

Lista de Acrónimos

OMS – Organização Mundial de Saúde

WES – Whole – exome sequencing

BRAF – V –Raf Murine Sarcome Viral Oncogene Homolog B1

NRAS – Neuroblastoma RAS Viral (V-Ras) Oncogene Homolog

KIT – Receptor Tirosina-cinase

MAPK – Via de proteína cinase mitogénio- activado

MEK – Cinase regulada por sinal extracelular mitogénio- activado

ERK – Extracellular Signal- Regulated Kinase

NF1 – Neurofibromina

PI3K – Phosphatidylinositol 3-kinase

PTEN – Phosphatase and Tensin Homolog

AJCC – American Joint Committee of Cancer

CDKN2A – Cyclin-dependent kinase inhibitor 2a / gene supressor tumoral 1 major

TP53 – Gene supressor tumoral

BAP1 – BRCA1- associated protein-1

TERT – Telomerase reverse transcriptase

CCND1 – Ciclina D1

MC1R – Melanocortin 1 receptor gene

GNAQ – Guanine nucleotide-binding protein Q polypeptide

GNA11 – Parologue of GNAQ

SF3B1 – Splicing factor 3B subunit 1

WT – Wild-Type melanomas

Resumo

O melanoma é a principal causa de morte por cancro cutâneo. Desde o início do século XIV surgiu a necessidade de estabelecer sistemas de classificação vista a sua heterogeneidade comportamental e clínica. A classificação atual do melanoma baseia-se nas características clínicas, biológicas e histopatológicas dos melanomas, não tendo em conta aspetos etiopatogénicos e genéticos entretanto descobertos. Nesta medida o atual sistema de classificação pode agrupar tumores com comportamentos clínico-patológicos semelhantes mas geneticamente distintos. Como a classificação atual não conduz de forma precisa a uma estratificação terapêutica e prognóstica têm surgido diversas propostas para melhorar este sistema classificativo, introduzindo dados epidemiológicos e genéticos aos clássicos dados clínicos e histopatológicos. Nesta revisão, são sistematizados os estudos mais recentes sobre as novas abordagens na classificação do melanoma e é apresentada uma nova possibilidade de classificação afim de facilitar a estratificação terapêutica e prognóstica de cada subtipo de melanoma.

Palavras-chave:

“Melanoma”, “Classificação de melanoma”, “Mutações BRAF”, “Mutações NRAS”, “Mutações c-KIT”, “Mutações GNA11”.

Abstract

Melanoma is a leading cause of death from skin cancer. Since the beginning of XVIV century came the need to establish classification systems for this type of tumor that shows such a vast behavioral and clinical heterogeneity. Current melanoma classification is based on clinical, biological and histological aspects, disregarding etiopathogenic and genetic aspects discovered in the meanwhile. In this manner, the current classification system can reunite melanomas with similar clinical and pathological behaviors, although genetically distinct. As the current classification system is not very precise for a therapeutic and prognostic stratification, several new proposals have emerged to its improvement, introducing epidemiological and genetic data to the classic clinical and histopathological ones. In this review are systematized the most recent studies on new approaches in melanoma classification and is presented a new possibility of classification in order to facilitate the therapeutic and prognostic stratification of each melanoma subtype.

Key-words:

“Melanoma”, “Melanoma classification”, “BRAF mutations”, “NRAS mutations”, “c-KIT mutations”, “GNA11 mutations”.

Índice

1. Introdução.....	6
2. Objetivos	7
3. Material e métodos	7
4. Melanoma.....	8
4.1. Variantes atualmente reconhecidas	8
4.2. Variantes menos comuns	11
5. Evolução histórica.....	14
6. Aspectos moleculares dos principais tipos de melanoma	17
7. Propostas futuras para uma nova classificação	25
8. Conclusões	26
9. Bibliografia.....	29

1. Introdução

O melanoma cutâneo é atualmente considerado um tumor agressivo da pele, com poucas alternativas terapêuticas nas formas metastáticas e cuja incidência está em crescimento exponencial a nível mundial.^{1,2}

Apesar de representar aproximadamente 10% de todas as neoplasias da pele o melanoma cutâneo é responsável por aproximadamente 75% de todas as mortes.^{1,2} Segundo uma estimativa feita pela American Cancer Society, 76100 doentes esperam ser diagnosticados com melanoma e 9,710 doentes podem vir a morrer dessa doença em 2014.³

A maioria dos melanomas ocorre nos epitélios estratificados.² Porém, também pode ocorrer noutras localizações, incluindo tecidos não epiteliais, como é o caso, entre outros, do melanoma uveal.² O melanoma cutâneo surge da transformação maligna dos melanócitos – células que sintetizam a melanina.² A interação entre fatores genéticos e ambientais está na base do seu desenvolvimento sendo o peso destes fatores variável de acordo com a localização.²

Hoje em dia, a classificação do melanoma baseia-se em aspetos biológicos, clínicos e histopatológicos, originando subgrupos histológica e clinicamente distintos.² Porém, este tipo de classificação tem algumas limitações, como por exemplo a subjetividade entre observadores aquando de uma avaliação anatomo-patológica.^{2,4-6} Além disso, as classificações atuais pouco privilegiam o prognóstico e tratamento seletivo para cada melanoma², numa era cada vez mais relevante de terapêutica dirigida.⁷

Com o avanço na tecnologia e das técnicas de estudo genómico tem-se vindo a verificar aspetos moleculares e genéticos que aproximam os melanomas de acordo com o tipo de mutação genética em causa e da sua evolução comportamental, agrupando-os em classes mais homogêneas quanto ao seu prognóstico e alvo terapêutico.³

2. Objetivos

O objetivo deste trabalho é compilar a informação atualizada acerca da classificação do melanoma, com uma reflexão final acerca das novas possibilidades da classificação influenciada pelas propriedades genéticas do tumor.

