UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE – UFCSPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

Mariele Bevilaqua

Avaliação do infiltrado linfocitário peritumoral em melanomas cutâneos *in situ* e em melanomas cutâneos invasivos finos com e sem metástases

Porto Alegre
2019

Mariele Bevilaqua

Avaliação do infiltrado linfocitário peritumoral em melanomas cutâneos *in situ* e em melanomas cutâneos invasivos finos com e sem metástases

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Mestre

Orientador: Dr. Renan Rangel Bonamigo
Co-orientadora: Prof.Dra. Adriana Vial Roehe

Porto Alegre
2019

Catalogação na Publicação

Bevilaqua, Mariele
Avaliação do infiltrado linfocitário peritumoral em melanomas cutâneos in situ e em melanomas cutâneos invasivos finos com e sem metástases / Mariele Bevilaqua. -- 2019.
78 p. : 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Patologia, 2019.

Orientador(a): Renan Rangel Bonamigo ; coorientador(a): Adriana Vial Roehe.

1. Melanoma. 2. Melanomas cutâneos finos. 3. Infiltrado linfocitário. 4. Infiltrado linfocitário peritumoral. I. Título.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar força e saúde para encarar todas as etapas deste processo.

À minha família, por me proporcionar boas condições de educação e formação, em especial minha prima Liane Rotta, por ser referência científica.

Aos pacientes que me ensinam todos os dias.

Aos funcionários dos laboratórios de Patologia da UFCSPA, Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre e do Hospital São Lucas da PUC-RS.

Ao professor Mário Wagner e a Cristiane Bundchen pela colaboração na estatística do trabalho.

À Maria Carolina Rey pela generosidade em dividir ensinamentos do trabalho-fonte.

Aos colegas colaboradores Dr. Felice Riccardi, Drª. Cristina Fortes, Drª. Thais Grazziotin, Dr. Jefferson Oliveira, Drª. Helena Andrade, pela generosidade em compartilhar os seus casos.

À Profª. Drª Adriana Roehe pela disponibilidade em me ensinar a ler o infiltrado linfocitário.

E, ao Prof. Dr. Renan R. Bonamigo por ser minha inspiração e exemplo; por todos ensinamentos, oportunidades e paciência em encarar este desafio comigo.

RESUMO

Introdução: O êxito metastático no melanoma cutâneo requer uma série patogênica sequencial ordenada; o infiltrado linfocitário tumoral (ILT) pode exercer papel protetivo contra essa sequência, mas não há unanimidade quanto ao tema. Nos melanomas cutâneos primários *in situ* (MC*is*) e nos melanomas cutâneos primários finos (MCPf), o embasamento científico disponível é ainda mais incipiente. **Objetivos:** Verificar e quantificar a presença do ILT peritumoral (ILT-p) em MC*is* e MCPf e investigar a relação do ILT-p com a presença de metástases nos MCPf. **Material e Métodos:** Foram estudados 73 pacientes, sendo 23 com MC*is* e 50 com MCPf. Destes, 22 casos (pacientes com metástases) e 28 controles (pacientes sem metástases), onde se verificou a presença do ILT-p e, quando presente, classificado em leve, moderado e marcado. Variáveis clínicas e histopatológicas foram descritas em ambos os grupos. No grupo dos MCPf, houve a comparação do ILT-p e das variáveis clínicas e histopatológicas entre casos e controles. **Resultados:** No grupo dos MC*is* (N=22), não houve diferença entre os sexos; a média de idade foi de 57,4 anos; o fototipo II foi o predominante e a maioria dos melanomas se localizava nos membros (54,5%). O principal subtipo histológico encontrado foi o espalhamento superficial (95,5%); a fase de crescimento predominante foi a horizontal (86,4%) e o ILT-p predominante foi o leve, em 59,1% dos indivíduos. Dentre o grupo dos MCPf, a média de idade foi de 50,7 anos nos casos e 56,2 anos nos controles (p=0,234); predomínio do sexo masculino nos casos (63,6%) e do feminino nos controles (53,6%), (p=0,354); o fototipo predominante foi o II em casos e controles (p=0,113) e tronco foi identificado como a principal topografia em ambos os grupos (p=0.187); sendo o espalhamento superficial o principal subtipo de melanoma (86,4% dos casos e 92,9% nos controles, p=0,499); a mediana de Breslow foi de 0.8 mm nos casos e 0.6 mm nos controles (p=0.012). A ulceração foi evidenciada em 22,7% dos casos e em 17,9% dos controles (p=0,732) e a regressão foi encontrada em 45% dos casos e 28,6% dos controles (p=0,386) A fase de crescimento vertical foi a predominantemente encontrada em 80% dos casos e 50% dos controles (p=0.012).Especificamente, ILT-p “moderado e marcado” foi encontrado em 54,5% dos casos e em 67,9% dos controles (p=0,503). Na análise univariada, a presença do ILT-p “moderado

e marcado” apresentou OR=0.57 e, na análise multivariada, com ajustes para para idade, índice de Breslow e fase de crescimento, OR= 0.69. Apesar do efeito protetor verificado em ambas as análises, não houve significância estatística (p>0.05). **Conclusões:** Nesta amostra todos os MC*is* e MCPf apresentaram algum grau de ILT-p. Verificou-se, entre os MCPf, possível tendência a um efeito protetor do ILT-p “moderado a marcado” para o surgimento de metástases.

Palavras-chave: Melanoma. Metástases. Infiltrado linfocitário peritumoral. Prognóstico. Biomarcadores

ABSTRACT

Introduction: Successful metastasis in cutaneous melanoma requires an ordered pathogenic sequence; it is possible that tumor-infiltrating lymphocytes (TIL) may act as protectors against this sequence, but the subject is still a matter of debate. For *in situ* primary cutaneous melanoma (*is*PCM) and thin primary cutaneous melanoma (tPCM), scientific support is even scarcer. **Objectives:** To verify and quantify the presence of peritumoral TIL (p-TIL) in *is*PCM and tPCM and to investigate the relation between p-TIL and the presence of metastases in tPCM. **Materials and Methods:** The cases of 73 patients were investigated: 23 of them with *is*PCM and 50 with tPCM; of those, 22 were case cases (patients with metastases) and 28 were control patients (with no metastases). The presence of p-TIL was verified and when present, cases were classified scanty, moderated or marked. Clinical and histopathological variables were described. Within the tPCM group, p-TIL and clinical and histopathological variables for the control and the case group were compared. **Results:** In the *is*PCM group (N=22) there was no difference between sexes; the mean age in the group was 57,4; phototype II was predominant and most melanomas were located on the limbs (54.5%). The main histological subtype found was superficial spreading (95.5%); the predominant growth phase was horizontal (86.4%) and the predominant p-TIL was scanty, in 59.1% of participants. Within the tPCM group, the mean age was 50.7 for the case studies and 56.2 years for the control group (p=0.234); males were more predominant among case participants (63.6%) and females among control participants (53.6%), p=0.354; the predominant phototype was II for cases and controls (p=0.113); the trunk was identified as the main topography in both groups (p=0.187); superficial spreading was the main melanoma subtype (86.4% of cases and 92.9% of controls, p=0.499); mean Breslow index was 0.8 mm for cases and 0.6 mm for controls (p=0.012). Ulceration was found in 22.7% of cases and in 17.9% of controls (p=0.732); regression was found in 45% of cases and in 28.6% of controls (p=0.386). Vertical growth phase was predominantly found in 80% of cases and 50% of controls(p=0.012). Moderate and marked p-TIL was found in 54.5% of cases and in 67.9% of controls (p=0.503). In univariate analysis, the presence of moderate and marked p-TIL presented OR=0.57; in multivariate analysis, adjusted for age, Breslow index and growth phase, it was OR= 0.69. Despite the protective effect found in both analyses, there was no statistical significance (p>0.05). **Conclusion:** In this sample, all *is*PCM and tPCM presented some degree of p-TIL. Among the tPCM group, a possible trend towards a protective effect of marked to moderate p-TIL

against the emergence of metastases was found.

Keywords: Melanoma. Metastases. Tumor-infiltrating lymphocytes. Prognosis. Biomarkers.

LISTA DE ABREVIATURAS

AJCC: American Joint Committee on Cancer

INCA: Instituto Nacional do Câncer

ILT: Infiltrado linfocitário tumoral

ILT-p: Infiltrado linfocíticoperi-tumoral

H-E: Hematoxina–Eosina

MCP: Melanoma Cutâneo Primário

MCP*is:* Melanoma Cutâneo Primário *in situ*

M*is*: Melanoma *in situ*

MCPf: Melanoma Cutâneo Primário fino

EUA: Estados Unidos da América

EU: União Européia

UVA: Radiação ultravioleta tipo A

UVB: Radiação ultravioleta tipo B

LS: Linfonodo sentinela

NCCN: The National Comprehensive Cancer Network®

MHC: complexo principal de histocompatibilidade

MHC-I: complexo principal de histocompatibilidade classe I

MHC-II: complexo principal de histocompatibilidade classe II

LTCs: linfócitos T citotóxicos

APCs: células apresentadoras de antígenos

Th: células T-helper

TCR: receptor de células T

TCA: terapia celular adaptativa

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

QUADROS

Quadro 1: Sistemas de graduação do ILT e relação com melanoma.....30

Quadro 2: Estudos com ILT e relação com linfonodo sentinela em melanoma 32

FIGURAS

Figura 1: Infiltrado linfocitário peri-tumoral(ILT-p):leve….....70
Figura 2: Infiltrado linfocitário peri-tumoral(ILT-p): moderado….....70
Figura 3: Infiltradolinfocitárioperi-tumoral(ILTp): marcado.....71

SUMÁRIO

1 REFERENCIAL TEÓRICO 13
1.1 INTRODUÇÃO AO TEMA: O MELANOMA CUTÂNEO PRIMÁRIO… 13
1.2 EPIDEMIOLOGIA DO MELANOMA 14
1.3 ASPECTOS CLÍNICOS DO MELANOMA 18
1.4 ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS DO MELANOMA 20
1.4.1 Melanomas cutâneos *in situ.* 20
1.4.2 Melanomas cutâneos primários finos - microinvasores 21
1.4.3 Subtipos clínico-histopatológicos de melanoma 21
1.5 MANEJO DO MELANOMA 24
1.6 FATORES PROGNÓSTICOS DO MELANOMA 26
1.6.1 Infiltrado linfocitário tumoral (ILT) e peri-tumoral (ILT-p) 27
1.7 METÁSTASES DE MELANOMA 34
1.7.1 Processo metastático do melanoma 34
1.7.2 ILT no melanoma metastático 36

2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 39

3 OBJETIVOS 45
3.1 OBJETIVO GERAL 45
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS. 45

4 ARTIGOS CIENTÍFICOS 46
4.1 ARTIGO 1 - ARTIGO ORIGINAL… 46
4.2 ARTIGO 2 - LETTER TO THE EDITOR… 62

5 CONCLUSÕES 67

6 BIOGRAFIA 68

7 APÊNDICES 69
7.1 FICHA DE COLETA CLÍNICA 69
7.2 ORIGEM DAS LÂMINAS DO ESTUDO… 70
7.3 FIGURAS… 71

8 ANEXOS 72
8.1 PARECERES DO COMITÊ DE ÉTICA EMPESQUISA (CEP). 72
8.1.1 Parecer do estudo-fonte 72
8.1.2 Parecer deste estudo 74
8.2 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO..... 77
8.3 NORMAS DA REVISTA…..78

1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1. INTRODUÇÃO AO TEMA: MELANOMA CUTÂNEO PRIMÁRIO

O melanoma cutâneo primário (MCP) é o câncer de pele mais letal (Gray-Schopfer *et al.*, 2007), correspondendo a cerca de 90% das mortes causadas por tumores cutâneos (Garbe *et al*., 2016). Ele não é uma neoplasia exclusivamente cutânea, apesar de 95% dos casos ocorrerem na pele: acomete também outros sítios como os olhos, as mucosas, o trato gastrointestinal e o geniturinário, as leptomeninges e os linfonodos (Markovic *et al.*, 2007; Garbe *et al*., 2016). Esta patologia é definida como qualquer lesão primária de melanoma em paciente não portador de lesão clínica ou histológica, ou de doença metastática regional ou à distância, independente da espessura tumoral (Sober *et al*., 2001).

É possível que o diagnóstico precoce do MCP seja facilitado pelas campanhas educacionais desenvolvidas para melhorar a detecção dessa neoplasia (Bonfá e*t al.*, 2011); outra possível causa desse fenômeno é o aumento do número de médicos especialistas em dermatologia. O subdiagnóstico desse tipo de câncer no passado se deve também, em parte, ao não encaminhamento dos materiais excisados à histopatologia, em concordância com as práticas de descarte então vigentes. No entanto, apesar do diagnóstico precoce predominante na atualidade, cerca de 15% das mortes por melanoma decorrem de melanomas cutâneos primários finos (MCPf). MCPf são aqueles que possuem espessura (índice) de Breslow igual ou inferior a um milímetro (Gimotty *et al.*, 2007).

O prognóstico dos MCPf é melhor, quando comparado ao dos pacientes com melanomas de espessuras maiores; porém, há um subgrupo de pacientes com MCPf que apresenta sobrevida baixa em 10 anos (sexo masculino, com lesõesulceradas,nívelIII/IVdeClarkeíndice mitótico maior ou igual a 1)(Gimotty *et al.*, 2007). Muitos detalhes do comportamento biológico e da apresentação histopatológica dos MCPf que metastatizam, todavia, não são conhecidos, o que justifica o interesse pelo tema.

1.2 EPIDEMIOLOGIA DO MELANOMA

A incidência, bem como os índices de mortalidade do melanoma cutâneo,

variam no decorrer do mundo de acordo com a possibilidade de sua detecção precoce a nível primário de saúde (Schadendorf *et al.,* 2017).

A incidência do melanoma está em aumento no mundo (Garbe *et al.*,2016). Ao redor do globo, cerca de 232.000 (1,7%) casos anuais de todos os cânceres malignos primários diagnosticados (excluindo câncer de pele não melanoma) são de melanoma cutâneo e cerca de 55.500 mortes anuais por câncer (0,7% de todas as mortes por câncer) são devidas a este tumor (Agência Internacional para Pesquisa em Câncer, 2014).

A incidência global de melanoma em 2015 foi de 351,880 casos (IC 95% 281633-445036)comcercade5casospor100.000pessoas (padronizado para a idade) (IC 95% 4-7) e o melanoma correspondeu a 1.596.262 dias vividos com deficiência (DVD) (95%IC 1.293 447-1.982.679), com 23 DVD ajustados para a idade por 100.000 habitantes (95% IC 18-28). Também foi responsável por 59.782 mortes (95% IC 47.602 – 72.671) no mundo, com taxa de morte corrigida para idade de 1/100 000 pessoas (IC 95% 0.7-1) segundo estudo americano que fez levantamento sobre o peso global desta doença, por meio de vários estudos epidemiológicos (Karimkhani *et al*., 2017).

Para 2012, foram estimados 232.130 novos casos de melanoma, representando uma taxa de incidência de 3,3 por 100 mil habitantes no mundo. Essa incidência faz do melanoma o 19º câncer mais frequente. Entre os homens, foram 120.649 casos novos de MCP (3,4/100 mil), ocupando a 15ª posição e 111.481 casos novos de MCP (3,2/100 mil) em mulheres, sendo a 16ª neoplasia mais frequente entre todos os cânceres nestas (Bray *et al*., 2017).

As maiores taxas de incidência mundiais encontram-se em países como Austrália e Nova Zelândia, onde há predominância da cor de pele mais clara (INCA, 2018; Karimkhani *et al*., 2017).

As taxas de incidência e mortalidade do MCP são muito diferentes para cada país/continente. Em 2012, foi estimada incidência de 0,2 casos por 100.000 habitantes na África do Sul e de 7,7 casos por 100.000 habitantes nas Américas. As incidências mais altas foram na Nova Zelândia (35,8 casos por 100.000 habitantes/ano) e na Austrália (34,9 casos por 100.000 habitantes/ano), seguidas de 13,8 casos por 100.000 habitantes/ano nos Estados Unidos da América (EUA) e 10,2 casos por 100.000 habitantes/ano na União Européia (UE)

(Bray *et al.*, 2018).

