra enviada ao laboratório para exame anatomo-patológico.²⁸

É característico do melanoma que ocorram alterações nos nevos, comumente apresentando sinais visíveis, como assimetria, bordas irregulares, coloração heterogênea e evolução na coloração, elevação ou aumento do tamanho da lesão (figura 5).²⁹



Figura 5. Regra do ABCDE. No melanoma as lesões podem apresentar: A: Assimétricas, B: Bordas irregulares, C: Cores múltiplas, D: Diâmetro maior que 6 mm e E: Evolução da lesão.³⁰

Imuno-histoquímica

As técnicas de preparo macroscópico que fixam a secção tecidual em formol e embebem em parafina possibilitam a análise especial de numerosas proteínas, como moléculas de adesão celulares produtos de oncogenes ou genes supressores tumorais e fatores/receptores de crescimento, através de técnicas imuno-histoquímicas que usam anticorpos específicos.³¹

A coloração imuno-histoquímica é amplamente utilizada para distinguir o melanoma de tumores mimetizados em cortes tradicionalmente corados. “Nos melanomas, a S100 está presente no núcleo e no citoplasma e tem sensibilidade de 97 a 100%. A sensibilidade relatada do HMB45 para melanoma varia de 69% a 93% e a expressão é máxima em amostras de melanoma primário (77–100%) e menor em metástases (58–83%). MART-1, Tirosinase e S100 (descritos com alguns dos principais anticorpos utilizados no diagnóstico do melanoma na tabela 2) coram fortemente neoplasias melanocíticas benignas e malignas”.³²

Tabela 2. Anticorpos úteis no diagnóstico de melanomas.³²

Marcador	Sensibilidade/Especificidade	Coloração
S100	Sensibilidade - 97-100%, especificidade 75-87%	Coloração nuclear e citoplasmática. Marcador mais sensível para melanomas de células fusiformes/desmoplásicos.
HMB45	Sensibilidade - 69-93% (77-100% em melanomas primários, 56-83% em melanomas metastáticos)	Coloração citoplasmática. Sensibilidade diminuída no melanoma metastático. Pode ser usado para ajudar a distinguir nevos de melanoma
MART-1/Melan-A	Sensibilidade - 75-92%, especificidade - 95-100%	Coloração mais intensa e difusa que HMB45
Tirosinase	Sensibilidade - 84-94%, especificidade - 97-100%	A sensibilidade diminui com o aumento do estágio clínico e nas lesões metastáticas
MITF	Sensibilidade - 81-100%, especificidade - 88-100%, menor em lesões de células fusiformes	Coloração nuclear – maior facilidade de interpretação, mas cora tumores de muitas outras linhagens

PCR - Reação em Cadeia Polimerase

A PCR pode amplificar uma sequência de DNA milhões ou bilhões de vezes para produzir cópias de DNA suficientes para poder visualizar ou manipular essa região do DNA para análise por outros métodos. Os principais agentes de uma reação PCR são a *Taq polimerase*, primers, DNA molde e nucleotídeos reunidos em um tubo, em conjunto com cofatores que irão potencializar a enzima, e passam por repetidos ciclos de aquecimento e resfriamento que permitem que o DNA seja sintetizado.³³

Sequenciamento Sanger

O método Sanger, também conhecido como método Didesoxi, foi o coração da primeira geração de sequenciadores. Baseia-se no uso de enzimas *DNA polimerase* para sintetizar fitas de DNA de diferentes comprimentos. Neste método, uma fita de DNA serve como molde para a fita a partir da qual a sequência deve ser descoberta.³⁴

Os métodos baseados em sequenciamento têm a capacidade de detectar uma grande variedade de mutações BRAF. O sequenciamento de Sanger, considerado o padrão-ouro para avaliação clínica, pode detectar toda a gama de mutações BRAF, porém possui sensibilidade limitada a aproximadamente 15%.³⁵

NGS - Sequenciamento de Nova Geração

O sequenciamento de nova geração (NGS) na biópsia pode ajudar a diagnosticar, monitorar e personalizar o tratamento do câncer, descobrindo o perfil gênico dos tumores em tempo real. Ao contrário de outros métodos analíticos que se concentram na detecção de genes únicos (comparação na Figura 6), o NGS pode analisar vários genes ou todo o genoma do câncer para investigar o perfil molecular de um tumor. Este é o único método que pode analisar de forma abrangente vários biomarcadores simultaneamente, tornando-se uma ferramenta clínica muito útil.^{36,37}