3. Material e métodos

Foram selecionados os artigos mais recentes, tendo como referência temporal os últimos 4 anos, com exceção da informação contida nos pontos 4 e 5 sobre os quais baseei-me em artigos para além do limite temporal anteriormente referido. A pesquisa foi feita na base de dados PubMed, com os seguintes termos em inglês:

1. Melanoma classification
2. Melanoma subtypes
3. BRAF
4. NRAS
5. c- KIT

4. Melanoma

4.1. Variantes atualmente reconhecidas

Existem quatro tipos clínico-histológicos principais de melanoma: o de crescimento superficial; o melanoma nodular; o melanoma lentigo maligno e o melanoma acral lentiginoso.⁸

O melanoma de crescimento superficial é o tipo de melanoma cutâneo mais comum, abrangendo aproximadamente 70% de todos os melanomas primários em caucasianos.⁸ Incide, maioritariamente, entre a 4ª e 5ª década de vida, podendo surgir em qualquer parte do corpo, mas mais frequentemente nas extremidades inferiores nas mulheres e no tronco nos homens, lugares onde a pele se encontra exposta à irradiação solar e mais concretamente em zonas de exposição intermitente.^{8,9}

É um melanoma de crescimento lento e radial, de contornos irregulares e de pigmentação variada, surgindo na maioria das vezes de novo, embora por vezes possa ter origem num nevo pré-existente.^{8,9} O número e tamanho dos nevos pré-existentes contribuem fortemente para o risco de desenvolvimento deste tumor.⁸

A nível histológico a sua componente epidérmica adquire um padrão pagetóide envolvendo todas as camadas da epiderme.¹⁰ A sua extensão lateral nem sempre é claramente definida.¹⁰ As células epidérmicas do melanoma tendem a ser grandes com citoplasma abundante e eosinófilo, núcleos grandes e vesiculares e nucléolos eosinófilos e proeminentes¹⁰. A sua componente dérmica também pode apresentar um agrupamento de células de vários tamanhos, sendo a sua citologia semelhante com a da componente epidérmica.¹⁰

O melanoma nodular é o segundo tipo de melanoma mais comum, abrangendo 10-15% de todos os melanomas. É um melanoma de crescimento vertical rápido, com maior incidência na 5ª década de vida e de predomínio masculino.^{8,9} Atinge preferencialmente o tronco, a cabeça e o pescoço.^{8,9}

Normalmente desenvolve-se em pele sem história de nevos pré-existentes.^{9,10} São frequentemente melanomas ulcerados e erroneamente diagnosticados como neoplasias vasculares ou carcinomas basocelulares quando amelanóticos.⁹ Também, podem surgir como uma superfície nodular lisa ou uma placa elevada de contornos irregulares.^{9,10} Os melanomas polipoides são considerados uma variante dos melanomas nodulares.⁹

Os melanomas de crescimento nodular não têm um crescimento radial. Uma vez invadida a derme, estima-se uma fase de crescimento vertical rápida e com um índice de metastização maior, podendo ser por isso indistinguíveis dos melanomas de crescimento superficial com invasão dérmica. Na epiderme existem melanócitos epitelioides com citoplasma abundante, núcleos vesiculares e nucléolos proeminentes, sendo que as células pagetóides são mais abundantes que no melanoma de crescimento superficial. Na derme conseguem-se observar grandes ninhadas dérmicas e melanócitos com atipia celular. Os melanócitos dérmicos são grandes com nucléolos eosinófilos proeminentes. São, ainda, frequentes as diferentes morfologias histológicas dos melanócitos na derme.¹¹

Na maioria dos casos, o diagnóstico desse subtipo não é difícil vista a extensão da componente dérmica e a marcada atipia que os caracteriza. Contudo, quando as características citológicas são mais subtis o diagnóstico pode se tornar desafiante.¹¹ Por definição, não existe extensão lateral da componente intra-epidérmica nesses tumores, o

que lhes confere um padrão arquitetônico bem definido, muitas vezes simétrico, algo que os distingue do melanoma de crescimento superficial.^{10,11} Uma vez corrigida a influência da espessura, o prognóstico desses tumores assemelha-se ao dos melanomas de crescimento superficial.¹¹

O melanoma lentigo maligno engloba 5-10% de todos os melanomas.⁸ É visto maioritariamente em pessoas de idade avançada (aproximadamente na 8ª década de vida) e atinge maioritariamente áreas de exposição actínica crónica como a face (nariz e área geniana) e pescoço.⁸ Está associado a exposição solar crónica.⁸

Estes tumores surgem numa pele com marcada elastose solar e outras características de dano solar crónico, constituindo um dos maiores riscos para o seu desenvolvimento.^{8,9} A sua distinção da hiperplasia melanocítica por dano solar/ “melanocitose actínica” poderá ser difícil.¹¹ Esta lesão é considerada uma lesão de crescimento lento, podendo levar até décadas até invadir a derme papilar.⁹