Em 2017, a percentagem estimada de mortes por melanoma entre todos os cânceres de pele (excluindo carcinoma basocelular e carcinoma escamoso), nos EUA foi de 72% (Bray *et al.*, 2018).

A sobrevida relativa padronizada para a idade em 5 anos na Europa variou de 74,3% (Europa Oriental) a 87,7% (norte da Europa). A sobrevida foi maior na Irlanda do Norte (90,7%) e na Suíça (90,4%); foi menor na Bulgária (49,6%) e na Polônia (61,5%). A sobrevida relativa diminuiu com a idade dos pacientes e foi maior nas mulheres que nos homens (Bray *et al.*, 2018).

As estatísticas desta neoplasia são subestimadas já que a maioria dos pacientes com tumores *in situ* ou superficiais são tratados em nível ambulatorial sem serem notificados ou contabilizados nos cálculos oficiais (Trotter *et al.*, 2013); Fong e Tanabe *et al.*, 2014), incluindo no Brasil. Além disso, embora o aumento da incidência possa ser atribuído, em parte, à ampliação dos programas de triagem do melanoma, o avanço mais nítido da incidência desse tumor ocorreu entre os indivíduos com baixo nível socioeconômico, os quais têm menor acesso aos programas de triagem. Esse fato sugere que o aumento das taxas de incidência da doença não corresponde somente a um artefato da triagem (Mayer e*t al*., 2014). Em contribuição a isso, pode-se dizer que os novos métodos diagnósticos aumentaram a frequência do diagnóstico precoce do melanoma cutâneo. Os adventos da dermatoscopia e da microscopia confocal, métodos muito importantes para detectar melanomas em fases iniciais, também reduziram o número de lesões benignas excisadas sem necessidade, causando impacto no manejo socioeconômico do câncer de pele (Alarcon *et al.*, 2014).

No Brasil, segundo o Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), foram estimados para o ano de 2018, 2.920 novos casos de melanoma em homens e 3.340 casos novos em mulheres. A região Sul do país apresenta as maiores taxas estimadas de incidência do melanoma cutâneo, em ambos os sexos: 1040 casos/100000 habitantes (homens) e 960 casos/100000 habitantes (mulheres) (INCA, 2018).

As populações dos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina, quando comparadas com as de outros estados, são as com maiores riscos para o desenvolvimento desta neoplasia (Bonfá *et al*., 2011). Essas regiões do Brasil

possuem uma elevada proporção de indivíduos de pele/cabelos/olhos claros, altas taxas de radiação ultravioleta do tipo A (UVA) em meses de calor e hábito de exposição solar intensa durante o verão (Bonfá *et al*.,2011).

Recentemente houve na Europa um aumento significativo na incidência de melanoma em indivíduos com mais de 60 anos de idade, principalmente entre os homens. Na verdade, em muitas áreas desse continente, a incidência continua a aumentar em todas as idades (Garbe *et al*., 2016). No Brasil, particularmente em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Bonfá *et al.* encontraram, em 2011, 57% dos pacientes com melanoma cutâneo do gênero feminino e a idade média dos acometidos era de 55,6 anos.

Embora represente cerca de apenas 3 a 5% dos novos casos de câncer de pele por ano, o melanoma é responsável por 65% das mortes por câncer cutâneo nos Estados Unidos da América (EUA) (Fong e Tanabe *et al.,* 2014; Wick *et al.*, 2016) e por até 90% dos óbitos na Europa (Garbe *et al.*, 2016); a situação provavelmente é a mesma no Brasil (Castro e*t al.*, 2015). Sendo assim, o melanoma cutâneo representa a forma mais grave e letal de tumor da pele (Castro *et al.*, 2015; Garbe *et al.*, 2016).

Entretanto, concomitantemente com o aumento da incidência, e não obstante seu potencial de elevada letalidade, verifica-se melhoria na sobrevida dos pacientes com melanoma, principalmente devido a sua detecção precoce (Bonfá *et al.*, 2011). Nos EUA, a sobrevida relativa em 5 anos (sem categorizar por idade) é de 92%. No MCP sem envolvimento linfonodal, a sobrevidarelativa atinge 98% no estágio I e 90% no estágio II (Schadendorf *et al.*, 2018). No estágio III, a sobrevida livre de doença em 5 anos é dependente da carga tumoral nodal (Soyer *et al.*, 1987).

Historicamente, pacientes com doença à distância possuíam sobrevida em longo prazo menor que 10%. No entanto, mesmo estando no estágio IV, alguns pacientes possuem curso clínico mais indolente, biologicamente distinto dos pacientes com doença avançada. Atualmente, com os avanços da terapêutica para tais pacientes, a expectativa para períodos extensos de remissão a longo prazo são maiores (Coit *et al.,* 2016).

Os fatores de risco para o desenvolvimento de neoplasias são subdivididos em genéticos e ambientais, com interação entre os dois grupos

(MacKie *et al.*, 2009). O risco de surgimento do melanoma cutâneo foi atribuído à exposição à radiação ultravioleta tipo A (UVA) e ultravioleta tipo B (UVB), devido ao dano causado nos ácidos nucleicos dos melanócitos cutâneos (Wick *et al.*, 2016). Este fator externo é considerado o mais importante para o desenvolvimento desse tumor, especialmente quando a exposição solar é intermitente (Garbe *et al.*, 2016).

Devido a características geográficas e culturais, os brasileiros estão entre os indivíduos com maior frequência de exposição solar (Schalka *et al.*, 2014). Ao que se sabe, o risco do desenvolvimento dessa moléstia é também relacionado:

a) às atividades ocupacionais e exposição prévia a pesticidas (MacKie *et al.*, 2009), incluindo exposição residencial (doméstica) a pesticidas (Segatto *et al.*, 2015);
b) à história de bronzeamento artificial, além de exposição crônica ao sol ou intensa (Bolognia *et al*., 2012);
c) à idade do paciente. Os mais jovens são o grupo de maior suscetibilidade (maioria dos estudos epidemiológicos ainda apontam faixa etária mais tardia), pois costumam se expor ao sol excessivamente (Bolognia *et a.l*, 2012);
d) aos portadores de imunossupressão, como pacientes transplantados (Fong e Tanabe *et al.,* 2014);
e) aos portadores de doenças que causem dificuldade no reparo ao DNA celular como o Xeroderma pigmentoso (Bolognia *et al.*, 2012);
f) ao grau endógeno de pigmentação da pele, presença de cabelos claros ou ruivos, presença de efélides e incapacidade de bronzear (Bolognia *et al*., 2012);
g) a um excessivo número de nevos considerados comuns (Garbe *et al.,* 2016);
h) às famílias com síndrome do nevo atípico (ou displásico), indivíduos com nevo melanocítico congênito gigante, história pessoal de melanoma prévio (Wick *et al.,* 2016) e história familiar de melanoma (Bolognia *et al*., 2012);
i) ao perfil congênito / genético / familiar. Nos últimos anos, avanços

> significativos ocorreram na identificação genética de mutações condutoras aos tumores melanocíticos. Mutações BRAF, NRAS e TP53 são as mais prevalentes no melanoma (Shain *et al.*, 2015), mas as mudanças genéticas chave são também identificadas nos genes CDKN2A, KIT, GNAQ e GNA11 (Alexandrov *et al.,* 2013). A frequência da mutação nesses genes varia de forma pessoal e de acordo com características histopatológicas dos tumores, revelando um padrão mutacional complexo que poderia ser avaliado para predizer metástases (Schadendorf e*t al.*,2018).

Aproximadamente 5-10% dos melanomas são familiares. Para preencher critério de melanoma familiar, é necessária a presença de 2parentes de primeiro grau ou 3 ou mais familiares do mesmo lado da família (independente do grau de parentesco) afetados (Gandini *et al*.,2005).

Nestes casos, o padrão de herança é autossômico dominante com penetrância incompleta. A susceptibilidade germinativa tem sido associada com mutações em gene de alta penetrância, como o CDKN2A e menos frequentemente, com os genes CDK4, BAP1, TERT e POT1, ou com variantes nos genes de risco intermediário, como o MC1R e MITF (Goldstein *et al.*, 2004; Aoude *et al*., 2014).

Além disso, o fenótipo típico do paciente com melanoma - como características caucasianas: pele clara, cabelo loiro ou ruivo e olhos azuis - demonstra que genes de alta prevalência e baixa penetrância podem interagir com fatores ambientais, especialmente com a exposição solar, favorecendo o desenvolvimento da neoplasia (MacKie *et al*., 2009).

1.3 ASPECTOS CLÍNICOS DO MELANOMA

O MCP costuma ser clinicamente uma lesão pigmentada, com cores irregulares e formato que também pode ser irregular. Porém, pode apresentar-se como lesão amelanótica (com pouco ou nenhum pigmento) (Garbe *et al.,* 2016).

Na anamnese do paciente, é importante pesquisar a existência de fatores de risco para a neoplasia. O exame físico deve ser completo e minucioso de toda

a pele do corpo (Fong e Tanabe *et al.*,2014).

O achado visual da lesão ainda é o método mais eficiente para diagnóstico do melanoma cutâneo, principalmente se complementado com uma biópsia (Wick *et al.*, 2016). A sensibilidade do diagnóstico clínico do melanoma por um dermatologista experiente é difícil de ser determinada, mas é estimada em 70% (Garbe *et al.,* 2016). O método mnemônico “ABCDE” auxilia na identificação dessas lesões. Nesse método, A corresponde à assimetria, B a bordas irregulares, C a cores variadas, D a diâmetro maior do que 6 mm e E à evolução com aumento progressivo da lesão (Garbe *et al.,* 2016); Wick *et al.*, 2016).

O diagnóstico clínico de melanoma feito pelo dermatologista é baseado em três análises (Garbe *et al.*, 2016): a) análise visual, utilizando o ABCDE; b) análise comparativa das lesões do próprio paciente, buscando a lesão que não se parece com as demais; c) análise cronológica de alterações, identificando lesões que apresentam mudanças recentes em tamanho ou aspecto (letra E da regra do ABCDE). Além disso, a dermatoscopia é outro método não invasivo que auxilia no diagnóstico do melanoma, por permitir observação *in vivo* de lesões pigmentadas (Wick *et al.*, 2016; Soyer *et al.,*1987; Rigel *et al.,*1997). Esse exame consiste na análise de lesões cutâneas, melanocíticas ou não,portransiluminação, permitindo observar estruturas e cores da epiderme, junção dermoepidérmica e derme superficial, não visíveis a olho nu. Os achados dermatoscópicos correlacionam-se a características histológicas, sendo usados para avaliar se a lesão é maligna ou benigna e se é indicada a exérese cirúrgica da mesma.

A sensibilidade do diagnóstico do MCP através do dermatoscópio é de 90%. A efetividade do uso dessa técnica depende do treinamento formal e da experiência do examinador (Castro *et al.*, 2015). A avaliação dermatoscópica, através de seus critérios, é especialmente útil na identificação de melanomas amelanóticos (sem pigmento), variante da neoplasia com maior risco de desenvolvimento em pessoas de pele clara e cabelos loiros ou ruivos (Wick *et al.*, 2016).

Um estudo que avaliou a presença de mitoses, relacionando-a com a dermatoscopia, evidenciou dois critérios em pacientes com MCPf (sendo que o número de mitoses é um fator de piora do prognóstico): a presença de estrias

periféricas e a coloração enegrecida da lesão (Ribero *et al.*, 2017).

A dermatoscopia digital com fotografias de todo o corpo dos indivíduos (mapas corporais) é utilizada no seguimento de pacientes de alto risco de desenvolvimento de melanoma - como os pacientes com múltiplos nevos e, em especial, os pacientes com síndrome do nevo atípico. Esse exame possui altas taxas de acurácia no diagnóstico de melanoma (Garbe *et al.,* 2016; Wick *et al.*, 2016).

Uma biópsia excisional deve ser realizada quando da visualização de uma lesão com a possibilidade de ser um melanoma. Outros procedimentos, como biópsia por *shaving, punch* ou incisional não devem ser as primeiras escolhas, pois dificultam a aparência histológica da lesão, sendo realizados como exceção (Wick *et al.*, 2016). A margem da biópsia excisional deve ser de 1 a 3 mm. Devem ser evitadas margens amplas no momento da biópsia excisional, pois essa conduta pode comprometer negativamente a biópsia do linfonodo sentinela (LS) (Fong e Tanabe *et al.*, 2014).

1.4 ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS DO MELANOMA

O diagnóstico histopatológico do melanoma envolve, preferencialmente, análise de dois dermatopatologistas experientes (NCCN, 2018). Melanomas iniciais podem ser subdivididos em duas categorias:

1.4.1 Melanomas cutâneos primários *in situ* (MCP*is*)

A incidência do melanoma em geral vem aumentando bruscamente nas últimas três décadas e a percentagem de melanomas *in situ* é responsável em grande parte por esse aumento (Higgins et al., 2015). De acordo com a American Joint Committee on Cancer (AJCC), MCP*is* é definido como melanoma limitado à epiderme. Lentigo maligno é um subtipo de MCP*is* e é definido, histologicamente, quando os melanócitos atípicos estão presentes na camada basal sobre área de elastose solar (AJCC, 2017).

Esta categoria de melanoma é considerada estágio O e não está

diretamente associada a mortalidade (AJCC, 2017). No entanto, pode estar associada ao risco de desenvolver outros tumores primários secundariamente (Wasberg *et al.,* 1999; Mocellin *et al*., 2011).

Os melanomas invasores são aqueles considerados quando os melanócitos atípicos invadem a derme.

1.4.2 Melanomas cutâneos primários finos (MCPf) - microinvasores

Dermatopatologistas são cada vez mais confrontados com lesões melanocíticas finas e já é bem estabelecido que o número de melanomas finos vem aumentando nas últimas 2-3 décadas (Mihic-Probst *et al*., 2016).

Estes melanomas são classificados em estágio pT1 com profundidade <1mm. Estudos recentes indicam que aproximadamente 70% dos melanomas são classificados como finos. Algumas explicações para o fato buscam fatores causais como aumento na exposição solar, maior número de registro de casos, diagnóstico “desviado”, aumento no rastreio ao câncer e de biópsias de lesões pigmentares (Frangos *et al*., 2012).

Apesar do excelente prognóstico dos MCPf, 20% estão associados a metástases e 5% são fatais (Faries *et al*., 2010). Tendo em vista o aumento donúmero de diagnóstico de MCPf e a não desprezível mortalidade, existe uma necessidade de se identificar qual subgrupo dentro desta categoria apresentará pior desfecho.

1.4.3 Subtipos Clínico-Histopatológicos de Melanoma Cutâneo

Os subtipos clássicos de melanoma são identificados por critérios clínicos e histopatológicos, sendo os quatro principais (Garbe *et al.,* 2016; Wick *et al.*, 2016):

a) melanoma de espalhamento superficial ou extensivo superficial: é o subtipo mais comum. Inicia com uma fase de crescimento intraepidérmico horizontal ou radial, aparecendo primeiramente como

uma mácula que lentamente evolui a uma placa, usualmente com múltiplas cores e áreas pálidas correspondendo à regressão. Em sua evolução, áreas nodulares podem se desenvolver. Histologicamente, apresenta um componente epidérmico lateral com espalhamento pagetóide de melanócitos claramente malignos através da epiderme (Garbe *et al.,* 2016; Wick *et al.*, 2016);

b) melanoma nodular: É um tumor primariamente nodular, exofítico, castanho-enegrecido, frequentemente erosado ou com presença de sangramento. É caracterizado por uma fase de crescimento vertical agressiva, com crescimento horizontal mínimo ou ausente. Assim, a identificação precoce no estágio intraepidérmico é praticamente impossível (Garbe *et al.,* 2016). Esse subtipo é de uma neoplasia que entra na fase de crescimento vertical *ab initio* (desde o início) (Wick *et al.*, 2016);
c) lentigo maligno melanoma: É um tumor que se desenvolve lentamente, ao longo de muitos anos, a partir da lesão de lentigo maligno (melanoma *in situ*) localizada predominantemente na face fotodanificada de indivíduos idosos. Na histopatologia, vê-se uma proliferação lentiginosa de melanócitos atípicos na junçãodermoepidérmica, além de achados de elastose solar (Garbe *et al.,* 2016);
d) melanoma acral lentiginoso: É o que corre em região palmoplantar ou subungueal. Na fase inicial, intraepidérmica, demonstra pigmentação irregular pouco circunscrita. No avançar do desenvolvimento da lesão, apresenta regiões nodulares que refletem o padrão de crescimento invasivo (Garbe *et al.,*2016).