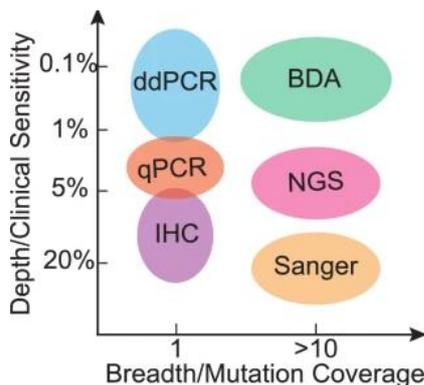


Figura 6. Métodos para detecção de mutações BRAF. Comparação da profundidade e amplitude dos métodos de detecção de mutação BRAF disponíveis. O BDA é realizado pela primeira vez em qPCR e os amplicons são subsequentemente sequenciados por Sanger para identificar a mutação específica.³⁵

Tratamento por terapia alvo

O principal objetivo do tratamento do melanoma metastático é aumentar a sobrevida do paciente, levando em consideração o equilíbrio entre o controle dos sintomas da doença e o aparecimento de eventos adversos do tratamento. Nos últimos anos, dado o benefício clínico restringido da quimioterapia com dacarbazina, drogas com diferentes mecanismos de ação têm sido investigadas e utilizadas, como terapias-alvo (inibidores de BRAF e inibidores de MEK).³⁸

Terapia-alvo são drogas ou outras substâncias que interferem em moléculas que atuam no crescimento, progressão e disseminação neoplásica de forma mais específica, com menor impacto nas funções das células saudáveis, por mérito das descobertas sobre as funções das vias de sinalização gênica.^{39,40}

Inibidores de BRAF e MEK

As terapias direcionadas ao BRAF v600E têm uma alta capacidade de interrupção a evolução de tumores malignos, atrasando o crescimento e prevenindo a angiogênese, reduzindo a invasão e metástase, estimulando a morte de células tumorais ou promovendo o reconhecimento tumoral.⁴¹

O primeiro inibidor seletivo do BRAF mutante v600 foi o vemurafenibe, na comparação do ensaio randomizado de fase III BRIM3 com quimioterapia com dacarbazina, a taxa de resposta objetiva (ORR) pelos critérios RECIST foi de 48% versus 5%, e a sobrevida livre de progressão (PFS) mediana foi de 5,3 meses versus 1,6 meses, um acompanhamento clínico não observado anteriormente em melanoma metastático. O próximo inibidor desenvolvido foi

o dabrafenibe mostrando benefício muito semelhante ao vemurafenibe quando comparado com dacarbazina.⁴²

O trametinibe foi o primeiro inibidor de MEK a obter aprovação regulatória para uso como agente único, medicamento atuante na mesma via de sinalização no interior das células que o gene BRAF e seletivo para o mesmo (v600E). Possui atuação para tratamento de melanomas avançados ou que não podem ser removidos com cirurgia.^{39,43}

Em comparação com a inibição de BRAF de agente único, a combinação de agentes de inibição de BRAF e MEK em conjunto retardou a resistência e diminuiu o aparecimento de lesões hiperproliferativas cutâneas em modelos pré-clínicos. “A sobrevida livre de progressão mediana foi de 9,4 meses com terapia combinada versus 5,8 meses com dabrafenibe sozinho (razão de risco para progressão ou morte no grupo dabrafenibe-trametinibe) e a taxa de resposta correspondente foi de 76% versus 54%”.⁴⁴

O dabrafenibe e o trametinibe não integram a Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) 2020 e não fazem parte de nenhum programa de medicamentos da Assistência Farmacêutica no SUS estruturado pelo Ministério da Saúde. A um custo anual individual de R\$513.854,04, o uso de combinação dabrafenibe + trametinibe não foi considerado custo-efetivo quando analisado pela CONITEC.³⁸

Inibidor de angiogênese – VEGF

A angiogênese atua no crescimento sustentado do tumor e na progressão em forma de metástases, pois facilita a invasão de células neoplásicas na circulação sistêmica, atuando em diversos fatores de vias de transdução de sinalizações celulares. O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) é o mais importante e representante dessa classe.²¹