Histologicamente é caracterizado por uma proliferação predominante e única de células, localizadas nas camadas basais da epiderme, descrita como padrão lentiginoso,¹⁰ frequentemente em pele com atipia epidérmica e elastose solar dérmica severa. As células tumorais têm grandes núcleos densamente cromáticos e são ocasionalmente multinucleados podendo assemelhar-se a uma linha contínua de células melanocíticas¹⁰. A sua extensão prolonga-se até ao epitélio folicular, mantendo a sua proximidade com a camada basal.¹⁰ Pode-se observar também uma disseminação pagetóide, apesar de mais subtil em comparação com a do melanoma de crescimento superficial.¹⁰ O componente dérmico invasivo pode exibir células tumorais pigmentadas

e fusiformes podendo ainda apresentar características semelhantes às observadas no melanoma de crescimento superficial e nodular.¹⁰

Por fim, o melanoma acral lentiginoso representa 2-8% de todos os melanomas em caucasianos. Porém é o tipo de melanoma mais comum (30-70%) entre doentes asiáticos, de origem hispânica e de descendência africana, tendo no entanto uma menor incidência de na generalidade dessas etnias.⁹ Incide na 7ª década de vida.⁸

O melanoma acral lentiginoso ocorre em pele glabra e pele adjacente dos dedos, face palmar e plantar.⁹ Na face plantar o calcanhar está frequentemente atingido⁹. O leito ungueal do dedo indicador do pé é frequentemente atingido, com predomínio em doentes de idade avançada e do sexo feminino.⁹ Contudo uma localização nas extremidades ou até mesmo no leito ungueal não é específica do melanoma acral, outros tipos de melanoma poderão estar envolvidos.⁹

É um tumor de crescimento lento e de pigmentação variada.⁹ A nível histológico caracteriza-se pela migração pagetóide extensa.¹⁰ Os melanócitos apresentam-se como ninhadas e células isoladas atípicas ao longo da junção dermo-epidermóide,¹⁰ em associação muitas vezes com um infiltrado linfocítico presente. A atividade mitótica varia.^{9,11}

4.2. Variantes menos comuns

Para além dos 4 principais tipos de melanoma existem outras variantes, menos comuns, muitas vezes mal diagnosticadas, apesar de serem igualmente prejudiciais quanto ao seu prognóstico.¹¹ Entre elas encontra-se o melanoma desmoplásico, o melanoma das

mucosas, o melanoma ocular, o melanoma nevíde e o melanoma osteóide entre outros.¹¹

Fazendo apenas uma breve referência a alguns, o **melanoma ocular** divide-se em dois grandes grupos: conjuntivo e uveal.¹² Por sua vez, o melanoma uveal subdivide-se em uveal anterior – com origem na íris- ou uveal posterior – com origem no corpo ciliar ou coróide.¹² O melanoma uveal abrange aproximadamente 90% dos melanomas oculares¹³, enquanto que o melanoma da conjuntiva abrange 5% a 10%.¹² O melanoma da conjuntiva ocorre com maior frequência na população caucasiana, entre os 50 e 70 anos de idade.¹² Tem um índice elevado de recorrência local e uma elevada mortalidade nos tumores com origem caruncular, forniceal ou palpebral.¹² Aproximadamente 45% a 74% dos melanomas da conjuntiva surgem num contexto de melanose adquirida e 5% a 21% têm antecedentes de um nevo conjuntival benigno, podendo, no entanto surgir de novo (18%-30%).¹²

Os **melanomas das mucosas** fazem parte de cerca de 1,3% - 1,4% de todos os melanomas, 25% a 50% dos quais ocorrem na região da cabeça e pescoço. Tem uma apresentação mais tardia que os melanomas com origem cutânea. Com exceção da região bucal, não existe preferência racial para o melanoma das mucosas (1,3% dos melanomas nos caucasianos e 11,8% dos melanomas na raça negra). Dada a sua apresentação em localizações pouco visíveis e bastante irrigadas na maioria dos casos o diagnóstico é feito num estágio avançado de doença e assim associa-se a um maior índice de mortalidade em comparação com os melanomas cutâneos. Este tipo de tumores têm origem nos melanócitos presentes nas mucosas, não sendo a exposição solar considerada um fator etiológico. Contudo, agentes irritativos e carcinogénicos, como fumo do tabaco e formaldeído poderão ser implicados no desenvolvimento dos

melanomas das mucosas da cabeça e do pescoço. Cerca de 1/3 dos melanomas das mucosas na cavidade oral são precedidos de melanose oral.^{14,15}

O **melanoma maligno primário do trato sino-nasal** é uma variante rara de melanoma das mucosas que se desenvolve na cavidade nasal, na nasofaringe ou seios perinasais podendo depois estender-se para vários compartimentos. Correspondem a cerca de 0,3% a 2% de todos os melanomas malignos e aproximadamente 4% dos melanomas da cabeça e pescoço. Apresenta um comportamento neoplásico mais agressivo e tem um prognóstico mais pobre de outros tipos de melanoma, com um controlo clínico bastante ineficaz utilizando os tratamentos actuais.¹⁶