Além dessas variantes existem outras mais raras, como o melanoma desmoplásico, o amelanótico e o polipóide, que representam menos de 5% de todos os casos (Garbe *et al.,* 2016):

e) melanoma desmoplásico: é a variante que pode apresentar características clínicas e histopatológicas enganosas. Apresenta-se

como pápula, nódulo ou placa firme, localizada em áreas fotoexpostas de indivíduos mais velhos; quase sempre é uma lesão sem pigmento. Na histopatologia, vê-se a proliferação de células fusiformes na derme em um estroma esclerótico (Wick *et al.*, 2016);

f) melanoma nevóide: citologicamente se apresenta como um nevo (Wick e*t al.*, 2016). Na histopatologia, imita um nevo em exame de pequeno aumento. A visão em grande aumento, no entanto, evidencia pleomorfismo leve, maturação sutilmente alterada e a presença nítida de múltiplas figuras mitóticas. O diagnóstico desse subtipo requer um alto grau de suspeita. É frequentemente diagnosticado em retrospectiva.

Ainda sobre outros padrões histológicos infrequentes do melanoma, as variantes amelanóticas incluem pequenas-células, células claras (ou tipo “balloon”), sarcomatóides, células em anel de sinete, rabdóides, mixóides e outras (Wick *et al.*, 2016). Também é observado melanoma nodal na ausência de evidência clara de melanoma primário (Garbe *et al*., 2016).

O melanoma é considerado um mimetizador histológico, em especial nas suas variantes amelanóticas, configurando-se em diagnóstico diferencial com várias outras lesões cutâneas (Wick *et al.*, 2016). O laudo do exame histopatológico deve conter as seguintes informações (Garbe *et al.*, 2016; NCCN, 2019):

a) diagnóstico e tipo clínico-patológico da lesão;

b) espessura tumoral em milímetros (mm) – profundidade ou índice de Breslow;

c) presença ou ausência de ulceração;

d) número de mitoses por milímetro quadrado (mm²), em *hotspots* (pontos quentes, ou áreas com maior concentração de mitoses);

e) microsatelitose (ninhos de células tumorais (> 0,05 mm de diâmetro) localizados na derme reticular, hipoderme ou vasos,

separados do componente invasivo do tumor por ≥ 0,3 mm de tecido normal), se presente;

f) margens excisionais laterais e profunda.

Ainda, podem ser fornecidas as seguintes informações adicionais (Garbe*et al.,* 2016):

a) fase de crescimento horizontal ou vertical;

b) presença ou ausência de regressão;

c) presença ou ausência de infiltrado tumoral;

d) embolia linfática e neurotropismo;

e) envolvimento vascular ou perineural.

Em alguns casos, quando o diagnóstico histológico não puder ser definido com clareza, a técnica de imuno-histoquímica pode auxiliar na elucidação da análise (proteína S-100, HMB45 e melan-A para confirmação da natureza melanocítica da lesão; HMB45 identificando malignidade e MIB-1 como um marcador de proliferação) (Garbe *et al.,* 2016).

1.5 MANEJO DO MELANOMA

Para o manejo do melanoma consideram-se os seguintes tratamentos:

a) tratamento cirúrgico: o tratamento primário adequado para o melanoma cutâneo é a excisão cirúrgica da lesão suspeita (Fong e Tanabe, *et al.,* 2014); Garbe *et al.,* 2016). Após a biópsia, preferencialmente excisional, o tratamento cirúrgico definitivo deve ser realizado com margens de segurança, entre 4 e 6 semanas após o diagnóstico. As margens variam de 0,5 cm até 2 cm, dependendo da espessura do tumor primário (índice de

Breslow) (Garbe *et al.,* 2016);

b) outros tratamentos: os outros tratamentos são descritos usualmente em pacientes com doença metastática, comoradioterapia, terapia adjuvante, imunoterapia com interferon, e terapias sistêmicas como a imunoterapia (ipilimumab, nivolumab, pembrolizumab) e a terapia-alvo, (vemurafenib e outras) (Fong e Tanabe, *et al.,* 2014; Garbe *et al.,* 2016);

c) acompanhamento: a frequência e a extensão dos exames de acompanhamento do paciente com melanoma dependem dos achados do tumor primário. Os primeiros cinco anos de seguimento após a cirurgia são cruciais, pois 90% das metástases ocorrem durante esse período (Garbe *et al.,* 2016). Por outro lado, o melanoma também pode apresentar metástases tardias, sendo, por isso, relevante manter o acompanhamento médico especializado após cinco anos do diagnóstico da neoplasia (Garbe *et al.,* 2016). Além disso, pacientes que já tiveram um melanoma apresentam um risco aumentado de desenvolvimento de um segundo melanoma primário, em torno de 10%. Por isso, torna-se muito importante o acompanhamento médico regular (Garbe *et al.*, 2016). No seguimento desses pacientes, os objetivos são:

- identificar uma possível recorrência do tumor ou a progressão da doença o mais precocemente possível;
- diagnosticar melanomas primários adicionais no paciente;
- oferecer suporte psicossocial;
- fornecer educação em prevenção da doença para os pacientes e seus familiares de primeiro grau;
- fornecer educação sobre auto exame da pele para

promover identificação precoce do tumor;

- administrar e monitorar o tratamento adjuvante, quando indicado (Garbe *et al.,* 2016).

1.6 FATORES PROGNÓSTICOS DO MELANOMA

A maioria (70%) dos novos casos diagnosticados de MCP envolve lesões finas com até um milímetro de espessura (Rubinstein *et al.,* 2016) e cerca de 90% dos melanomas são diagnosticados como tumores primários sem evidência de metástases. A sobrevida em 10 anos, nesses casos, está entre 75 e 85% (Garbe *et al.,* 2016). No entanto, mesmo tumores pequenos e finos podem metastatizar e, assim, apresentar um prognóstico relativamente desfavorável (Elder e*t al.,* 2011; Garbe *et al.,* 2016); um subgrupo dos pacientes com melanoma fino apresentará recorrência da doença e o desenvolvimento de metástases. Rubinstein *et al.,* em 2016 e Gimotty *et al.,* em 2007, evidenciaram que 15% das mortes por melanoma resultam de metástases relacionadas a lesões finas.

Determinar o prognóstico dos pacientes com melanoma cutâneo foi enigmático por muitos anos, até Wallace Clark e colaboradores, em 1989, fazerem uma avaliação sistemática desse tópico, na década de 1960. Com base em seus estudos, Clark construiu um sistema de microestadiamento que relaciona a profundidade microscópica do tumor às estruturas da epiderme e da derme (Clark *et al*., 1969). Dessa forma, ele estabeleceu uma relação direta entre a espessura de um melanoma e a sobrevida. Esse sistema de microestadiamento está dividido em (Wick *et al.,* 2016):

a) nível I de Clark: lesão está confinada à epiderme e seus anexos (melanoma *in situ*);
b) nível II de Clark: lesão está limitada à derme papilar;
c) nível III de Clark: lesão está na transição entre derme papilar e reticular;

d) nível IV de Clark: lesão atinge a derme reticular;

e) nível V: corresponde à invasão tumoral do panículo adiposo.

Até recentemente, os fatores histológicos considerados mais importantes para o prognóstico dos MCP eram a espessura vertical do tumor (índice de Breslow), a presença de ulceração histologicamente reconhecida e o número de mitoses/mm² (AJCC, 2009).

Em 2017, o Comitê Americano sobre Câncer, AJCC (American Joint Committee on Cancer), aboliu o uso do índice mitótico e passou a determinar o prognóstico do tumor primário baseado apenas na espessura de Breslow e na presença ou não de ulceração (8ª edição do Manual de Estadiamento da AJCC) (Keung *et al.,* 2018). O prognóstico também piora com o aumento da idade do paciente e a piora prevalece nos indivíduos do sexo masculino quando comparados aos do sexo feminino e nas topografias de tronco, cabeça e pescoço quando comparadas às dos membros (Garbe *et al.,*2016).

Para garantir maior sobrevida dos pacientes com melanoma cutâneo fino, a determinação de índices que possam melhor predizer o risco de metástase continua sendo de grande interesse. No entanto, estudos sobre fatores de prognóstico no melanoma fino costumam ser inerentemente associados a erros de amostragem, devido à incidência intensamente baixa de micrometástases (Wat e Salopek *et al.,* 2017).

1.6.1 Infiltrado linfocitário tumoral (ILT) e peri-tumoral (ILT-p)

Os biomarcadores do melanoma descritos na literatura podem ser classificados em marcadores de diagnóstico (para diferenciar nevos de melanomas), marcadores de prognóstico (para adicionar informações prognósticas a partir do tumor primário), marcadores de progressão tumoral (como os derivados da excisão de linfonodos) e marcadores preditivos (designados à predição de resposta a terapias-alvo) (Moore *et al.*, 2012).

O prognóstico do paciente com diagnóstico de melanoma cutâneo é atualmente baseado em critérios histopatológicos do tumor (espessura de Breslow, índice mitótico e ulceração) e em aspectos clínicos (localização do

tumor, idade e sexo do paciente). Apesar dos esforços dos histopatologistas para estadiar corretamente a lesão, melanomas morfologicamente semelhantes apresentam comportamentos diferentes. Essa imprevisibilidade dificulta o estabelecimento de um prognóstico correto para o paciente e levou ao estudo de marcadores teciduais que possam aumentar a acurácia da determinação do prognóstico dos doentes (Moore e*t al.*, 2012).

A observação de linfócitos e células mononucleares associadas ao câncer humano foi registrada pela primeira vez há mais de um século e esses linfócitos eram considerados causadores do tumor (Mihm *et al.,* 2015). Atualmente, é reconhecido que os tumores contêm números variáveis de linfócitos, denominados linfócitos infiltrantes de tumor. Wallace Clark, em 1969, aplicou o termo "infiltração de linfócitos ao tumor" a essas células imunes implantadas como parte da resposta do hospedeiro ao câncer (Lee *et al.,* 2016).

No melanoma cutâneo, acredita-se que a intensidade deste infiltrado linfocítico correlaciona-se com o seu desfecho. No entanto, não há consenso sobre a aplicabilidade dessa descoberta a todos os melanomas. Muitas investigações têm sido feitas com o intuito de classificar e correlacionar o infiltrado linfocitário tumoral (ILT) à estrutura do receptor de antígenos e à do antígeno ao qual células T específicas de melanoma reagem. No entanto, a imunofenotipagem do ILT não foi realizada na maior parte desses estudos e dados recentes revelam que a composição de linfócitos tumorais não é homogênea, mas que representa diferentes contribuições de muitos subtipos linfocitários.

Para serem considerados como ILT, os linfócitos devem estar emcontato direto com o tumor e/ou infiltrar os ninhos tumorais. No melanoma, Clark e Mihm relataram que as células do ILT são recrutadas na fase de crescimento radial e levam à regressão parcial do tumor primário.Consistentecom esses achados, os estudos *in vitro* de Hersey demonstraram a atividade citolítica desses linfócitos contra tumores autólogos em pacientes com melanoma (Lee *et al.,* 2016).

O ILT é considerado uma importante variável de prognóstico e pode ser classificada como "Brisk", "Nonbrisk" ou "Absent". A categoria "Brisk" – "intenso", implica em linfócitos presentes em toda a fase de crescimento vertical do tumor, estendendo-se através de sua base. "Nonbrisk" –"leve", traduz-se por infiltração

focal apenas e “Absent”- “ausente” inclui duas categorias: nenhum linfócito no todo ou linfócitos presentes mas não infiltram o melanoma (Calonje *et al*., 2005).

ILT “Brisk” tende a aparecer em melanomas finos enquanto a ausência de linfócitos costuma ser o achado em melanomas espessos (Calonje *et al.,* 2005).

A função do ILT é frequentemente comprometida em decorrência do acúmulo de células imunológicas com vários mecanismos de escape de tumores. Essas recentes descobertas evidenciam a necessidade da coleta de mais dados sobre a composição e função do ILT antes que possam ser tiradas conclusões definitivas sobre o significado prognóstico do mesmo. Avanços em imunologia também têm facilitado o desenvolvimento de estratégias imunoterapêuticas, como a terapia guiada com bloqueadores contra CTLA-4, agentes imunoterapêuticos prototípicos (Oble *et al.,* 2009).

A presença do ILT está correlacionada com a melhor sobrevida no melanoma cutâneo (Fortes *et al.,* 2015), mas não se sabe se essa relação se mantém para os melanomas cutâneos finos. Nos quadros 1 e 2 são demonstrados estudos que evidenciam a relação do ILT com melanoma cutâneo.

Larsen *et al.*, em 1979, evidenciaram aumento na sobrevida nos pacientes com ILT denso, em estudo retrospectivo com 669 pacientes em estágio clínico I, além de uma relação altamente significativa entre ILT denso e crescimento superficial do tumor, ao contrário de um ILT não denso, associado a invasão vertical do tumor. Em seguida, em 1989, Clark *et al.*, em análise multivariada de 394 pacientes, demonstraram que a intensidade do ILT se correlaciona com a sobrevida livre de doença e sobrevida geral, apenas comcrescimento vertical tumoral, sendo 88,5% nos pacientes com ILT intenso, 75% nos pacientes com ILT leve e 59,3% nos pacientes com ILT ausente, comp<0.0005 e acurácia de 89%. Mansson-Brahme *et al*., em 1994, avaliando pacientes em estágio I (Breslow<= 0,8mm), na busca por preditores de prognóstico em melanomas finos, encontraram em análise univariada e multivariada de Cox, que uma reação leve ou ausente fez o risco relativo de recorrência aumentar quasequatrovezes. Neste estudo, o grau de reação inflamatória foi um indicador de prognósticosignificante.

De forma semelhante, Clemente *et al*., em 1996, encontraram uma sobrevida em 10 anos de 100% nos pacientes com ILT denso, comparada a 77%

naqueles com' ILT não denso e 45% nos pacientes com ILT ausente e 60% para ILT intenso X 50% ILT leve e 30% ILT ausente, em pacientes com Breslow menor que 2 mm, em um grupo de 285 pacientes (análise multivariada com modelo de regressão de Cox, ajustes para Breslow, com p=0,0001), sendo fator prognóstico independente. Em 2002, Tuthill *et al.* estudando 259 pacientes, encontraram sobrevida de 100% em 5 anos em pacientes com ILT intenso e 93% em 10 anos, com p=0,005, em análise multivariada com regressão de Cox, sendo o fator prognóstico mais estatisticamente significativo dentre todos os demais fatores estudados.

No entanto, alguns estudos não revelam uma associação significativa entre o ILT e as taxas de sobrevida em melanoma (Thorn *et al.,* 1994; Barnhill *et al.,* 1996; Burton *et al.,* 2011). Isso pode se dever à inclusão de melanomas finos na fase de crescimento radial, durante a qual há pouco suporte para se considerar a importância do ILT como preditor de desfechos, ou à errônea classificação de linfócitos encontrados na vizinhança do tumor como ILT (Barnhill *et al.,* 1996).

Em 2012, o Melanoma Institute, em análise prospectiva de 1865 pacientes, mostrou uma relação inversa entre o grau do ILT com o nível de Clark, número de mitoses e Linfonodo Sentinela (LS), com p=0,001, havendo maior positividade no LS quanto menor a intensidade do ILT. Em 2013, Thomas *et al.,* associaram um ILT intenso e leve a estágios clínicos mais iniciais conforme classificação da AJCC, comparado ao ILT ausente(p<0,001),além de mortalidade menor no ILT intenso (50%) *vs.* leve (30%) *vs.* ausente, com OR= 0.5 (IC 0.3-0.9), com ajustes para idade, sexo e localização.