É possível manter o tumor em estado de dormência na ausência de angiogênese, pois o aporte de oxigênio e nutrientes para as células tumorais com tamanho superior a 2-3 mm³ fica geralmente comprometido. Este processo é possível devido ao equilíbrio entre o número de células do interior que entram em apoptose por falta de nutrientes e o número de células que continuam a proliferar nas camadas mais externas do tumor. O próprio tumor estimula a criação de novos vasos sanguíneos que o envolvem e permitem a difusão de gases e nutrientes a todas as células que o constituem para continuar seu crescimento.⁴⁵

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O câncer de pele tipo melanoma é habilidoso em se camuflar com variadas formas e cores, possui diversas formas de acometimento e atinge outros órgãos de forma silenciosa, dificultando o diagnóstico precoce e correto. Faz se necessário a atenção por parte de cada indivíduo e assiduidade nas consultas médicas com periodicidade para investigação mesmo da mínima alteração cutânea. Os avanços na detecção, classificação e conhecimento das vias para terapia alvo desse câncer tem sido valiosos para o tratamento do mesmo, tornando mais próximo o alcance da cura.

REFERÊNCIAS

1. Câncer de pele melanoma. Instituto Nacional de Câncer (INCA), 2022. Disponível em <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-pele-melanoma>
2. Whiteman, DC, Green, AC, Olsen, CM. A crescente carga de melanoma invasivo: projeções de taxas de incidência e números de novos casos em seis populações suscetíveis até 2031. *The Journal of Investigative Dermatology* . 2016; 136 (6): 1161-1171. doi: 10.1016/j.jid.2016.01.035.
3. Martins, SIR. Melanoma maligno e radiação solar. Faculdade de medicina da universidade de Coimbra. Abril, 2011.
4. Gelmi MC, Houtzagers LE, Strub T, Krossa I, Jager MJ. MITF in Normal Melanocytes, Cutaneous and Uveal Melanoma: A Delicate Balance. *Int J Mol Sci*. 2022 May 26;23(11):6001. doi: 10.3390/ijms23116001. PMID: 35682684; PMCID: PMC9181002.
5. Leonardi GC, Falzone L, Salemi R, Zanghì A, Spandidos DA, Mccubrey JA, Candido S, Libra M. Cutaneous melanoma: From pathogenesis to therapy (Review). *Int J Oncol*. 2018 Apr;52(4):1071-1080. doi: 10.3892/ijo.2018.4287. Epub 2018 Feb 27. PMID: 29532857; PMCID: PMC5843392.
6. Figura 1 - Vazquez, VL. Atlas de Câncer de Pele. Biblioteca da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, São Paulo, 2019.
7. Dinamatos, DC; Duarte, FO; Machado, RS; Vieira, VJ; Vasconcellos, ZA; Bins-Ely, J et al. Melanoma Cutâneo no Brasil. *Arquivos Catarinenses de Medicina - Volume 38 - Suplemento 01 – 2009*
8. Neves, PLA. Melanoma cutâneo: aspectos histológicos e clínicos dos casos diagnosticados no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais no período de 1995 a 2017. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. Belo Horizonte, 2018.
9. Phan A, Touzet S, Dalle S, Ronger-Savlé S, Balme B, Thomas L. Acral lentiginous melanoma: a clinicoprognostic study of 126 cases. *Br J Dermatol*. 2006 Sep;155(3):561-9. doi: 10.1111/j.1365-2133.2006.07368.x. PMID: 16911282.
10. Ogata D, Namikawa K, Takahashi A, Yamazaki N. A review of the AJCC melanoma staging system in the TNM classification (eighth edition). *Jpn J Clin Oncol*. 2021 Apr 30;51(5):671-674. doi: 10.1093/jco/hyab022. PMID: 33709104.
11. Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, Thompson JF, Atkins MB, yrd DR, et al. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J Clin Oncol*. 2009

12.Figura 2 - Paschoal, F. Novas definições e comentários referentes ao estadiamento proposto na 8a edição da AJCC de 2017. Grupo brasileiro de melanoma (GBM). Ano XIX, No 76, janeiro, fevereiro e março de 2017

13.Tabela 1 - Gershenwald JE; Scolyer AR Hess KR, et ai. Estadiamento do melanoma: mudanças baseadas em evidências no manual de estadiamento do câncer da oitava edição do comitê conjunto americano de câncer. CA Câncer J Clin 2017

14.Figura 3 - Talib WH, Daoud S, Mahmood AI, Hamed RA, Awajan D, Abuarab SF et al. Plants as a Source of Anticancer Agents: From Bench to Bedside. *Molecules* 2022, 27, 4818. <https://doi.org/10.3390/molecules27154818>.