O **melanoma desmoplásico** é uma variante relativamente incomum de melanoma (menos que 4% dos melanoma cutâneos primários) associada a exposição solar ultravioleta crónica em pessoas idosas, com uma média de idade de diagnóstico de 66 anos e que contribui para o seu padrão de distribuição: 51% na cabeça e pescoço, 30% nas extremidades e 17% no tronco. Existe, ainda, uma maior tendência para aparecer no sexo masculino (2:1) em comparação com os melanomas não desmoplásicos (1,3:1). Distingue-se dos outros subgrupos pelas suas características dérmicas e pela sua maior tendência para o crescimento local persistente e menos frequentes metástases locais. Pode surgir de novo ou em associação com outros subtipos de melanoma, mais frequentemente o melanoma lentigo maligno. Um diagnóstico atempado em fases precoces poderá vir a ser desafiante, visto serem melanomas frequentemente amelanóticos (46,2% a 93%), com uma componente dérmica predominante. Clinicamente, apresenta-se como placas ou nódulos amelanóticos ou como lesões cicatriciais. Já foram, também, descritos melanomas desmoplásticos acrais e das mucosas. Pode se subdividir em puro (a maioria - 90%) ou misto, de acordo com a sua

percentagem na totalidade ou em parte, aquando da invasão dérmica. A sobrevivência aos 5 anos para o melanoma desmoplásico ronda os 67% e 89%. Histologicamente caracteriza-se por células afuniladas e separadas por uma desmoplasia estromal.¹⁷

5. Evolução histórica

O melanoma como entidade patológica foi reconhecido pelo clínico francês Rene Laenderer no início do século XVIII.¹⁸

Em 1892, o cirurgião britânico Jonathan Hutchinson observou que lesões pigmentadas poderiam surgir durante a vida adulta (e não somente de um nevo precursor) nomeando-as de ‘sardas senis’ e mais tardiamente por *lentigo melanosis* (o equivalente do lentigo maligno). Pouco tempo depois, em 1912, Dubreuilh renomeou as lesões descritas por Hutchinson, passando a serem chamadas por melanose circunscrita pré-cancerosa, adicionando, ainda, informações mais detalhadas no que poderia vir a ser a primeira classificação formal de melanoma, de acordo com a lesão precursora que lhe deu origem (nevo precursor, adquirido durante a vida adulta e melanoma em pele sem lesão prévia). Em 1967, Wallace Clark veio a alterar esta classificação baseando-se em dados histopatológicos como as características da componente tumoral intra-epidérmica adjacente a qualquer componente dérmica invasiva sugerindo ainda a sua distinção prognóstica. Esta classificação, ainda utilizada na versão atual de classificação de melanoma pela OMS, dividia o melanoma em 3 grandes grupos: o melanoma de crescimento superficial, o melanoma lentigo maligno e o melanoma acral nodular. Os principais aspetos histológicos que distinguiam cada subtipo incluíam aspetos da arquitetura do melanoma in situ, nomeadamente o seu nível de crescimento pagetóide ou lentiginoso, e algumas características não tumorais como a espessura da epiderme e a

presença ou não de elastose solar. Ainda, aspetos clínicos como a idade do doente e a localização anatómica do tumor foram tidos em conta. Em 1972, em Sidney, numa conferência de um grupo de patologistas dirigida por Vincent McGovern chegaram a um novo acordo quanto a classificação histopatológica de melanoma. Esta classificação, publicada em 1973, baseava-se na proposta original de Clark e dividia o melanoma em não invasivo (lentigo maligno e melanoma de crescimento superficial) e melanoma invasivo (melanoma invasivo com componente intraepidérmica do tipo lentigo maligno, melanoma invasivo com uma componente intraepidérmica do tipo crescimento superficial e melanoma invasivo sem componente intraepidérmica). Em 1977, Reed e colegas introduziram o conceito de melanoma acral actualmente conhecido como acral lentiginoso.¹⁸

Dez anos depois, na revisão da classificação de melanoma de 1972, em Sidney, Austrália, e publicada em 1986, introduziram-se novas categorias como o melanoma com uma componente adjacente do tipo acral lentiginoso, das mucosas e do tipo não classificado.¹⁰ Desde então foram descritos vários outros subtipos distintos como o melanoma desmoplásico, o melanoma nevíde e o melanoma em associação com o nevo azul.¹⁸

A versão atual de classificação de melanoma (2006) segundo a OMS inclui os grandes quatro subgrupos – melanoma de crescimento superficial, melanoma lentigo maligno, melanoma nodular e melanoma acral lentiginoso- juntamente com 6 outros tipos menos comuns, o melanoma desmoplásico, o melanoma com origem no nevo azul, o melanoma com origem no nevo congénito, o melanoma da infância, o melanoma nevíde e o melanoma persistente (Tabela 1).¹⁸

Contudo e apesar da classificação tradicional se basear na divisão do melanoma de acordo com as características clínicas e patológicas de cada subtipo, hoje em dia, esta informação pouco influencia a decisão terapêutica e o controle da doença. Além disso, o subtipo não influencia o tratamento e o prognóstico é maioritariamente determinado pela espessura da invasão tumoral, entre outras componentes como o índice mitótico, presença ou não de ulceração, localização anatômica, gênero e idade.¹⁸