Quanto ao LS, mais pesquisadores encontraram relação com o ILT. Azimi *et al.,* em 2012, estudando 1865 pacientes, revelaram relação inversa entre o grau de positividade do S e o grau do ILT (grau 0: 27,8%; grau 1: 20,1%; grau 2: 18,3% e grau 3: 5,6%, com p<0.001). Um estudo multicêntrico conduzido pelo Grupo Brasileiro de Melanoma (Duprat *et al.,* 2016) mostrou que um ILT ausente foi fator de risco independente para LS positivo (OR: 1.8; 95% IC: 1.1–3.0).

Em estudo recente (2019), Santos *et al*. encontraram que a presença de ILT moderado a marcado reduz risco no envolvimento do LS, com OR=0.2 (95% CI: 0.02–0.72 e p=0,014), em amostra de pacientes comMCPf.

Quadro 1 - Sistemas de graduação do ILT e sua relação com melanoma (continua)

Autor/Ano	**Larsen *et al.* (1979)**	**Clark *et al.* (1989)**	**Mansson-Brahm *et al.* (1994)**	**Barmhill *et al.*(1996)**	**Clemente *et al.* (1996)**
Amostra	669	394	585	548	285
Desenho	Longitudinal retrospectivo	Longitudinal	Longitudinal	Longitudinal	Longitudinal
Breslow (mm) /Estágio	Estágio I	Estágio I	Estágio I	Clarck I-V	Estágio I e II
Classificação do ILT	Denso Leve	Ausente Leve Intenso	Ausente/Leve Moderado/Intenso Infiltrativo e Não infiltrativo	Ausente Presente	Intenso: periférico e difuso Leve Ausente
Desfecho	Relação do ILT com variáveis: invasão, subtipo, sexo,idade, atipia, índicemitótico	Sobrevida	Recorrência	Sobrevida	Sobrevida em 5 e 10 anos
Resultado	Associação de ILT denso com invasão tumoral superficial e leve com profunda. Melanomas nodulares com denso infiltrado tiveram pior prognóstico comparados a outros subtipos.	TIL intenso é preditor de sobrevida (p<0,0015)	Ausente: maior recorrência OR= 3 (IC= 1.3-10) (p=0.02) Menos recorrência nos infiltrativos OR=1.1(IC=0.3-4 p=0,93)	Ausência de ILT relaciona-se a sobrevida, com p não significativo (p=0,22). Porém, 5 casos com ILT marcado com sobrevida de 100%.	Sobrevida em 5 e 10 anos Em 10 anos: 100% TIL intenso (subgrupo com Breslow<2mm) X 77% TIL leve X 45% TIL ausente (45%) Ajuste para Breslow, p=0,0001

Fonte: elaborado pela autora

Quadro 1 - Sistemas de graduação do ILT e sua relação com melanoma (continuação)

Autor/Ano	**Tuthill *et al.*(2002)**	**Burton *et al.*(2011)**	**Azimi *et al.* (2012)**	**Thomas *et al.* (2013)**	**Fortes *et al.* (2015)**
Amostra	259	515	1865	2845	4133
Desenho	Coorte Retrospectivo	Prospectivo, randomizado	Prospectivo	Coorte	Coorte
Breslow (mm) /Estágio	>=0,76	>=1	>=0,75	>=0,1	>0.01
Classificação do ILT	Intenso Leve Ausente	Intenso Leve	0 = ausente 1 = focal fraco ou moderado ou multifocal fraco 2 =focal marcado ou difuso fraco 3=difuso marcado ou moderado	Ausente Leve Intenso	Leve Moderado Marcado
Desfecho	Sobrevida	Sobrevida Livre de doença (SLD) e sobrevida global (SG)	LS; Sobrevida livre de recorrência; Mortalidade por melanoma	Sobrevida	Sobrevida LS
Resultado	ITLT intenso: 100% sobrevida em 5 anos e 93% em 10 anos. (p<0,005)	ILT leve: (univariada) Mais Linfonodo-Sentinela +; (17.6% X 7%; p= 0,0087) Menor SLD; (86% X 91% p=0,41) Menor SG: 84% X 85% p= 0,0083) Porém, multivariada: ILT como preditor para LS+, mas não para SLD e SG	Relação inversa grau ILT com: Nível de Clark, mitoses, Breslow e (LS) (p<0,001); ILT preditor independente de mortalidade	ILT intenso e Leve foi mais associado a estágios menores, comparando ao ausente (p<0,001); Mortalidade foi menor no ILT intenso *Vs.* Leve *Vs.* Ausente (50% e 30%)	TIL leve teve mais LS + (25,6% X 7,8% p=0,01) TIL Marcado a moderado apresentou maior sobrevida OR 0.21 (0.08-0.52) p=0,0001

Fonte: elaborado pela autora

Quadro 2 - Estudos com ILT e relação com linfonodo sentinela (LS) em melanoma

Autor/Ano	**Taylor *et al.* (2007)**	**Azimi *et al.* (2012)**	**Duprat *et al.* (2016)**	**Santos *et al.* (2019)**
Amostra	887	1865	633	137
Desenho	Prospectivo	Prospectivo	Retrospectivo	Transversal
Breslow (mm)	0 a >2 mm	>=0,75	>=1	<1
Classificação do ILT	Ausente Leve Intenso	Pouco ou ausente: grau I Moderado: grau II Marcado: grau III	Ausente Presente	Fraco Moderado Marcado
Desfecho	LS	LS; Sobrevida livre de recorrência; Mortalidade	LS	LS
Resultado	TIL ausente prediz metástase em pacientes submetidos a biópsia de LS (p=0,0003)	Relação inversa entre a positividade do LS e o grau doILT: Grau 0 -27,8%; Grau 1 -20,1%; Grau 2 -18,3%; Grau 3 - 5,6%; (p<0,001). Grau do ILT como fator independente para LS e no pronunciado, maiorsobrevida.	ILT ausente foi um fator de risco independente para LS + (OR = 1.8; 95% IC: 1.1–3.0)	ILT moderado e marcado mostraram redução de risco no envolvimento do LS OR=0.2 (95% IC: 0.02–0.72 e p=0,014)

Fonte: elaborado pela autora

1.7 METÁSTASES DE MELANOMA

No MCP, a doença está clinicamente localizada em aproximadamente 85% de todos os pacientes (Fong e Tanabe e*t al.,* 2014). A metástase corresponde a uma lesão formada pelo conjunto de células tumorais agrupadas em um foco micro ou macroscópico, e que não apresenta continuidade com a lesão primária. No melanoma, as metástases podem ser satélites (aquelas que se situam a até 2 cm da lesão primária), metástases em trânsito (aquelas situadas a mais de 2 cm da lesão primária), micrometástases em linfonodo regional (identificadas pela biópsia do LS), metástase em linfonodo regional clinicamente reconhecida, ou metástases a distância (Markovic *et al.*, 2007; Garbe *et al.*, 2016).

O êxito da metástase requer uma série ordenada de passos sequenciais, incluindo a separação de um grupo de células do tumor primário, a invasão e a migração dentro da matriz extracelular, a entrada nos vasos linfáticos ou sanguíneos, entre outros (Poste *et al.*, 1980).

Para metastatizar, as células cancerígenas devem orquestrar diversas funções celulares para vencer as dificuldades da cascata metastática. Essas funções incluem, além das características autônomas das células, a interação da célula metastática com o tumor e o estroma do hospedeiro (Massaguè *et al.*, 2017). Em alguns casos, várias funções são necessárias para completar apenas uma única etapa, enquanto outras podem influenciar várias. Essa especiação é refletida pelos mecanismos distintos da recidiva do câncer em diferentes locais no mesmo paciente e pela coexistência de células malignas que diferem no tropismo de órgãos em cada paciente (Massaguè *et al.*2017).

1.7.1 Processo metastático do melanoma

A metástase resulta de um processo biológico elaborado consequente a uma interação complexa entre células tumorais metastáticas, fatores do hospedeiro e mecanismos de homeostase (Adler *et al.*, 2017). A maioria dos

óbitos por câncer é devido às metástases - quando as células neoplásicas escapam do tumor primário, sobrevivendo ao trânsito inóspito através dosistema linfático e vascular - formando tumores secundários em órgãos distantes (Celià-Terrassa *et al.,* 2016). Sabe-se que apenas 0,02% das células tumorais disseminadas são capazes de fixar metástases.

Embora a disseminação tumoral possa ocorrer precocemente na progressão do câncer, algumas vezes, inclusive no estágio pré-neoplásico, costuma existir um intervalo de tempo amplo entre a formação do tumor primário e as manifestações clínicas das metástases. As células iniciadoras de metástases são, por definição, células tumorais capazes de formar colônias metastáticas com significância clínica em órgãos secundários. Essas células conseguem sequestrar algumas vias das células-tronco normais, levando a um aumento da plasticidade celular e, consequentemente, a vantagens no processo de malignização (Celià-Terrassa *et al.*, 2016).

O melanoma é tido como uma neoplasia com alto potencial maligno e sua disseminação metastática pode ocorrer a partir de massas tumorais muito pequenas (Leiter *et al.*, 2004). A progressão tumoral nesta neoplasia ocorre em várias etapas que incluem proliferação, neovascularização, linfangiogênese, invasão, circulação, embolização e extravasamento (Leiter *et al.,* 2004). Sendo assim, a metástase do melanoma pode ocorrer por via hemática ou linfática (Adler *et al.,* 2017). A progressão do melanoma até a doença metastática é acompanhada por uma angiogênese intensa.

A progressão de células neoplásicas através dos vasos linfáticos até os linfonodos regionais é um indicador de agressividade tumoral e de prognóstico desfavorável. Há indicação de uma regulação coordenada da angiogênese com a linfangiogênese; esses dois processos parecem desempenhar um papel principal na disseminação do melanoma (Leiter *et al.,* 2004). Ao lado disso, a atividade proteolítica e migratória, a expressão de moléculas de adesão e o depósito de matriz extracelular pelas células do estroma e pelas células tumorais contribuem de maneira importante para o crescimento da lesão e para a incidência de metástases. Além disso, moléculas de adesão, como caderinas, integrinas e imunoglobulinas são muito importantes no crescimento e

metastatização do melanoma (Leiter *et al.,* 2004).

Aproximadamente dois terços de todos os casos de melanoma metastático se desenvolvem, inicialmente, como doença loco-regionalecompreendem metástases satélites, em trânsito e metástases em linfonodo regional. Um terço dos casos da neoplasia desenvolverá metástase a distância (Leiter *et al.,* 2004).

1.7.2 ILT no melanoma metastático

O ILT compreende um grupo heterogêneo de linfócitos que diferem entre si por sua capacidade de potencializar o sistema imunológico do indivíduo na sua resposta antitumoral (Lee *et al.,* 2016). Sabe-se que todas as células nucleadas expressam as proteínas do complexo principal de histocompatibilidade classe I (MHC-I) em sua superfície e que estas proteínas estão envolvidas na apresentação de antígenos citosólicos para células T, incluindo linfócitos T citotóxicos (LTCs) (Pandolfi *et al.* 1991). Quando antígenos tumorais aberrantes são apresentados a moléculas de MHC-I, a célula cancerígena que expressa antígenos não-próprios pode, assim, fazer reconhecer-se e ser destruída pelos LTCs. Em contraste, as moléculas MHC de classe II (MHC-II) são tipicamente confinadas a um subconjunto de células imunes, as células apresentadoras de antígenos (APCs) (Pandolfi *et al.,* 1991). São moléculas que apresentam antígenos derivados de proteínas extracelulares para as células T-helper (Th), as quais desencadeiam uma resposta imune específica contra um determinado antígenotumoral.

A ativação do ILT não requer apenas a ligação de moléculas MHC de classe I ou II ao receptor de células T (TCR), muitas vezes referido como "sinal 1"; requer também um sinal simultâneo emitido através do chamado “co-estimulador das interações receptor/ligante” na interface célula T-APC. O sinal leva à ativação completa das células T e à expansão clonal de células T tumor-específicas (Mapara *et al.,* 2004). Além disso, células T ativadas podem ser negativamente reguladas através das chamadas “moléculas co-inibitórias”, comumente conhecidas como "checkpoints imunológicos". Sinais coinibitórios,

ou pontos imunológicos de verificação, amortecem a imunidade, inibindo a proliferação de células T, entre outros mecanismos (Pardoll *et al.* 2012).

As células do melanoma estão equipadas com uma ampla gama de armamentos que lhes permitem fugir passivamente ou suprimir ativamenteessa resposta imune antitumoral. Hoje os tratamentos são baseados em estratégias imunomoduladoras que atacam os vários mecanismos imunes de escape do melanoma.

Além de sua utilidade estabelecida como marcador de prognóstico em melanoma, o ILT também pode ser alvo de terapia e preditor clínico de resposta a essas estratégias imunomoduladoras de tratamento para a doença metastática. A imunoterapia em melanoma pode ser categorizada em três grupos (Lee *et al*., 2015):

a) imunização usando vacinas: consiste em células inteiras, peptídeos imunogênicos ou vetores imunizantes para impulsionar o sistema imunológico contra as células do tumor;

b) terapia celular adotiva (TCA): usando populações efetoras imunes *ex vivo* expandidas;

c) estratégias imunomoduladoras que visam melhorar o sistema imune anti-melanoma intrínseco do hospedeiro.

O bloqueio do ponto-chave imune é hoje uma das opções terapêuticas mais promissoras para pacientes com doença em estágio avançado, inclusive para o melanoma maligno. Apesar desse sucesso, ainda não se pode prever qual paciente terá esse benefício e não encontrará outra via sinalizadora de escape tumoral (Lee *et al*., 2015). Desta forma, investindo nos esforços para conhecer mais a fundo o sistema imune - imunofenotipando o ILT, por exemplo, e combinando estratégias imunomoduladoras entre si ou combinando-as à terapia gene-efetora será possível atingir o sucesso terapêutico.

Desde o início da valorização do significado prognóstico do ILT, muitos novos conhecimentos sobre a imunobiologia dos linfócitos e sobre as pequenas moléculas que governam o comportamento dessas células foram agregados ao arcabouço teórico. Os resultados por vezes contraditórios de estudos anteriores são devidos, provavelmente, à grande heterogeneidade imunofenotípica e funcional do ILT nos melanomas (Oble *et al.*,2009).

A compreensão mais acurada do ILT, além de outros biomarcadores de prognóstico, pode ser promissora e permitir recomendações definitivas para o manejo rotineiro dos pacientes com melanoma cutâneo.

2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adler NR, Haydon A, McLean CA, Kelly JW, Mar VJ. Metastatic pathways in patients with cutaneous melanoma. Pigment Cell Melanoma Res. 2017;30(1):13-27.

Alarcon I, Carrera C, Palou J, Alos L, Malvehy J, Puig S. Impact of in vivo reflectance confocal microscopy on the number needed to treat melanoma in doubtful lesions. Br J Dermatol. 2014;170(4):802-8.

Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, Aparicio SA, Behjati S, Biankin AV, et al. Signatures of mutational processes in human cancer. Nature. 2013;500(7463):415-21.

Aoude LG, Wadt KA, Pritchard AL, Hayward NK. Genetics of familial melanoma: 20 years after CDKN2A. Pigment Cell Melanoma Res. 2015;28(2):148-60.

Azimi F, Scolyer RA, Rumcheva P, Moncrieff M, Murali R, McCarthy SW, et al. Tumor-infiltrating lymphocyte grade is an independent predictor of sentinel lymph node status and survival in patients with cutaneous melanoma. J Clin Oncol. 2012;30(21):2678-83.

Barnhill RL, Fine JA, Roush GC, Berwick M. Predicting five-year outcome for patients with cutaneous melanoma in a population-based study. Cancer. 1996;78(3):427-32.

Bonfá R, Bonamigo RR, Duro KM, Furian RD, Zelmanowicz AeM. Early diagnosis of cutaneous melanoma: an observation in southern Brazil. An Bras Dermatol. 2011;86(2):215-21.

Bray F, Ferlay J, Laversanne M, Brewster DH, Gombe Mbalawa C, Kohler B, et al. Cancer Incidence in Five Continents: Inclusion criteria, highlights from Volume X and the global status of cancer registration. Int J Cancer. 2015;137(9):2060-71.