15.Figura 4 - Lopes BA, Ortelan AG, Faria AVS, Ferreira-Halder CV. Linhagens de células de melanoma: Mutações e impacto em vias de transdução de sinal. Universidade Estadual de Campinas. Braz. J. Hea. Rev., Curitiba, v. 3, n. 4, p. 10859-10884 jul./aug.. 2020. DOI:10.34119/bjhrv3n4-291

16.Motokawa T, Kato T, Hashimoto Y, Katagiri T. Effect of Val92Met and Arg163Gln variants of the MC1R gene on freckles and solar lentigines in japanese. *Pigment Cell Research*, La Jolla, .20, p.140-143, 2007.

17.Sviderskaya EV, Gray-Schopfer, VC, Hill SP. p16/cyclin dependent kinase inhibitor 2A deficiency in human melanocyte senescence, apoptosis, and immortalization: possible implications for melanoma progression. *Journal of National Cancer Institute*, Bethesda; 95, p. 723-732; 2003.

18.Straume O, Smeds J, Kumar R, Hemminki K, Akslen LA. Significant impact of promoter hypermethylation and the540 C>T polymorphism of CDKN2A in cutaneous mela-noma of the vertical growth phase. *Am J Phatol*, 2002

19.Figueiredo LC, Cordeiro LN, Arruda AP, Carvalho MDF, Ribeiro EM, Coutinho HDM. Câncer de pele: estudo dos principais marcadores moleculares do melanoma cutâneo. Revisão de Literatura Câncer de pele, 2003

20.Silva AB, Paixão CS, Anjos LRB dos, Reis AAS, Santos RS. Câncer de pele: descrição de marcadores moleculares para prognóstico e diagnóstico do melanoma cutâneo. Universidade Federal de Goiás (UFG), 2017.

21.Trindade, FMM. Inibição da Angiogênese em Tumores Sólidos: Aplicação dos Lipossomas Catiônicos. Universidade do Algarve, 2013.

Mangini J, Li N, Bhawan J. Immunohistochemical markers of melanocytic lesions: a review of their diagnostic usefulness. *Am J Dermatopathol* 2002;24(3):270-81.

22.Inamdar GS, Madhunapantula SV, Robertson GP. Targeting the MAPK pathway in melanoma: why some approaches succeed and other fail. *Biochem Pharmacol*. 2010 Sep 1;80(5):624-37. doi: 10.1016/j.bcp.2010.04.029.

23.Ottaviano, M., Giunta, EF, Tortora, M., Curvietto, M., Attademo, L., Bosso, D et al. On Behalf Of Scito Youth (2021). Gene BRAF e Melanoma: De Volta para o Futuro. *Revista Internacional de Ciências Moleculares*, 22 (7), 3474. <https://doi.org/10.3390/ijms22073474>

24.Jill M. Stahl, Mitchell Cheung, Arati Sharma, Nishit R. Trivedi, Sumathi Shanmugam, Gavin P. Robertson; Perda de PTEN Promove o Desenvolvimento de Tumores em Melanoma Maligno ¹. *Câncer Res* 1 de junho de 2003; 63 (11): 2881-2890.

25.Fecher, Leslie A; Amaravadi, Ravi K; Flaherty, Keith T A via MAPK no melanoma, *Opinião Atual em Oncologia*: março de 2008 - Volume 20 - Edição 2 - p 183-189 doi: 10.1097/CCO.0b013e3282f5271c

26.Behera TR, Song JM, Ko J, Eicher D, Arbesman J, Gastman B, Farkas DH, Funchain P. Circulating Tumor DNA Testing Supports Rapid Therapeutic Decision-Making in Metastatic Melanoma: A Case

Report. *Front Oncol.* 2022 Jun 10;12:846187. doi: 10.3389/fonc.2022.846187. PMID: 35756682; PMCID: PMC9231430.