Na última década, e depois da descoberta de mutações BRAF frequentes no melanoma houve um grande avanço quanto ao seu estudo genético e mutacional.¹ Notavelmente, estudos recentes de sequenciação do genoma inteiro (WES) demonstraram que o melanoma tem um dos rácios mais elevados de mutações somáticas dentro de todos os cancros.³ Assim, tem-se identificado subgrupos de melanomas que partilham um mecanismo molecular patogénico comum e que se comportam de forma semelhante.¹⁸ A presença de mutações BRAF, em 35 % a 50% dos melanomas e NRAS em 10% a 25% dos melanomas levaram ao desenvolvimento de inibidores seletivos das suas vias de sinalização, com uma boa resposta terapêutica, apesar de curta.^{7,19} Mutações em proteínas como a RAF, RAS, MEK, ERK, em genes supressores tumorais como PTEN, p16 e p14 e a subsequente ativação ou desativação de vias moleculares responsáveis pela proliferação tumoral e tumorigénese, como MAPK, PI3K – Akt e CDKN2A têm sido alvo constante de estudo com o objetivo de reunir num grupo, doentes que beneficiariam de uma terapêutica específica (como por exemplo, inibidores BRAF e c-KIT específicos) dada a falta de terapias sistémicas eficazes como tratamento do melanoma até a data.^{1,2}

- Melanoma de crescimento superficial
- Melanoma Nodular
- Melanoma lântigo maligno
- Melanoma acral letiginoso
- Melanoma desmoplásico
- Melanoma com origem num nevus azul
- Melanoma com origem num nevus congénito
- Melanoma da infância
- Melanoma nevóide
- Melanoma persistente

Tabela 1 - Os actuais subtipos de melanoma segundo a publicação de 2006 pela OMS.¹⁸

6. Aspetos moleculares dos principais tipos de melanoma

Começando pela mutação no gene B-RAF, as mutações BRAF já foram descritas como sendo o evento genético mais detetado no melanoma cutâneo.³ A sua descoberta, há cerca de uma década, foi a “chave” para o mundo genómico do melanoma e tudo o que ele envolve, confirmando, hoje, a sua presença entre os 40% a 60% de todos os melanomas cutâneos, com 90% desses a transportarem uma substituição T para A no codão 600.^{2,6} A mutação ativadora BRAF mais frequente (aproximadamente 75%) traduz a substituição do aminoácido valina por ácido glutâmico, BRAF ^{V600E}, sendo a segunda mais frequente a mutação V600K que poderá representar até 19% dos melanomas e consiste na substituição por lisina.² Já foram identificadas 20 mutações BRAF não V600, sendo as mais frequentes: G469E, G469R e K601E.³ Ao nível morfológico, os melanomas com mutações BRAF demonstram características específicas distintas como células melanocíticas maiores, mais redondas e mais pigmentadas, uma extensão pagetóide aumentada, espessamento da epiderme envolvida e uma demarcação mais afiada da pele envolvente.^{6,20} A prevalência das mutações BRAF varia de acordo

com a localização anatômica dos melanomas. Tem uma maior prevalência nos melanomas de crescimento superficial (63.2%), seguida dos melanomas nodulares (50.4%), de lentigo maligno (20%), acrais lentiginosos (19%) e numa menor percentagem (7%) no melanoma das mucosas.^{19,20}, não sendo comum nos melanomas das mucosas da cabeça e pescoço (Figura 2-5).²¹ Contudo e apesar da alta prevalência das mutações BRAF nos melanomas, as mesmas já foram identificadas em nevos melanocíticos, o que poderá sugerir a necessidade de uma segunda mutação na transição para o melanoma.^{6,22} Apesar disso, a utilização de inibidores BRAF já comprovou a sua eficácia no aumento da sobrevida dos doentes tratados.^{23,24} Estudos recentes indicam que a mutação no oncogene BRAF é um evento precoce no desenvolvimento do melanoma, não havendo correlação entre o espessamento do mesmo e a presença da mutação, apesar da sua maior frequência em metástases.^{20,24} Contudo existe alguma controvérsia quanto a esse facto, com alguns estudos a relatar o contrário, ou seja, o “ganho” da mutação no decurso de metástases.²⁵ Esta heterogeneidade no comportamento do melanoma durante a sua evolução de lesão primária à metastática dificulta por um lado a nossa percepção quanto ao seu verdadeiro comportamento mutacional, mas por outro enfatiza o valor de um estudo multigénico de cada lesão para uma abordagem terapêutica multidirigida e, eventualmente, mais eficaz.^{1-3,7} Genes como TP53 (gene muito associado com um fenótipo por radiações ultravioleta, prevalente nos melanomas cutâneos e nos melanomas da cabeça e pescoço^{3,13}) e perdas de função dos genes CDKN2A, NF1 e PTEN já foram associados de interagirem com mutações BRAF em vias de senescência e proliferação.^{2,6,7,22} Ainda, numa experiência num modelo de laboratório a combinação PTEN e BRAF V600E revelou um comportamento clínico agressivo com múltiplas metástases e tumores avançados localmente.² Uma possível correlação entre a perda de função de BAP1, mutações