Bolognia JL, Jorizzo JL, Schaffer JV. Dermatology, 4rd Edition. New Haven. Elsevier. 2018.

Burton AL, Roach BA, Mays MP, Chen AF, Ginter BA, Vierling AM, et al. Prognostic significance of tumor infiltrating lymphocytes in melanoma. Am Surg. 2011;77(2):188-92.

Calonje JE, Brenn T; Lazar A, Billings, S. Pathology of the skin. 3a ed. Londres: Elsevier; 2005.

Castro LG, Messina MC, Loureiro W, Macarenco RS, Duprat Neto JP, Di Giacomo TH, et al. Guidelines of the Brazilian Dermatology Society for diagnosis, treatment and follow up of primary cutaneous melanoma--Part I. An Bras Dermatol. 2015;90(6):851-61.

Celià-Terrassa T, Kang Y. Distinctive properties of metastasis-initiating cells. Genes Dev. 2016;30(8):892-908.

Clark WH Jr, From L, Bernardino EA, Mihm MC Jr. The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin. Cancer Res. 1969;29:705–727.

Clark WH, Elder DE, Guerry D, Braitman LE, Trock BJ, Schultz D, et al. Model predicting survival in stage I melanoma based on tumor progression. J Natl Cancer Inst. 1989;81(24):1893-904.

Clemente CG, Mihm MC, Bufalino R, Zurrida S, Collini P, Cascinelli N. Prognostic value of tumor infiltrating lymphocytes in the vertical growth phase of primary cutaneous melanoma. Cancer. 1996;77(7):1303-10.

Coit DG, Thompson JA, Albertini MR, Barker C, Carson WE, Contreras C, et al. Cutaneous Melanoma, Version 2.2019, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. J Natl Compr Canc Netw. 2019;17(4):367-402.

Duprat JP, Brechtbülh ER, Costa de Sá B, Enokihara M, Fregnani JH, Landman G, et al. Absence of Tumor-Infiltrating Lymphocyte Is a Reproducible Predictive Factor for Sentinel Lymph Node Metastasis: A Multicenter Database Study by the Brazilian Melanoma Group. PLoS One. 2016;11(2):e0148160.

Elder DE. Thin melanoma. Arch Pathol Lab Med. 2011 Mar;135(3):342-6

Faries MB, Wanek LA, Elashoff D, Wright BE, Morton DL. Predictors of occult nodal metastasis in patients with thin melanoma. Arch Surg. 2010;145(2):137-42.

Fong ZV, Tanabe KK. Comparison of melanoma guidelines in the U.S.A., Canada, Europe, Australia and New Zealand: a critical appraisal and comprehensive review. Br J Dermatol. 2014;170(1):20-30.

Fortes C, Mastroeni S, Mannooranparampil TJ, Passarelli F, Zappalà A, Annessi G, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes predict cutaneous melanoma survival. Melanoma Res. 2015;25(4):306-11.

Frangos JE, Duncan LM, Piris A, Nazarian RM, Mihm MC, Hoang MP, et al. Increased diagnosis of thin superficial spreading melanomas: A 20-year study. J Am Acad Dermatol. 2012;67(3):387-94.

Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Zanetti R, Masini C, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: III. Family history, actinic damage and phenotypic factors. Eur J Cancer. 2005;41(14):2040-59.

Garbe C, Peris K, Hauschild A, Saiag P, Middleton M, Bastholt L, et al. Diagnosis and treatment of melanoma. European consensus-based interdisciplinary guideline - Update 2016. Eur J Cancer. 2016;63:201-17.

Gimotty PA, Elder DE, Fraker DL, Botbyl J, Sellers K, Elenitsas R, et al. Identification of high-risk patients among those diagnosed with thin cutaneous melanomas. J Clin Oncol. 2007;25(9):1129-34.

Goldstein AM. Familial melanoma, pancreatic cancer and germline CDKN2A mutations. Hum Mutat. 2004;23(6):630.

Gray-Schopfer V, Wellbrock C, Marais R. Melanoma biology and new targeted therapy. Nature. 2007;445(7130):851-7.

Higgins HW, Lee KC, Galan A, Leffell DJ. Melanoma *in situ*: Part I. Epidemiology, screening, and clinical features. J Am Acad Dermatol. 2015;73(2):181-90, quiz 91-2.

Instituto Nacional do Câncer (INCA). Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil. Disponível em: http://www.inca.gov.br/estimativa/2018/. Acessado em: 17 de janeiro de 2018.

Karimkhani C, Green AC, Nijsten T, Weinstock MA, Dellavalle RP, Naghavi M, et al. The global burden of melanoma: results from the Global Burden of Disease Study 2015. Br J Dermatol. 2017;177(1):134-40.

Keung EZ, Gershenwald JE. The eighth edition American Joint Committee on Cancer (AJCC) melanoma staging system: implications for melanoma treatment and care. Expert Rev Anticancer Ther. 2018;18(8):775-84.

Larsen TE, Grude TH. A retrospective histological study of 669 cases of primary cutaneous malignant melanoma in clinical stage I. 3. The relation of dermal solar elastosis to sex, age and survival of the patient and to localization, histological type and level of invasion of the tumour. Acta Pathol Microbiol Scand A. 1979;87A(5):361-6.

Lee N, Zakka LR, Mihm MC, Schatton T. Tumour-infiltrating lymphocytes in melanoma prognosis and cancerimmunotherapy.Pathology. 2015;48(2):177-87.

Leiter U, Meier F, Schittek B, Garbe C. The natural course of cutaneous melanoma. J Surg Oncol. 2004;86(4):172-8.

MacKie RM, Hauschild A, Eggermont AM. Epidemiology of invasive cutaneous melanoma. Ann Oncol. 2009;20 Suppl 6:vi1-7.

Månsson-Brahme E, Carstensen J, Erhardt K, Lagerlöf B, Ringborg U, Rutqvist LE. Prognostic factors in thin cutaneous malignant melanoma. Cancer. 1994;73(9):2324-32.

Mapara MY, Sykes M. Tolerance and cancer: mechanisms of tumor evasion and strategies for breaking tolerance. J Clin Oncol.2004;22(6):1136-51.

Markovic SN, Erickson LA, Rao RD, Weenig RH, Pockaj BA, Bardia A, et al. Malignant melanoma in the 21st century, part 1: epidemiology, risk factors, screening, prevention, and diagnosis. Mayo Clin Proc. 2007;82(3):364-80.

Massagué J, Batlle E, Gomis RR. Understanding the molecular mechanisms driving metastasis. Mol Oncol. 2017;11(1):3-4.

Mayer JE, Swetter SM, Fu T, Geller AC. Screening, early detection, education, and trends for melanoma: current status (2007-2013) and future directions:Part II. Screening, education, and future directions. J Am Acad Dermatol. 2014;71(4):611.e1-.e10; quiz 21-2.

Mihic-Probst D, Shea C, Duncan L, de la Fouchardiere A, Landman G, Landsberg J, et al. Update on Thin Melanoma: Outcome of an International Workshop. Adv Anat Pathol. 2016;23(1):24-9.

Mihm MC, Clemente CG, Cascinelli N. Tumor infiltrating lymphocytes in lymph node melanoma metastases: a histopathologic prognostic indicator and an expression of local immune response. Lab Invest. 1996;74(1):43-7.

Mihm MC, Mulé JJ. Reflections on the Histopathology of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Melanoma and the Host Immune Response. Cancer Immunol Res. 2015;3(8):827-35.

Mocellin S, Nitti D. Cutaneous melanoma *in situ*: translational evidence from a large population-based study. Oncologist. 2011;16(6):896-903.

Moore DA, Pringle JH, Saldanha GS. Prognostic tissue markers in melanoma. Histopathology. 2012;60(5):679-89.
Oble DA, Loewe R, Yu P, Mihm MC. Focus on TILs: prognostic significance of tumor infiltrating lymphocytes in human melanoma. Cancer Immun. 2009;9:3.

Ribero S, Argenziano G, Lallas A, Moscarella E, Benati E, Raucci M, et al. Dermoscopic features predicting the presence of mitoses in thin melanoma. J Dermatol Sci. 2017;86(2):158-61.

Rigel DS. Epiluminescence microscopy in clinical diagnosis of pigmented skin lesions? Lancet. 1997;349(9065):1566-7.

Rubinstein JC, Han G, Jackson L, Bulloch K, Ariyan S, Narayan D, et al. Regression in thin melanoma is associated with nodal recurrence after a negative sentinel node biopsy. Cancer Med.2016;5(10):2832-40.

Santos FMD, Silva FCD, Pedron J, Furian RD, Fortes C, Bonamigo RR. Association between tumor-infiltrating lymphocytes and sentinel lymph node positivity in thin melanoma. An Bras Dermatol.2019;94(1):47-51.

Schadendorf D, van Akkooi ACJ, Berking C, Griewank KG, Gutzmer R, Hauschild A, et al. Melanoma. Lancet. 2018;392(10151):971-84.

Schalka S, Steiner D, Ravelli FN, Steiner T, Terena AC, Marçon CR, et al. Brazilian consensus on photoprotection. An Bras Dermatol. 2014;89(6 Suppl 1):1-74.

Segatto MM, Bonamigo RR, Hohmann CB, Müller KR, Bakos L, Mastroeni S, et al. Residential and occupational exposure to pesticides may increase risk for cutaneous melanoma: a case-control study conducted in the south of Brazil. Int J Dermatol. 2015;54(12):e527-38.

Shain AH, Yeh I, Kovalyshyn I, Sriharan A, Talevich E, Gagnon A, et al. The Genetic Evolution of Melanoma from Precursor Lesions. N Engl J Med. 2015;373(20):1926-36.

Sober AJ, Chuang TY, Duvic M, Farmer ER, Grichnik JM, Halpern AC, et al. Guidelines of care for primary cutaneous melanoma. J Am Acad Dermatol. 2001;45(4):579-86.

Soyer HP, Smolle J, Kerl H, Stettner H. Early diagnosis of malignant melanoma by surface microscopy. Lancet. 1987;2(8562):803.

Thomas NE, Busam KJ, From L, Kricker A, Armstrong BK, Anton-Culver H, et al. Tumor-infiltrating lymphocyte grade in primary melanomas is independently associated with melanoma-specific survival in the population-based genes, environment and melanoma study. J Clin Oncol.2013;31(33):4252-9.

Thörn M, Pontén F, Bergström R, Sparén P, Adami HO. Clinical and histopathologic predictors of survival in patients with malignant melanoma: a population-based study in Sweden. J Natl Cancer Inst. 1994;86(10):761-9.

Trotter SC, Sroa N, Winkelmann RR, Olencki T, Bechtel M. A Global Review of Melanoma Follow-up Guidelines. J Clin Aesthet Dermatol. 2013;6(9):18-26.

Tuthill RJ, Unger JM, Liu PY, Flaherty LE, Sondak VK, Group SO. Risk assessment in localized primary cutaneous melanoma: a Southwest Oncology Group study evaluating nine factors and a test of the Clark logistic regression prediction model. Am J Clin Pathol. 2002;118(4):504-11.

Wat H, Salopek TG. Revisiting vertical growth phase and regression for thin melanoma. J Am Acad Dermatol. 2017;76(1):e27.

Pandolfi F, Boyle LA, Trentin L, Kurnick JT, Isselbacher KJ, Gattoni-Celli S. Expression of HLA-A2 antigen in human melanoma cell lines and its role in T-cell recognition. Cancer Res. 1991;51(12):3164-70.

Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. Nat Rev Cancer. 2012;12(4):252-64.

Poste G. Surface molecules and tumour-cell metastatic properties. Biochem Soc Trans. 1980;8(6):695-7.

Wassberg C, Thörn M, Yuen J, Hakulinen T, Ringborg U. Cancer risk in patients with earlier diagnosis of cutaneous melanoma *in situ*. Int J Cancer. 1999;83(3):314-7.

Wick MR. Cutaneous melanoma: a current overview. Semin Diagn Pathol. 2016 Jul;33(4):225-41.

1 OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a presença e a intensidade do ILT-p em pacientes com MCP*is* e em pacientes com MCPf com e sem metástases.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Descrever características clínicas dos pacientes portadores de MCP*is* e de MCPf, a saber: idade, sexo, fototipo, topografia topografia do melanoma inicial e sítio demetástases;
b) descrever características histopatológicas dos MCP*is* desta amostra, a saber: subtipo, Breslow, fase de crescimento, regressão e ILT-p;
c) relacionar as características clínicas e histopatológicas dos pacientes portadores de MCPf com a presença demetástases.

2 ARTIGOS CIENTÍFICOS

ARTIGO 1 (ARTIGO ORIGINAL) - Aceito para publicação na Revista “Anais Brasileiros de Dermatologia”

01/02/2023 20:27 View Letter

Date: Sep 18, 2022
To: "Mariele Bevilaqua" dramarielebevilaqua@gmail.com
From: "Anais Brasileiros de Dermatologia" abd@sbd.org.br
Subject: Decision on submission to Anais Brasileiros de Dermatologia

Manuscript Number: ABD-D-22-00274R3

Infiltrado inflamatório peritumoral não prediz metástases em melanomas cutâneos primários finos

Dear Dra. Mariele Bevilaqua,

Thank you for submitting your manuscript to Anais Brasileiros de Dermatologia.

I am pleased to inform you that your manuscript has been accepted for publication.

My comments, and any reviewer comments, are below.

Your accepted manuscript will now be transferred to our production department. We will create a proof which you will be asked to check, and you will also be asked to complete a number of online forms required for publication. If we need additional information from you during the production process, we will contact you directly.

We appreciate and value your contribution to Anais Brasileiros de Dermatologia. We regularly invite authors of recently published manuscript to participate in the peer review process. If you were not already part of the journal's reviewer pool, you have now been added to it. We look forward to your continued participation in our journal, and we hope you will consider us again for future submissions.

Kind regards,

Anais Brasileiros de Dermatologia

Editor comments:
Muito obrigado pela pronta resposta e ajustes.
Segue agora para avaliação da parte técnica.
Att.
Editor

More information and support

FAQ: When and how will I receive the proofs of my article?

https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/6007/p/10592/supporthub/publishing/related/

You will find information relevant for you as an author on Elsevier's Author Hub: https://www.elsevier.com/authors
FAQ: How can I reset a forgotten password?
https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/28452/supporthub/publishing/
For further assistance, please visit our customer service site:
https://service.elsevier.com/app/home/supporthub/publishing/
Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions, and learn more about Editorial Manager via interactive tutorials. You can also talk 24/7 to our customer support team by phone and 24/7 by live chat and email

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: https://www.editorialmanager.com/abd/login.asp?a=r). Please contact the publication office if you have any questions.

Infiltrado inflamatório peritumoral não prediz metástases em melanomas cutâneos primários finos

Mariele Bevilaqua, Maria Carolina Rey, Felice Riccardi, Giancarlo Antonini Cappellini, Cristina Fortes, Adriana Vial Roehe, Renan Rangel Bonamigo

RESUMO

Fundamentos: Nos melanomas cutâneos em geral, o infiltrado inflamatório tumoral (IIT) pode proteger de metástases a distância, mas não há consenso quando apenas os melanomas cutâneo primários finos (MCPFs) são considerados.

Objetivo: Investigar a presença do IIT nos MCPFs e a relação entre o IIT e a ocorrência de metástases.

Métodos: Estudo caso-controle que incluiu 50 pacientes com MCPF, sendo 22 metastáticos (grupo CM) e 28 não metastáticos (grupo CNM). A presença do IIT foi avaliada e, se presente, qualificada em leve, moderada e marcada.

Resultados: A idade média foi de 50,7 anos no CM e de 56,2 anos no CNM (p=0,234), e o sexo masculino predominou no CM (63,6%). A espessura média do índice de Breslow foi maior no CM quando comparada à observada no CNM (respectivamente, 0,8 mm *versus* 0,6 mm, p=0,012). A presença de ulceração ocorreu em 22,7% do CM e em 17,9% do CNM (p=0,732). O IIT esteve presente em todos os 50 MCPFs, sendo marcado e moderado em 67,9% do CNM e em 54,5% do CM (p=0,503). Na análise multivariada, a presença de IIT moderado e marcado apresentou *odds ratio* (OR) de 0,57 (intervalo de confiança [IC] de 95%: 0,18-1,8) e OR ajustado de 0,68 (IC de 95%:0,13-3,99).