27. Instituto Oncoguia. A Voz do Paciente com Câncer. São Paulo, 2015. Disponível em: <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/instituto-oncoguia/10/13/>

28. Dummer R, Hauschild A, Lindenblatt N, Pentheroudakis G, Keilholz U. Cutaneous melanoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2015

29. Clínica Pietro Luna. Cirurgia Plástica e Bem-estar Site da internet. 2010. Disponível em: <http://www.clinicaprietoluna.com.br/cirurgias/cancer-de-pele>

30. Figura 5 - Tahara E. Genetic alteration in human gastrointestinal cancers: the application to molecular diagnosis. *Cancer*, 1995

31. Ohsie SJ, Sarantopoulos GP, Cochran AJ, Binder SW. Immunohistochemical characteristics of melanoma. *J Cutan Pathol.* 2008 May;35(5):433-44. doi: 10.1111/j.1600-0560.2007.00891.x. PMID: 18399807.

32. Tabela 2 - A Reação em Cadeia da Polimerase - Avançado. Casa da Fundação CK-12. Disponível em: <https://www.ck12.org/book/ck-12-biology-advanced-concepts/section/9.3/>

33. Lage, FSD; Brito, F. Sequenciamento de primeira geração: método de Sanger. In: Mariano, DCB (org.) et al. *BIOINFO - Revista Brasileira de Bioinformática e Biologia Computacional*. 1. Ed. Vol. 1. Lagoa Santa: Editora Alfahelix, 2021. DOI: 10.51780/978-6-599-275326

34. Cheng LY, Haydu LE, Song P, Nie J, Tetzlaff MT, Kwong LN, Gershenwald JE, Davies MA, Zhang DY. High sensitivity sanger sequencing detection of BRAF mutations in metastatic melanoma FFPE tissue specimens. *Sci Rep.* 2021 Apr 27;11(1):9043. doi: 10.1038/s41598-021-88391-5. PMID: 33907234; PMCID: PMC8079675.

35. Figura 6 - Olbryt M, Rajczykowski M, Bal W, Fiszer-Kierzkowska A, Cortez AJ, Mazur M, Suwiński R, Widłak W. NGS Analysis of Liquid Biopsy (LB) and Formalin-Fixed Paraffin-Embedded (FFPE) Melanoma Samples Using OncoPrint™ Pan-Cancer Cell-Free Assay. *Genes (Basel)*. 2021 Jul 16;12(7):1080. doi: 10.3390/genes12071080. PMID: 34356096; PMCID: PMC8303399.

36. Papadopoulos, E. et al. Clinical feasibility of NGS liquid biopsy analysis in NSCLC patients. *PLoS ONE*, v. 14, n. 12, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226853>.

37. Tribunal de Justiça do Estado do Ceará. Nota Técnica Número 534. 15ª Vara da Fazenda Pública. Ceará, 2021. Disponível em: <https://www.tjce.jus.br/wp-content/uploads/2021/02/dabrafenibetafinlar-e-trametinibemekinist-para-paciente-com-melanoma-com-mutacao-braf-metastatico.pdf>

38. Lopes, Jéssica Dayane. Principais avanços no tratamento do melanoma cutâneo: Imunoterapia e terapia alvo. Universidade de Uberaba, MG, 2018.

39. Silva, SDC. Análise da expressão das proteínas KRAS, BRAF e MEK da via de sinalização intracelular mitogen activated protein kinases (MAPK) no carcinoma hepatocelular associado a hepatopatia crônica de diferentes etiologias. Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto, Universidade Federal de Minas Gerais, 2018.

40. Dhomen N, Marais R. BRAF sinalização e terapias direcionadas em melanoma. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2009; 23 :529-45. ix.

41. Luke, J., Flaherty, K., Ribas, A. et al. Agentes direcionados e imunoterapias: otimizando os resultados no melanoma. *Nat Rev Clin Oncol* 14, 463-482 (2017). <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.43>

42. Flaherty, KT et al. Sobrevivência melhorada com inibição de MEK em melanoma com mutação BRAF. *N. Engl. J. Med.* 367, 107-114 (2012)

43. Long GV, Stroyakovskiy D, Gogas H, Levchenko E, de Braud F, Larkin J, Garbe C et al. Combined BRAF and MEK inhibition versus BRAF inhibition alone in melanoma. *N Engl J Med*. 2014 Nov 13;371(20):1877-88. doi: 10.1056/NEJMoa1406037. Epub 2014 Sep 29. PMID: 25265492.

44. Folkman, J. (2002). Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. *Seminars in oncology*, 29 (6 Suppl 16), 15–8.

CONTATO:

Gabriela Domingues Clos: gabrieladominguesclos@gmail.com