BRAF V600E e lesões melanóticas atípicas do tipo Spitz, também, já foi considerada⁷. Da mesma forma, a associação entre o gene BRAF e a sobreexpressão da ciclina D1 poderá estar envolvida no melanoma metastático.⁷ Um dado interessante quanto as mutações BRAF no melanoma é o facto de estas não possuírem um comportamento típico de exposição crónica às radiações ultravioleta (por exemplo transições C para T - de realçar a importância do gene TERT com a exposição a radiações UV, um possível futuro alvo terapêutico^{7,21}) o que poderá sugerir uma via independente de radiação para a progressão do melanoma maligno.⁷ Polimorfismos no gene MC1R, gene da tirosina – enzima responsável pela produção de melanina - poderão estar envolvidos nesse fenómeno.⁷ Existe uma maior prevalência das mutações BRAF em pele com dano solar por exposição aguda intermitente, nomeadamente, em melanomas do tronco (63.9%), das extremidades (50%) ,com exceção da mão e pé, e da cabeça e pescoço (46.2%) e em doentes jovens (<55 anos de idade) e sem elastose solar proeminente.^{1,20,22} Por outro lado, o subtipo de mutações BRAF V600K é mais prevalente em doentes de idades avançadas, em melanomas da cabeça e pescoço, traduzindo uma relação com pele exposta a dano solar crónico, nomeadamente, os melanomas de lentigo maligno.^{1,22} Quanto ao prognóstico, um estudo feito em doentes do sul da Alemanha com um limite de idade inferior aos 55 anos encontrou um aumento da sobrevivência significativo em 69% dos doentes com mutações BRAF positivas e uma tendência de metástases aos gânglios linfáticos regionais.²⁶ Apesar disso, a relação das mutações BRAF com o prognóstico é complexa.²⁷ O subtipo BRAF V600K, segundo alguns estudos, tem um índice metastático maior.²⁸

O segundo maior subgrupo mutado é a família RAS, da qual fazem parte N-RAS, H-RAS e K-RAS.¹⁹ NRAS é o segundo oncogene mais mutado no melanoma e encontra-

se em 15% a 20% dos casos.^{2,27} A mutação Q61 (exão 2) é a mutação mais prevalente neste grupo, seguida da mutação G12/13.^{3,19} A sua presença está associada a uma maior espessura tumoral, aparecimento tardio, doentes de idades mais avançadas e com maior frequência nos melanomas cutâneos localizados nas extremidades.^{24,27} A sua prevalência nos melanomas das mucosas e acrais (com uma maior frequência no melanoma ungueal – genes como AURKA, TERT, CDKN2A e CCND1 foram fortemente implicados no melanoma acral lentiginoso, no qual as mutações BRAF são mais raras)^{29,30}, demonstra ser igual ou ligeiramente inferior quando em comparação com a dos melanomas cutâneos^{21,27}. Contudo o seu espectro de mutação difere de acordo com a localização do melanoma, sendo por exemplo diferente quando se trata de melanomas do trato sino-nasal (mutações NRAS localizadas no codão G12/13) em comparação com os melanomas cutâneos (mutações frequentemente localizadas no codão Q61).^{21,31} Tal como as mutações BRAF, NRAS não possui um fenótipo de dano por radiações ultravioleta proeminente. Contudo as mutações NRAS aparentam estar mais frequentemente associadas a melanomas em pele com dano solar crónico, constante ao longo da vida, ao contrário das mutações BRAF.^{6,27} A semelhança das mutações BRAF, as mutações NRAS também não são suficientes por si só da transformação maligna. Estudos revelam a necessidade da perda concomitante de função de p16^{2,6,7}, um gene supressor tumoral, para o desenvolvimento do melanoma, sendo por isso provavelmente um evento precoce no seu desenvolvimento, confirmado pela sua presença em nevos congénitos.²⁷ Por outro lado, já foi estudada uma possível relação entre o silenciamento do locus p16INK4 – proteína reguladora da atividade do ciclo celular encontrada até 10% nos melanomas hereditários- e o melanoma maligno NRAS positivo.⁷ As mutações NRAS quase nunca ocorrem em simultâneo com as BRAF.^{7,19} Contudo, mutações BRAF do tipo não V600 poderão estar a cooperar com

as mutações RAS na ativação da via MAPK, vista a sua maior co-ocorrência em certos ensaios clínicos.³ Por último, a mutação NRAS demonstra certa discrepância entre etnias; é menos frequente na população asiática, na qual prevalece o subtipo Q61 em zonas sem exposição solar.³²

Um outro gene frequentemente mutado é o gene KIT. O envolvimento do gene KIT no desenvolvimento do melanoma já é conhecido de longa data,⁶ prevalecendo as mutações no exão 11 (L576P) e exão 13 (K642E). A presença de mutações KIT ou a sua amplificação é observada em 10% a 30% dos melanomas das mucosas, 20% dos melanomas acrais, portanto numa maior percentagem em pele não exposta a radiações UV e em 2% a 17% nos melanomas em pele com dano actínico crónico (Figura 4 e 5).² São mutações pouco frequentes nos melanomas da conjuntiva.³³ Vista a maior prevalência de mutações KIT nos melanomas acrais e das mucosas e a baixa prevalência de mutações NRAS nesses dois subtipos, é sugestivo que as mutações KIT excluem-se mutuamente com a presença de mutações BRAF e NRAS.³⁴ Dentro dos melanomas das mucosas a frequência da mutação KIT varia de acordo com a região anatómica do melanoma, sendo mais baixa (cerca de 10%) no caso dos melanomas do trato sino-nasal^{21,27} e mais alta (até 39%) no caso dos melanomas vulvares, apesar de não ser comum nos melanomas vaginais sugerindo uma possível diferença biológica dos mesmos.³⁵ Os melanomas do trato sino-nasal como já mencionado anteriormente, têm uma variabilidade oncogénica distinta dos restantes melanomas das mucosas, vista uma frequência inferior de mutações BRAF e KIT e uma alta prevalência de mutações NRAS contudo com padrões mutacionais distintos dos encontrados nos melanomas cutâneos.^{14,21,31} Contudo, a identificação das mutações KIT como um promotor