Limitações do estudo: Reduzido valor amostral.

Conclusões: O IIT esteve presente em todos os MCPFs (com e sem metástases), e não foi possível comprovar um efeito protetor do IIT para o surgimento de metástases.

Palavras-chave: melanoma, metástase, linfócitos do interstício tumoral, prognóstico, biomarcadores.

INTRODUÇÃO

O melanoma cutâneo primário é a forma mais letal de câncer de pele, correspondendo a aproximadamente 90% das mortes relacionadas a tumores cutâneos.[1] A incidência dessa neoplasia maligna continua em ascensão, com cerca de 232.000 novos casos por ano em todo o mundo, representando 7% de todos os cânceres malignos diagnosticados, exceto câncer de pele não melanoma.[1] Melanomas cutâneos primários finos (MCPFs) são aqueles com espessura de Breslow igual ou menor que 1 mm.[2] Estudos mostram que as avaliações dermatológicas periódicas e o uso cada vez mais acurado do dermatoscópio favoreceram a detecção mais precoce de MCPFs e de melanomas *in situ.*[3-6]

O índice de mortalidade causado por melanoma é conhecido por estar fortemente associado à espessura da lesão primária (índice de Breslow).[2] Atualmente, a maioria dos novos casos de melanoma cutâneo são diagnosticados como MCPFs, sendo que aproximadamente 90% são diagnosticados como tumores primários sem evidência de metástases, na abordagem inicial, de acordo com Aitken *et al*.[3]

De fato, há diversidade de dados estatísticos quanto à presença de metástases no acompanhamento de MCPFs, havendo estudos que relatam incidências de 3-5% e de até 20% de doença a distância em MCPFS.[7-9]

Esse comportamento biológico ocasiona, consequentemente, cenários com prognósticos desfavoráveis.[10,11] Gimotty *et al*.[2] indicam que 15% das mortes por melanoma resultam de metástases de lesões finas.

Os fatores específicos para a identificação de pacientes com MCPF em risco para metástases ainda não foram completamente elucidados.[12] Muitos detalhes do comportamento biológico e da apresentação histopatológica dos MCPFs metastáticos são parcialmente desconhecidos.

Linfócitos e células mononucleares associados ao câncer humano são descritos há mais de um século.[13] Wallace Clark usou o termo “infiltração linfocitária

tumoral” para se referir às células imunes presentes no infiltrado inflamatório, como parte da resposta do hospedeiro ao câncer.[14] Quando se trata de melanoma cutâneo, acredita-se que a presença dos linfócitos infiltrantes esteja associada a um desfecho favorável ao paciente, embora isso seja um tópico controverso.

Pesquisas sobre a influência da infiltração linfocitária, especificamente nos MCPFs, são escassas, e o fenômeno é incipientemente compreendido. Assim, este estudo investigou a presença do infiltrado inflamatório tumoral (IIT) em MCPFs e a relação entre o IIT e a ocorrência de metástases.

MÉTODOS

População e desenho experimental

Este estudo caso-controle retrospectivo foi realizado em dois centros (um na Itália e outro na região Sul do Brasil), a partir de dados encontrados nos registros dos serviços de patologia do Istituto Dermopatico dell'Immacolata (Roma, Itália) e da Irmandade Santa Casa de Misericórdia (Porto Alegre, Brasil), no período de dois anos (2017-2019). A avaliação histopatológica foi conduzida pelo serviço de patologia dos dois centros. Todas as lâminas histopatológicas foram novamente avaliadas por um terceiro especialista em patologia (AVH) da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, que definiu o diagnóstico histopatológico final.

Foram observadas as seguintes variáveis clínicas e histopatológicas: sexo, topografia do melanoma, sítio de metástases, tempo entre o diagnóstico do melanoma e a detecção de metástases, subtipo de melanoma, índice de Breslow, fase de crescimento, presença de ulceração, regressão tumoral e presença de IIT.

A interpretação do IIT seguiu definições usadas por Fortes *et al.*[15]: grau 1 (leve): poucos linfócitos infiltram o tumor focalmente ou multifocalmente ao longo ou na base do componente dérmico (≤30%do componente estava infiltrado por linfócitos); grau 2 (moderado): quantidades moderadas de linfócitos infiltram o tumor focalmente

ou multifocalmente, mas não ao longo de toda a base do componente dérmico (31 a 64% do componente estava infiltrado por linfócitos); e grau 3 (marcado): uma banda contínua de linfócitos estava presente na base ou ao longo do componente dérmico de melanoma (≥65%do componente estava infiltrado por linfócitos). Para fins de análise, foram somados os casos de IIT moderado e marcado, que foram então comparados aos casos de IIT leve.

Aspectos éticos

O estudo seguiu os protocolos determinados pelo Comitê de Ética da instituição e foi aprovado sob o número 12447213.8.0000.5345. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado foi obtido dos pacientes ou de seus responsáveis legais. Os autores assinaram um documento concordando em preservar a anonimidade do paciente em relação ao uso de seus dados.

Análise estatística

Os dados quantitativos foram apresentados como média e desvio padrão. Na presença de assimetria de dados, foi usada a mediana com valores mínimos e máximos. As variáveis categóricas foram contadas e transformadas em porcentagens. O teste *t* de Student ou seu correspondente não paramétrico (teste de Mann-Whitney) foi usado para comparação de dados quantitativos. O teste do qui-quadrado ou o teste exato de Fischer foi usado para as proporções, quando necessário. Os ajustes para possíveis efeitos confundidores foram conduzidos por regressão logística. O nível de significância adotado foi $p<0,05$. Os dados foram analisados no SPSS, versão 22.0.

RESULTADOS

Este estudo incluiu 50 pacientes, sendo 22 pacientes com MCPF metastático (grupo cutâneo metastático, CM) e 28 pacientes com MCPF não metastático (grupo

cutâneo não metastático, CNM). A média de idade foi de 50,7 anos nos casos (grupo CM) e de 56,2 anos nos controles (grupo CNM) (p=0,234). Homens predominaram no CM (63,6%) e mulheres, no CNM (53,6%) (p=0,354). O tronco foi o sítio tumoral principal do tumor primário em ambos os grupos (p=0,187), e o sítio principal de metástases foi o hematogênico, acometendo o pulmão em nove casos (39,1%) no CM.

O principal subtipo tumoral foi o espalhamento superficial, observado em 86,4% do CM e em 92,9% do CNM (p=0,499). A espessura média de Breslow foi de 0,8 mm e 0,6 mm, respectivamente para CM e CNM (p=0,012), e a presença de ulceração foi evidente em 22,7% do CM e em 17,9% do CNM (p=0,732). A regressão histológica foi observada em 45% do CM e em 28,6% do CNM (p=0,386). A Tabela 1 apresenta os dados gerais da amostra.

Todos os pacientes avaliados apresentaram IIT, com diferentes classificações qualiquantitativas, sendo que o IIT moderado a marcado esteve presente em 54,5% do CM e em 68% do CNM. Para os dados brutos, obteve-se um *odds ratio* (OR) de 0,57 (IC de 95%:0,18-1,8; p=0,338) (Tabela 2). A análise multivariada com ajustes para índice de Breslow, sexo e idade ao diagnóstico do melanoma foi aplicada, e a presença de IIT moderado a marcado apresentou OR de 0,68 (IC de 95%: 0,13-3,99, p=0,669) (Tabela 2). As Figuras 1, 2 e 3 mostram imagens histopatológicas de IIT leve, moderado e marcado em paciente com MCPF.

DISCUSSÃO

O papel da resposta imune no melanoma cutâneo vem ganhando atenção nos últimos anos, particularmente com o advento de terapias imunomoduladoras para a doença avançada.[16] O IIT compreende um grupo heterogêneo de linfócitos que diferem entre si pela habilidade de potencializar o sistema imune em sua capacidade antitumoral.[14]

Vários estudos correlacionaram melhor sobrevida do melanoma cutâneo com a presença de IIT, em particular os infiltrados densos (marcados). Clark *et al*.[17]

demonstraram que a intensidade do IIT é associada a sobrevida livre de doença, e Clemente *et al*.[18] encontraram um índice de sobrevida de 77% após 5 anos em pacientes com IIT denso, comparado com 53% naqueles com IIT não denso e 37% em pacientes sem IIT. Tuthill *et al.*[19] evidenciaram um índice de sobrevida de 100% após 5 anos e 93% após 10 anos em pacientes com IIT denso.

No entanto, alguns estudos não revelam uma associação significativa entre IIT e índice de sobrevida em pacientes com melanoma.[14,20] Esses resultados podem ser em decorrência da inclusão de dados sobre MCPFs que estão na fase de crescimento radial, visto que, durante essa fase, há pouco embasamento para considerar o IIT como um preditor de resultados, ou devido à classificação errônea de linfócitos encontrados próximos ao tumor como sendo um IIT.[21]

No presente estudo, variáveis clínicas e histopatológicas estiveram de acordo com achados de estudos prévios.[7,22,23] Houve uma alta frequência da fase de crescimento vertical em pacientes com metástases em comparação àqueles livres de disseminação maligna (p=0,012), com maior espessura de Breslow naqueles afetados por metástases (p=0,012). Com relação à topografia, a maior ocorrência de melanoma foi no tronco, e o subtipo mais frequentemente encontrado foi o melanoma de espalhamento superficial. O sexo masculino foi o mais comum entre os pacientes metastáticos (63,6%). A presença de ulceração não é achado frequente nos MCPFs, mas, quando presente, altera o estadiamento do câncer de T1a a T1b (de acordo com o *American Joint Committee on Cancer*).[24] Neste estudo, não foi observada diferença na presença de ulceração entre os dois grupos. A regressão tumoral na histopatologia ocorre em 10 a 35% dos melanomas cutâneos.[15,25] Neste estudo, ela esteve mais presente em indivíduos metastáticos (45% *versus* 28,6%, p=0,386). Um recente estudo multicêntrico[26] relatou que a regressão é altamente relacionada com o IIT, mas apenas o IIT está significativamente associado com metástases linfonodais e sobrevida global em pacientes com melanoma (a regressão, isoladamente, não se

associou aos desfechos).

Ainda que se admita a baixa incidência de metástases em pacientes com MCPF, quando comparado aos melanomas invasivos, há controvérsias na literatura quanto aos dados. Essas diferenças podem estar relacionadas à fase de diagnóstico do tumor primário ou a outros fatores do indíviduo e das características bioimunológicas de determinados tumores.[7,8]

Os dados do presente estudo não conseguiram atestar a proteção do IIT para o desenvolvimento de metástases, pois todos os pacientes avaliados, com e sem metástases, apresentavam o infiltrado. Ainda que os pacientes com MCPF não metastático apresentassem mais frequentemente IIT moderado a marcado, quando comparados aos pacientes metastáticos – 67,9% *versus* 54,5%, respectivamente –, não houve demonstração de significância estatística (OR 0,68, p=0,669).

A presença do IIT em todos os pacientes com melanomas finos (metastáticos ou não) neste estudo pode revelar que o papel das infiltrações linfocíticas seja o de tentar evitar precocemente que o melanoma progrida para a fase de maior invasão, ainda que não consiga evitar a disseminação metastática de alguns poucos MCPFs.

A limitação deste estudo decorre da pequena frequência de ocorrência de casos metastáticos nos MCPFs, com impacto no número amostral reduzido para a realização da avaliação. Por outro lado, o fato de neste estudo terem sido encontradas variáveis já estabelecidas na literatura quanto à caracterização do melanoma, incluindo fatores prognósticos como a espessura de Breslow e a fase de crescimento vertical, demonstra a adequada qualidade dos dados obtidos.

Estudos sobre o IIT são cada vez mais oportunos dada a importância conhecida do sistema imunológico na determinação do comportamento do câncer e o papel emergente da inibição do controle imunológico no tratamento do melanoma. Para se fornecer resultados mais consistentes, sugere-se a condução de estudos longitudinais e com maior número amostral. Como perspectiva, a caracterização do

imunofenótipo do IIT pode trazer informações relevantes. Finalmente, é importante ressaltar que, antes de serem adotados na prática clínica, os biomarcadores tumorais devem ter validação clínica e analítica, além de demonstração de utilidade clínica.[27]

CONCLUSÃO

Todos os pacientes com MCPF apresentaram IIT, e não houve diferenças estatísticas detectáveis entre metastáticos e não metastáticos, ainda que a frequência de IIT marcado a moderado tenha ocorrido principalmente em MCPF não metastático.

REFERÊNCIAS

1. Schadendorf D, van Akkooi ACJ, Berking C, Griewank KG, Gutzmer R, Hauschild A. Melanoma. Lancet 2018;**392**:971-84.

2. Gimotty PA, Elder DE, Fraker DL, Botbyl J, Sellers K, Elenitsas R, et al. Identification of high-risk patients among those diagnosed with thin cutaneous melanomas. J Clin Oncol 2007;**25**:1129-34.

3. Aitken JF, Elwood M, Baade PD, Youl P, English D. Clinical whole-body skin examination reduces the incidence of thick melanomas. Int J Cancer 2010;**126**:450-8.

4. Salerni G, Lovatto L, Carrera C, Puig S, Malvehy J. Melanomas detected in a follow-up program compared with melanomas referred to a melanoma unit. Arch Dermatol 2011;**147**:549-55.

5. Kovalyshyn I, Dusza SW, Siamas K, Halpern AC, Argenziano G, Marghoob AA. The impact of physician screening on melanoma detection. Arch Dermatol 2011;**147**:1269-75.

6. Nufer KL, Raphael AP, Soyer HP. Dermoscopy and overdiagnosis of melanoma in situ. JAMA Dermatol 2018;**154**:398-9.

7. Kalady MF, White RR, Johnson JL, Tyler DS, Seigler HF. Thin melanomas: predictive lethal characteristics from a 30-year clinical experience. Ann Surg 2003;**238**:528-35.

8. Mansson-Brahme E, Carstensen J, Erhardt K, Lagerlof B, Ringborg U, Rutqvist LE. Prognostic factors in thin cutaneous malignant melanoma. Cancer 1994;**73**:2324-32.

9. Mihic-Probst D, Shea C, Duncan L, de la Fouchardiere A, Landman G, Landsberg J, et al. Update on Thin Melanoma: Outcome of an International Workshop. Adv Anat *Pathol* 2016;**23**:24-9.

10. Elder DE. Thin melanoma. Arch Pathol Lab Med 2011;**135**:342-6.

11. Garbe C, Peris K, Hauschild A, Saiag P, Middleton M, Bastholt L, et al. Diagnosis and treatment of melanoma. European consensus-based interdisciplinary guideline -

Update 2016. Eur J Cancer 2016;**63**:201-17.

12. Blessing K, McLaren KM, McLean A, Davidson P. Thin malignant melanomas (less than 1.5 mm) with metastasis: a histological study and survival analysis. Histopathology 1990;**17**:389-95.

13. Mihm MC, Jr., Mule JJ. Reflections on the histopathology of tumor-infiltrating lymphocytes in melanoma and the host immune response. Cancer Immunol Res 2015;**3**:827-35.

14. Lee N, Zakka LR, Mihm MC, Jr., Schatton T. Tumour-infiltrating lymphocytes in melanoma prognosis and cancer immunotherapy. Pathology 2016;**48**:177-87.

15. Fortes C, Mastroeni S, Mannooranparampil TJ, Passarelli F, Zappala A, Annessi G, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes predict cutaneous melanoma survival. Melanoma Res 2015;**25**:306-11.

16. Sinnamon AJ, Sharon CE, Song Y, Neuwirth MG, Elder DE, Xu X, et al. The prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes for primary melanoma varies by sex. J Am Acad Dermatol 2018;**79**:245-51.

17. Clark WH, Jr., Elder DE, Guerry Dt, Braitman LE, Trock BJ, Schultz D, et al. Model predicting survival in stage I melanoma based on tumor progression. J Natl Cancer Inst 1989;**81**:1893-904.

18. Clemente CG, Mihm MC, Jr., Bufalino R, Zurrida S, Collini P, Cascinelli N. Prognostic value of tumor infiltrating lymphocytes in the vertical growth phase of primary cutaneous melanoma. Cancer 1996;**77**:1303-10.

19.Tuthill RJ, Unger JM, Liu PY, Flaherty LE, Sondak VK, Southwest Oncology G. Risk assessment in localized primary cutaneous melanoma: a Southwest Oncology Group study evaluating nine factors and a test of the Clark logistic regression prediction model. Am J Clin Pathol 2002;**118**:504-11.

20. Pandolfi F, Boyle LA, Trentin L, Kurnick JT, Isselbacher KJ, Gattoni-Celli S. Expression of HLA-A2 antigen in human melanoma cell lines and its role in T-cell

recognition. Cancer Res 1991;**51**:3164-70.

21. Leiter U, Meier F, Schittek B, Garbe C. The natural course of cutaneous melanoma. J Surg Oncol 2004;**86**:172-8.

22. Richetta AG, Valentini V, Marraffa F, Paolino G, Rizzolo P, Silvestri V, et al. Metastases risk in thin cutaneous melanoma: prognostic value of clinical-pathologic characteristics and mutation profile. Oncotarget 2018;**9**:32173-81.

23. Slingluff CL, Jr., Vollmer RT, Reintgen DS, Seigler HF. Lethal "thin" malignant melanoma. Identifying patients at risk. Ann Surg 1988;**208**:150-61.

24. Gershenwald JE, Scolyer RA, Hess KR, Sondak VK, Long GV, Ross MI, et al. Melanoma staging: Evidence-based changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. CA Cancer J Clin 2017;**67**:472-92.

25. Ribero S, Moscarella E, Ferrara G, Piana S, Argenziano G, Longo C. Regression in cutaneous melanoma: a comprehensive review from diagnosis to prognosis. J Eur Acad Dermatol Venereol 2016;**30**:2030-7.

26. Morrison S, Han G, Elenwa F, Vetto JT, Fowler G, Leong SP, et al. Is there a relationship between TILs and regression in melanoma? Ann Surg Oncol 2022.

27. Wein L, Savas P, Luen SJ, Virassamy B, Salgado R, Loi S. Clinical validity and utility of tumor-infiltrating lymphocytes in routine clinical practice for breast cancer patients: current and future directions. Front Oncol 2017;**7**:156.

TABELAS

Tabela 1. Perfil da amostra de pacientes com melanoma cutâneo primário fino (n= 50).

Variáveis clínicas e histológicas	**Metastáticos (n = 22)**	**Não metastáticos (n = 28)**	***p***
Masculino (n, %)	14 (63,6)	13 (46,4)	0,354
Idade ao diagnóstico (média±DP)	50,7±18,6	56,2±11,4	0,234
Sítio tumoral inicial (n, %)			
Cabeça	0/21 (0)	4/28 (14,3)	
Tronco	14/21 (66,7)	15/28 (53,6)	0,187
Membros	07/21 (33,3)	09/28 (32,1)	
Sítio metastático (n, %)			
Hematogênico	13 (56,5)		
Linfático	5 (21,7)		
Ambos	5 (21,7)		
Subtipo de melanoma			
Espalhamento superficial	19 (86,4)	26 (92,9)	0,499
Acral	02 (9,1)	02 (7,1)	
Outros	01 (4,5)	0 (0)	
Índice de Breslow (mm)	0,8 (0,2-1)	0,6 (0,2-1)	0,012
Fase de crescimento vertical (n, %)	12/15 (80)*	14/28 (50)	0,012
Ulceração (n, %)	05 (22,7)	05 (17,9)	0,732

Variáveis clínicas e histológicas	**Metastáticos (n = 22)**	**Não metastáticos (n = 28)**	***p***
Regressão (n, %)	09/20 (45)	8/28 (28,6)	0,386

*Fase de crescimento não avaliável em sete casos

Tabela 2. Relação entre infiltrado inflamatório tumoral (ITT) e ocorrência de metástases em melanoma cutâneo primário fino (MCPF).

Característica	**MCPF metastático (n=22)**	**MCPF não metastático (n=28)**	***Odds ratio* (IC de 95%)**
IIT marcado a moderado	12 (54,5%)	19 (67,9%)	0,57 (0,18-1,80)p= 0,338 0,68 (0,13-3,99) p= 0,669*

*Ajustado por análise multivariada para índice de Breslow, sexo, idade do paciente e fase de crescimento tumoral

FIGURAS

Figura 1. Histopatológico evidenciando infiltrado inflamatório peritumoral leve: hematoxilina-eosina, **A**) aumento de 4x, **B**) aumento de 10x, **C**) aumento de 20x.

Figura 2. Histopatológico evidenciando infiltrado inflamatório peritumoral moderado: hematoxilina-eosina, **A**) aumento de 4x, **B**) aumento de 10x, **C**) aumento de 20x.

Figura 3. Histopatológico evidenciando infiltrado inflamatório tumoral marcado: hematoxilina-eosina, **A**) aumento de 4x, **B**) aumento de 10x, **C**) aumento de 20x.

4.2 ARTIGO 2 (LETTER TO THE EDITOR)

LETTER TO THE EDITOR

Tumor-infiltrating lymphocytes in *in situ* primary cutaneous melanomas

Mariele Bevilaqua[1], Maria Carolina Rey[1], Gian Carlo Antonini Cappellini[2], Felice Riccardi[3], Cristina Fortes[2], Adriana Vial Roehe[1], Renan Rangel Bonamigo[1]

Enviado para publicação na Revista “International Journal of Dermatology”

TIL in *in situ* primary cutaneous melanomas

Tumor-infiltrating lymphocytes in *in situ* primary cutaneous melanomas

Bevilaqua, M
MD, Dermatologist

Rey, MC W
MD, MSc – Dermatologist

Cappellini, G C A
Clinical Oncologist

Riccardi, F
MD, MSc, Surgical Oncologist

Fortes, C
BSc, MSc, PhD

Roehe, A V
MD, PhD, Professor of Pathology

Bonamigo, RR
PhD – Professor of Dermatology

1 - Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre
2 - Istituto Dermopatico dell'Immacolata
3 – Hospital Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre

Manuscript word count: 388 words,1 table

Mailing Address:

Mariele Bevilaqua
245 Sarmento Leite St., ZIP 90050-170
Porto Alegre – RS - Brazil Phone +55 (51) 33038700
dramarielebevilaqua@gmail.com

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

TIL in in situ primary cutaneous melanomas

Tumor-infiltrating lymphocytes in *in situ* primary cutaneous melanomas

Dear editor,

We assessed the presence and intensity of tumor-infiltrating lymphocytes

(TIL) in 22 patients that presented *in situ* primary cutaneous melanoma; TIL were present in all cases. Clinical and histopathological data of the sample are presented in table 1.

In terms of intensity, 59.1% of cases of TIL were scanty; 22.7% were moderate; 18.2% were marked (Fig. 1).

Possible classifications for TIL are absent, brisk and non-brisk, and it has been considered an independent prognosis variable for primary invasive cutaneous melanoma[1,2.] Brisk TIL tends to appear in thin melanomas whereas a lack of lymphocytes is usually the finding in thick melanomas[3]. Interestingly, as observed in our findings, TIL are present even before the invasive phase. It is possible that they are a prelude to an attempt at immunological protection.

TIL have been studied in other *in situ* solid neoplasias. As for other non-melanoma cutaneous tumors, a study by Stravodimou *et al.* in 2018*,* found an increase of TIL in precursor lesions that lead to invasive spine cell carcinomas[4]. Regulatory T cell count is higher on normal skin in relation to actinic keratosis and to *in situ* spine cell carcinomas, but the count is lower in invasive spine cell carcinomas.

Some ductal mammary carcinomas will progress to the invasive phase, while others will display indolent behavior. The presence of TIL seems to predict the prognosis for invasive mammary carcinomas, especially when it comes to positive and triple-negative HER-2 subtypes.

Recently, Darvishian *et al.* have found that a dense TIL is associated with age, tumor size, nuclear degree, comedonal histology, necrosis, and ER status, in addition to being a predictor of recurrence in *in situ* ductal mammary carcinoma[5].

In addition to the prognosis, it is important to assess TIL in histopathological specimens in order to provide important information for the prediction of treatment response. TIL has been progressively more studied with the purpose of improving treatments such as immunotherapy and targeted therapy.

More complete answers to the questions on the meaning of TIL for *in situ* melanomas are on their way. Is it possible to expect that patients with scanty TIL will have more invasive melanoma when it is present? Will the degree of TIL be

considered to define therapies? Clarity may come from clinically following representative series of patients, phenotypic assessment of TIL and therapeutic trials.

Yours faithfully,

The authors

Table 1 - Clinical and histological variables and pTIL in patients with *in situ* primary cutaneous melanoma

Clinical and Histological Variables	*In situ* melanomas (n = 22)
Female	11 (50%)
Age (years)	57.3 ± 9.6
Phototype II	17 (77.3%)
Phototype III	05 (22.7%)

Initial Tumor Site	-
- *Head*	05 (22.7%)
- *Trunk*	05 (22.7%)
- *Limbs*	12 (54.5%)
Melanoma Subtype	-
- *Superficial spreading*	21 (95.4%)
- *Lentigo maligna*	01 (4.6%)
Horizontal Growth Phase	19 (86.4%)
Absence of Regression	19 (86.4%)
pTIL	-
- *Scanty*	13 (59.1%)
- *Moderate*	05 (22.7%)
- *Marked*	04 (18.2%)

Data are presented as mean±standard deviation, median (minimum to maximum) or counts (%)

Legenda: Sample profile of in situ primary cutaneous melanoma

References

1. Clark WH, Elder DE, Guerry D, Braitman LE, Trock BJ, Schultz D, et al. Model predicting survival in stage I melanoma based on tumor progression. J Natl Cancer Inst. 1989;81(24):1893-904.

2. Clemente CG, Mihm MC, Bufalino R, Zurrida S, Collini P, Cascinelli N. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in the vertical growth phase of primary cutaneous melanoma. Cancer. 1996;77(7):1303-10.

3. Calonje JE, Brenn T; Lazar A, Billings, S. Pathology of the skin. 3a ed. Londres: Elsevier; 2005.

4. Stravodimou A, Tzelepi V, Papadaki H, Mouzaki A, Georgiou S, Melachrinou M, et al. Evaluation of T-lymphocyte subpopulations in actinic keratosis, in situ and invasive squamous cell carcinoma of the skin. J Cutan Pathol. 2018;45(5):337-47.

5. Darvishian F, Ozerdem U, Adams S, Chun J, Pirraglia E, Kaplowitz E, et al. Tumor-Infiltrating Lymphocytes in a Contemporary Cohort of Women with Ductal Carcinoma In Situ (DCIS). Ann Surg Oncol. 2019.

5 CONCLUSÕES

O presente estudo faz parte de um projeto maior intitulado “Avaliação Imuno-Histoquímica da Nestina, VEGF-C e Endoglina em Melanomas Cutâneos Finos**”,** aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UFCSPA (Parecer N° 332.405). Desse projeto maior foi desenvolvida esta dissertação de mestrado, também aprovada no Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UFCSPA (Parecer N° 1.871.822).

Os Serviços de Cirurgia Oncológica e de Dermatologia da Santa Casa de Misericórdia são centros de referências no tratamento de pacientes com melanoma no estado do Rio Grande do Sul. O vínculo entre uma instituição de ensino, a UFCSPA, e um hospital que acolhe pacientes com Melanoma é extremamente promissor. A parceria entre dermatologistas, cirurgiões oncológicos, oncologistas e patologistas é de suma importância para o melhor acolhimento e tratamento desses pacientes e para o meioacadêmico.

O aprimoramento do conhecimento sobre a biologia tumoral e o sistema imune do indivíduo permitem uma melhor compreensão dos mecanismos de doença-tratamento, como também dos fatores prognósticos, contribuindo para um melhor desfecho para os pacientes.

Embora sem significância estatística, tendo em vista a raridade de frequência deste objeto em estudo e a dificuldade de se obter um número maior de casos (mesmo unindo casos de dois países), é possível considerar o ILT-p como um fator prognóstico protetor em MCPf metastáticos. Este fator já é observado em outras neoplasias sólidas. Desta forma, é intuito dos autores seguir a pesquisa em busca de um maior número de casos e da identificação do imunofenótipo do ILT através de análiseimunohistoquímica.

6 BIOGRAFIA

A autora dessa dissertação é médica formada pela Universidade Federal de Santa Maria em 2010; possui residência médica em Clínica Médica pelo Hospital Nossa Senhora de Pompéia (Caxias do Sul), em 2015; curso de especialização em Dermatologia pela Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA) em 2017, título de especialista em Dermatologia pela Sociedade Brasileira Dermatologia em 2017 e atualmente é preceptora voluntária dos serviços de Dermatologia da UFCSPA e da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul(PUCRS).

7 APÊNDICES

7.1 FICHA DE COLETA CLÍNICA

A seguinte folha de coleta clínica, partida do estudo-fonte, foi seguida para coleta de dados desta dissertação. Dados histológicos do tumor, como a leitura do ILT, fase de crescimento, subtipo, ulceração e Breslow, foram acrescentados.

Avaliação Imuno-Histoquímica da Nestina, VEGF-C e Endoglina em Melanomas Cutâneos Finos

PACIENTE CASO

Data do preenchimento:
Nome:
Idade no melanoma:
Idade na metástase:
Sexo: masculino ( ) feminino ( )
Fototipo:
Somente um melanoma? sim ( ) não ( )
Topografia da lesão primária:
Tipo de melanoma:
Dados do laudo (regressão, índice mitótico)
Topografia da metástase:
Observações:

Avaliação Imuno-Histoquímica da Nestina, VEGF-C e Endoglina em Melanomas CutâneosFinos

PACIENTE CONTROLE

Data dopreenchimento:
Nome:
Idadenomelanoma
Sexo: masculino ( ) feminino ()
Fototipo:

Somente um melanoma? sim ( ) não ( )

Topografia da lesãoprimária:

Tipo demelanoma:

Dados do laudo (regressão, índice mitótico)

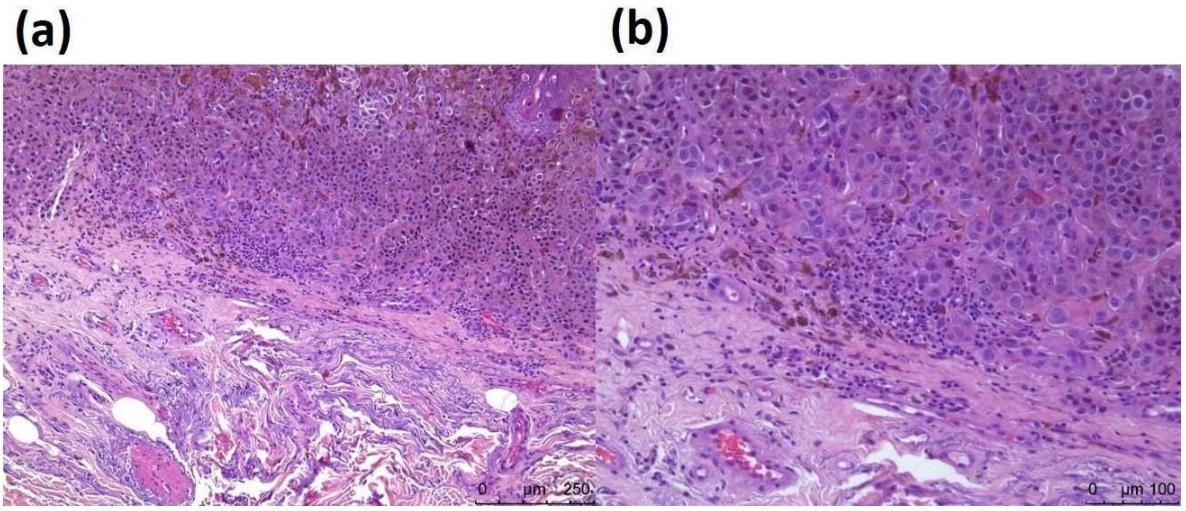
Observações:

7.2 ORIGEM DAS LÂMINAS E DOS DADOS CLÍNICO-HISTOPATOLÓGICOS

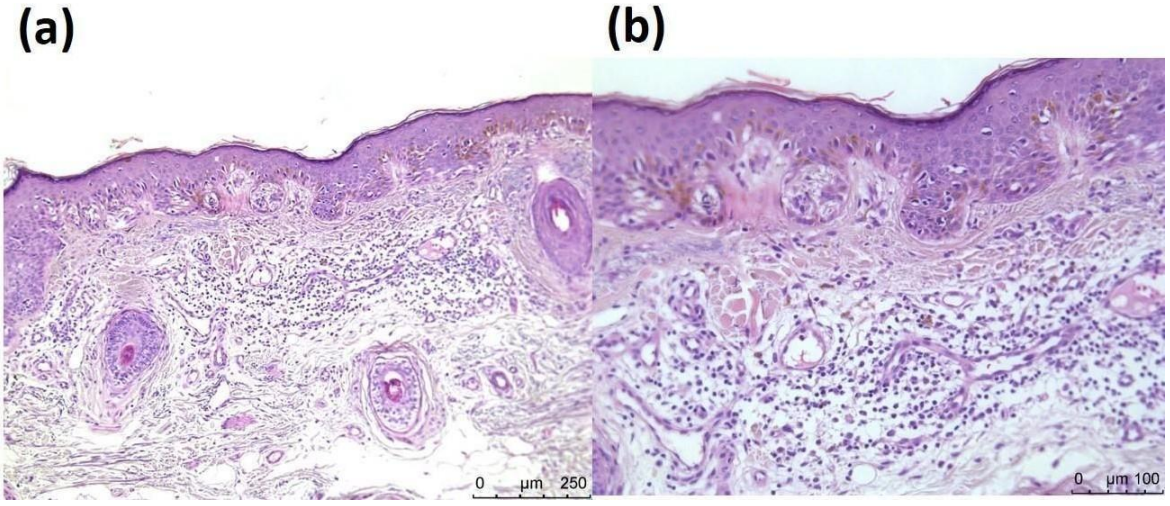
As lâminas de HE usadas no estudo pertencem a pacientes que realizaram cirurgia de ampliação do Melanoma no Hospital Irmandade Santa Casa de Misericórdia (Hospital Santa Rita), podendo ser oriundos do Laboratório de Patologia do Hospital São Lucas da PUCRS e dos seguintes laboratórios privados: LZ Patologia (Porto Alegre-RS), Pontifícia Universidade Católica-RS, CPEG (Porto Alegre-RS), Instituto de Patologia (Porto Alegre-RS) e Instituto Dermopático della Immacolatta (Roma, Itália).

7.3 FIGURAS

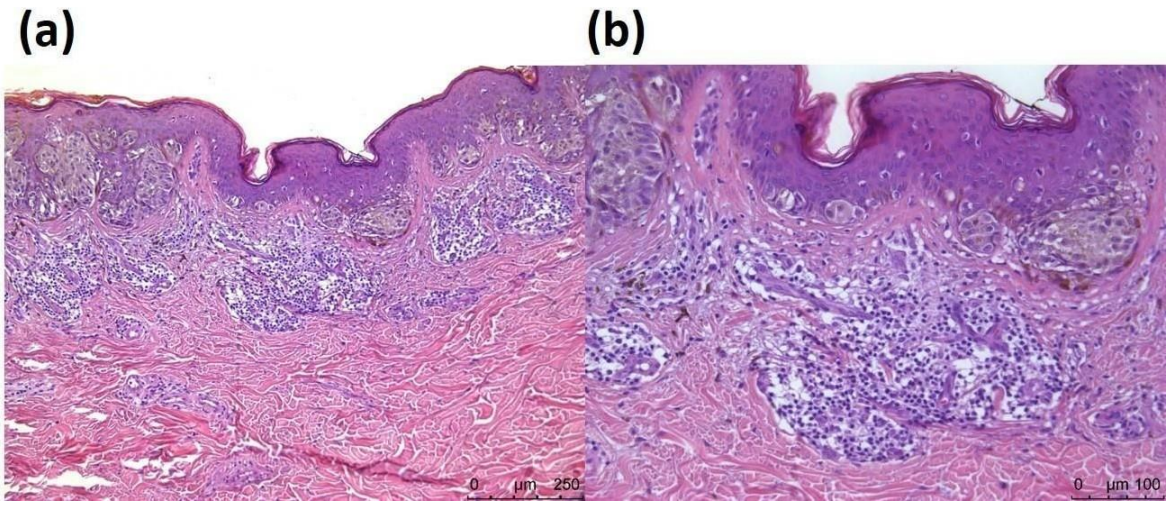
7.3.1 - Figura 1. ILT-p Leve: Hematoxilina-Eosina, em 10 X e em 20 X.



7.3.2 - Figura 2. ILT-p Moderado: Hematoxilina-Eosina em 10X e em 20X.



7.3.3 - Figura 3. ILT-p Marcado: Hematoxilina-Eosina em 10X e em 20X.



8 ANEXOS

8.1 PARECERES COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA (CEP)

8.1.1 Parecer estudo-fonte

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação Imuno-Histoquímica da Nestina, VEGF-C e Endoglina em Melanomas Cutâneos Finos

Pesquisador: Renan Rangel Bonamigo

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 12447213.8.0000.5345

Instituição Proponente: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 332.405

Data da Relatoria: 11/07/2013

Apresentação do Projeto:

O melanoma cutâneo é uma das neoplasias com maiores taxas de incidência no Brasil e no mundo e possuem importantes dados quanto aos seus índices de morbi-mortalidade.

As capacidades de invasão local e de produção de metástase são responsáveis pela morbidade e mortalidade do melanoma (Miller e MihmJr, 2006).

O êxito da metástase requer uma série ordenada de passos sequenciais, incluindo a separação de um grupo de células do tumor primário, a invasão e migração dentro da matriz extracelular, a entrada nos vasos linfáticos ou sanguíneos, entre outros (Poste, 1980). Buscamos verificar se melanomas finos apresentam marcadores possivelmente relacionados ao processo de metastatização.

Assim, melanomas que expressem precocemente marcadores relacionados à progressão (nestina),linfangiogênese (VEGF-C) e angiogênese (endoglina) possivelmente apresentem um perfil mais agressivo.

A identificação de pacientes neste subgrupo poderia ser benéfica, pois poderia ser oferecido um acompanhamento médico diferenciado aos mesmos.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a expressão dos marcadores nestina, VEGF-C e endoglina em lesões cutâneas de

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245
Bairro: **CEP:** 90.050-170
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3303-8804 **E-mail:** cep@ufcspa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE

melanomas cutâneos primários finos que cursaram com e sem metástases.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Em princípio, não são conhecidos riscos para este tipo de procedimento.

Benefícios:

A identificação de pacientes em um subgrupo com marcadores relacionados ao processo de metastatização poderia ser benéfica, pois poderia ser oferecido um acompanhamento médico diferenciado aos mesmos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Tem extrema relevância porque é uma das neoplasias com maiores taxas de incidência no Brasil e no mundo bem como seus altos índices de morbi-mortalidade.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos adequados.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As solicitações foram atendidas.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

De acordo com o Parecer do Relator.

PORTO ALEGRE, 12 de Julho de 2013

Assinador por:
José Geraldo Vernet Taborda
(Coordenador)

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245
Bairro: **CEP:** 90.050-170
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3303-8804 **E-mail:** cep@ufcspa.edu.br

8.1.2 Parecer deste estudo

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Avaliação Imuno-Histoquímica da Nestina, VEGF-C e Endoglina em Melanomas Cutâneos Finos

Pesquisador: Renan Rangel Bonamigo

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 12447213.8.0000.5345

Instituição Proponente: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.871.822

Apresentação do Projeto:

(Miller e MihmJr, 2006). O êxito da metástase requer uma série ordenada de passos sequenciais, incluindo a separação de um grupo de células do
tumor primário, a invasão e migração dentro da matriz extracelular, a entrada nos vasos linfáticos ou sanguíneos, entre outros (Poste, 1980). Há
uma lacuna de conhecimento quanto a biomarcadores que infiram a existência um processo de metatastização em melanomas finos.Objetivos:
verificar se melanomas cutâneos finos apresentam marcadores possivelmente relacionados ao processo de metastatização. Para isso, verificar a
expressão dos marcadores nestina (progressão), VEGF-C (linfangiogênese) e endoglina - CD105 (angiogênese) nestes melanomas cutâneos
primários com baixa espessura, diferenciando-os em relação à presença ou não de metástases.Metodologia: estudo caso-controle com pacientes
portadores de melanomas cutâneos primários finos, com e sem metastases, quanto à expressão imuno-histoquímica dos marcadores nestina, VEGF
-C e CD 105. Serão estudados 105 pacientes com melanomas cutâneos primários finos, sendo 21 casos (com metástases) e 84 controles (sem

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245
Bairro: Sarmento **CEP:** 90.050-170
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3303-8804 **E-mail:** cep@ufcspa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE

metástases).

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a expressão dos marcadores nestina, VEGF-C e endoglina em lesões cutâneas de melanomas cutâneos primários finos que cursaram com e sem metástases.

Avaliar a relação entre a presença de infiltrado linfocítico tumoral dérmico (TIL) nos melanomas cutâneos primários finos e a presença de metástases;

Avaliar o grau de intensidade do TIL nos melanomas cutâneos primários finos e a presença de metástases;

Relacionar a presença do TIL com os marcadores imunohistoquímicos (Nestina, VEGFc e Endoglina).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Em princípio, não são conhecidos riscos para este tipo de procedimento.

A identificação de pacientes em um subgrupo com marcadores imunohistoquímicos e de avaliação do TIL relacionados ao processo de metastatização poderia ser benéfica, pois poderia ser oferecido um acompanhamento médico diferenciado aos mesmos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Adequada para a proposta

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos obrigatórios foram apresentados.

Cronograma foi atualizado, conforme recomendação.

Recomendações:

Aprovar

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado

Considerações Finais a critério do CEP:

Cronograma atualizado conforme solicitação.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245
Bairro: Sarmento **CEP:** 90.050-170
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3303-8804 **E-mail:** cep@ufcspa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE

Continuação do Parecer: 1.071.022

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_815263_E2.pdf	20/11/2016 23:40:06		Aceito
Cronograma	cronogramaEmenda.docx	20/11/2016 23:39:43	Renan Rangel Bonamigo	Aceito
Outros	Solicitação Especial para Casos - Avallação Imuno-histoquímica da Nestina, VEGF-C e Endoglina em Melanoma RRB_MCWR.PDF	19/02/2015 15:30:22		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Anexo 2 - TC Corrigido - Avallação Imuno-histoquímica da Nestina, VEGF-C e Endoglina em Melanoma RRB MCWR.pdf	19/06/2013 09:09:52		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Avallação Imuno-histoquímica da Nestina,_VEGF-C e Endoglina em Melanomas _projeto_190613 CEP.docx	19/06/2013 09:09:00		Aceito
Outros	Carta ao CEP informando alterações solicitadas.docx	19/06/2013 09:08:17		Aceito
Outros	CL Lattes MCWR Fev 2013.pdf	15/02/2013 11:20:55		Aceito
Outros	Curriculo_Lattes RRB 2013.pdf	15/02/2013 11:20:26		Aceito
Outros	Anexo 5 - Termo de Compromisso de Entrega de Relatório - Avallação Imuno-histoquímica da Nestina, VEGF-C e Endoglina em Melanomas.pdf	14/02/2013 10:40:43		Aceito
Outros	Anexo 4 - Termo de Anuência do responsável pelo setor - Avallação Imuno-histoquímica da Nestiva, VEGF-C e Endoglina em Melanomas.pdf	14/02/2013 10:40:16		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Anexo 2 - Termo de Consentimento - Avallação Imuno-histoquímica da Nestina, VEGF-C e Endoglina em Melanoma.pdf	14/02/2013 10:39:47		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Avallação Imuno-histoquímica da Nestina,_VEGF-C e Endoglina em Melanomas _projeto_300113 CEP.docx	14/02/2013 10:37:23		Aceito
Folha de Rosto	Folha de Rosto - Avallação Imuno-histoquímica da Nestina, VEGF-C e Endoglina em Melanomas.pdf	14/02/2013 10:31:03		Aceito
Outros	Anexo 1 - Formulário de encaminhamento ao CEP - Avallação Imuno_histoquímica daNestina.	14/02/2013 10:25:37		Aceito

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245
Bairro: Sarmento **CEP:** 90.050-170
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3303-8804 **E-mail:** cep@ufcspa.edu.br

8.2 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) DO ESTUDO-FONTE

Para o presente estudo, o TCLE foi dispensado, pois utilizou os mesmos casos e controles do estudo fonte, fazendo apenas leitura das lâminas de HE já existentes. A seguir o TCLE do estudo-fonte.

Este TCLE foi elaborado para atender às diretrizes e normas da Resolução196/96 do CNS/MS e suas adequações.

"Você está sendo convidado(a) a participar da Pesquisa **"Avaliação Imuno-Histoquímica da Nestina, VEGF-C e Endoglina em Melanomas Cutâneos Finos**", sob responsabilidade do(s) pesquisadores(s) Renan Rangel Bonamigo e Maria Carolina Widholzer Rey.

A finalidade desta pesquisa é verificar se melanomas cutâneos de espessura fina apresentam marcadores possivelmente relacionados ao processo de formação de metástases (ou seja, de gravidade). Para isso, verificaremos a expressão dos marcadores nestina (relacionada à progressão da lesão), VEGF-C (relacionado à linfangiogênese, ou formação de vasos linfáticos) e endoglina - CD105 (relacionada à angiogênese, ou formação de vasos sanguíneos). Assim, melanomas que expressem precocemente estes marcadores possivelmente apresentem um perfil mais agressivo. A identificação de pacientes neste subgrupo poderia ser benéfica, pois poderia ser oferecido um acompanhamento médico diferenciado aos mesmos. Nesta pesquisa, caso concorde em participar, utilizaremos informações coletadas em uma conversa com você e lâminas de exames anátomo-patológicos que serão elaboradas a partir da lesão de pele que você já retirou. Em princípio, não são conhecidos riscos para este tipo de procedimento, ou seja, caso você concorde em participar desta pesquisa, não estará sujeito a riscos. Como benefício, identificamos a possibilidade de sua contribuição levar a identificação de pacientes que devem ser acompanhados mais rigorosamente pelo seu médico assistente. As informações necessárias serão coletadas em uma conversa que o pesquisador terá com você e as lâminas necessárias serão elaboradas pelo laboratório da Pós-Graduação da Universidade Federal de Ciências da Saúde. Não será necessário realizar seguimento durante a pesquisa. Mesmo assim, caso você tenha dúvidas sobre este projeto poderá entrar em contato com os pesquisadores para receber maiores esclarecimentos sobre a pesquisa. Neste caso, deverá contatar a pesquisadora Maria Carolina Widholzer Rey no telefone (51)99480264.

Estaremos disponíveis para esclarecer suas dúvidas sobre este estudo antes e durante o desenvolvimento desta pesquisa.

Esclarecemos também que você tem total liberdade de recusar-se a participar deste projeto ou de retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem nenhuma penalidade ou prejuízo pessoal ou de seguimento de seu tratamento. Além disso, garantimos o sigilo quanto às informações coletada para assegurar a sua privacidade quanto aos dados confidenciais envolvidos nesta pesquisa.

Os dados obtidos nesta pesquisa serão utilizados somente para este estudo.

Nomes dos pesquisadores:

Renan Rangel Bonamigo;

Maria Carolina Widholzer Rey – telefone (51) 99480264;
Dados para contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) responsável pela aprovação deste projeto de pesquisa – telefone (51) 3303-8804
"Eu_____recebi as informações sobre os objetivos da pesquisa de forma clara e concordo em participar do estudo. Data: _____
Assinatura doparticipante: _____
Assinatura dopesquisador: _____

8.3 NORMAS DA REVISTA

Disponível em http://www.anaisdedermatologia.org.br/pt-guia-autores