oncogénico já está bem estabelecida quanto aos melanomas extracutâneos, sendo um possível alvo terapêutico nesses casos.³⁶

Por último, as mutações ativadoras GNAQ e GNA11 estão presentes em aproximadamente 50% dos melanomas uveais (Figura 6). O melanoma uveal pode-se dividir em duas classes de acordo com o seu perfil genético. Na classe 1, com um prognóstico mais favorável, enquadram-se mutações no gene SF3B1 (20%) e na classe 2, associada a um prognóstico menos favorável, a monossomia 3 e a inativação de BAP1.¹³ Estas mutações raramente são vistas em melanomas cutâneos.^{13,34} As mutações GNAQ e GNA11 também estão presentes em 80% dos nevus azuis. Contudo já foi demonstrado um padrão mutacional diferente entre estes e os melanomas uveais com uma maior prevalência da mutação GNAQ Q209 (exão 5) nos nevus azuis e a mutação GNA11 Q209 mais frequentemente encontrada em metástases do melanoma uveal.²⁷ Os melanomas da conjuntiva, por outro lado, abrangem um perfil mutacional semelhante ao do melanoma cutâneo, com mutações ativadoras frequentes de BRAF, NRAS, perdas de função de PTEN, CDKN2A e mutações TERT, ausentes nos melanomas uveais¹³. Uma descoberta importante, segundo um estudo genómico a presença de uma subdivisão transcriptómica enriquecida com expressões de genes imunes associados a infiltrados linfocíticos, na revisão patológica, e alta expressão da proteína LCK (marcador de células T) demonstra uma melhoria na sobrevivência dos doentes, podendo, por isso, haver uma correlação entre a invasão imune e um prognóstico mais favorável indiferente do subtipo genómico, confirmado pelo benefício clínico observado aquando da administração de altas doses de IL-2, um factor de crescimento de células T usado como agente terapêutico no melanoma avançado.¹⁹

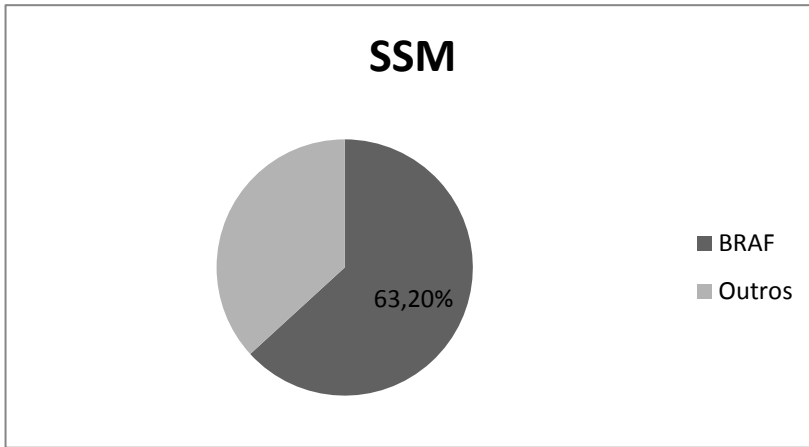


Figura1- Frequência mutacional no melanoma de crescimento superficial (SSM - Superficial Spreading Melanoma)

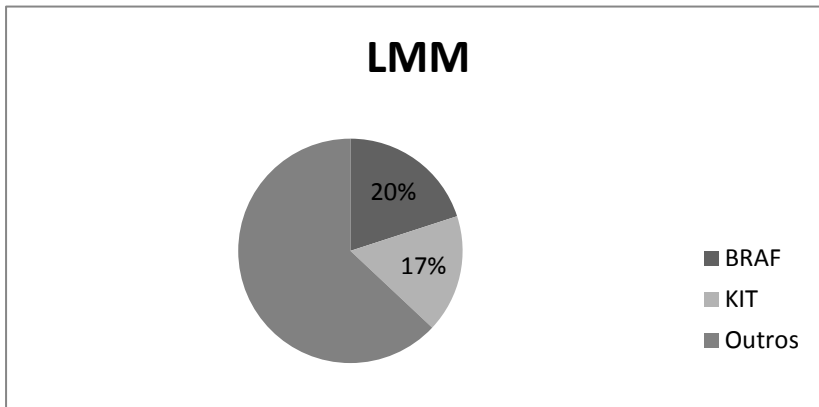


Figura 2- Frequência mutacional no melanoma Lêntigo Maligno (LMM - Lentigo Malignant Melanoma)

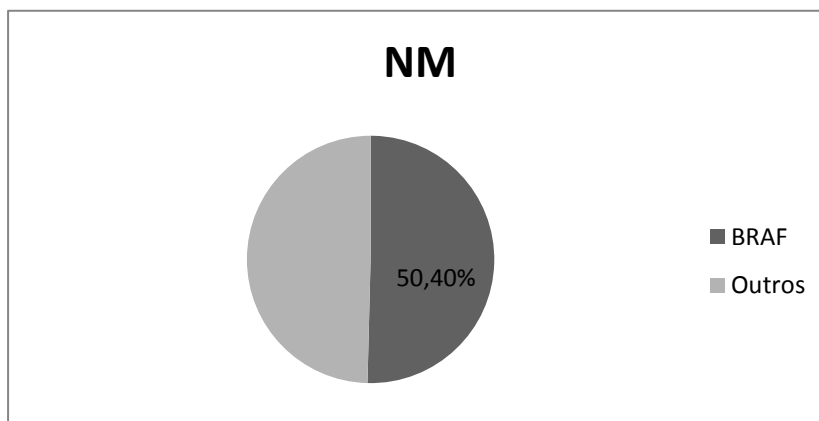


Figura 3- Frequência mutacional no melanoma Nodular (NM- Nodular Melanoma)

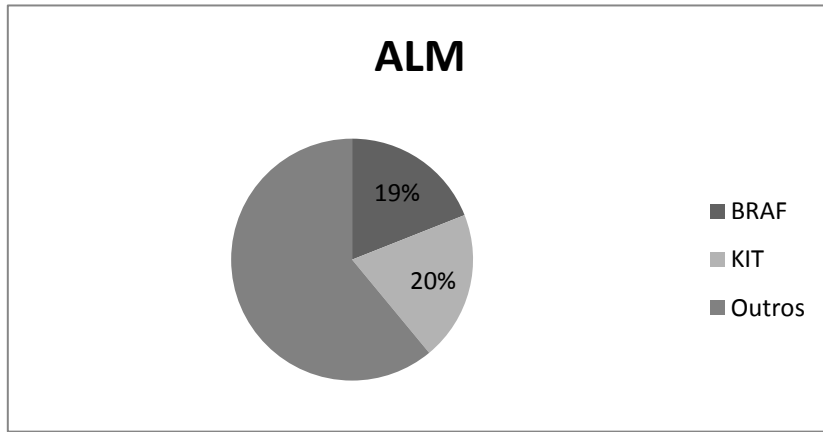


Figura 4- Frequência mutacional no melanoma acral lentiginoso (ALM- Acral lentiginous melanoma)

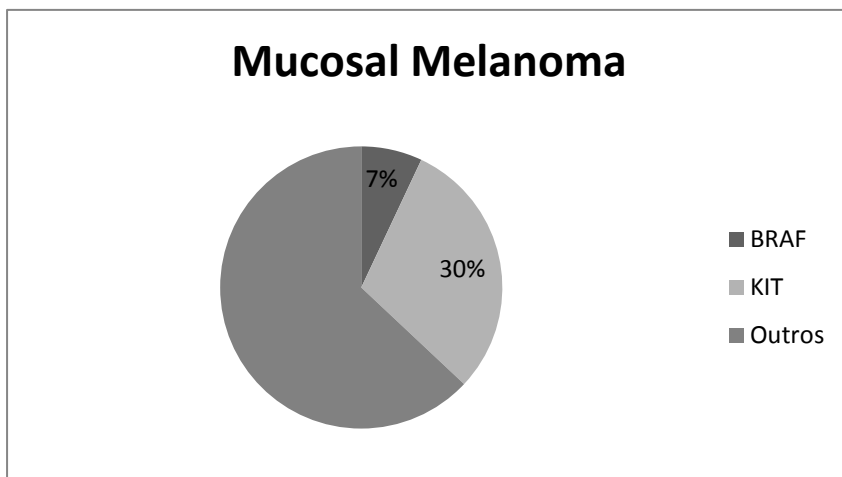


Figura 5- Frequência mutacional no melanoma das mucosas

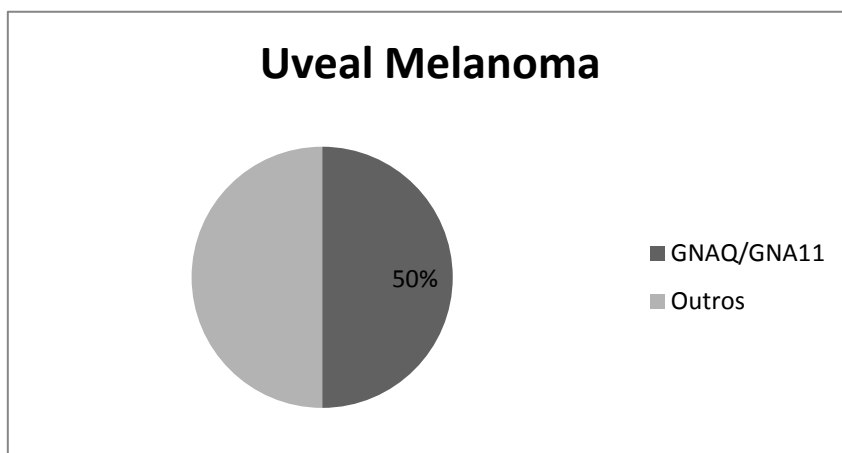


Figura 6- Frequência mutacional no melanoma uveal

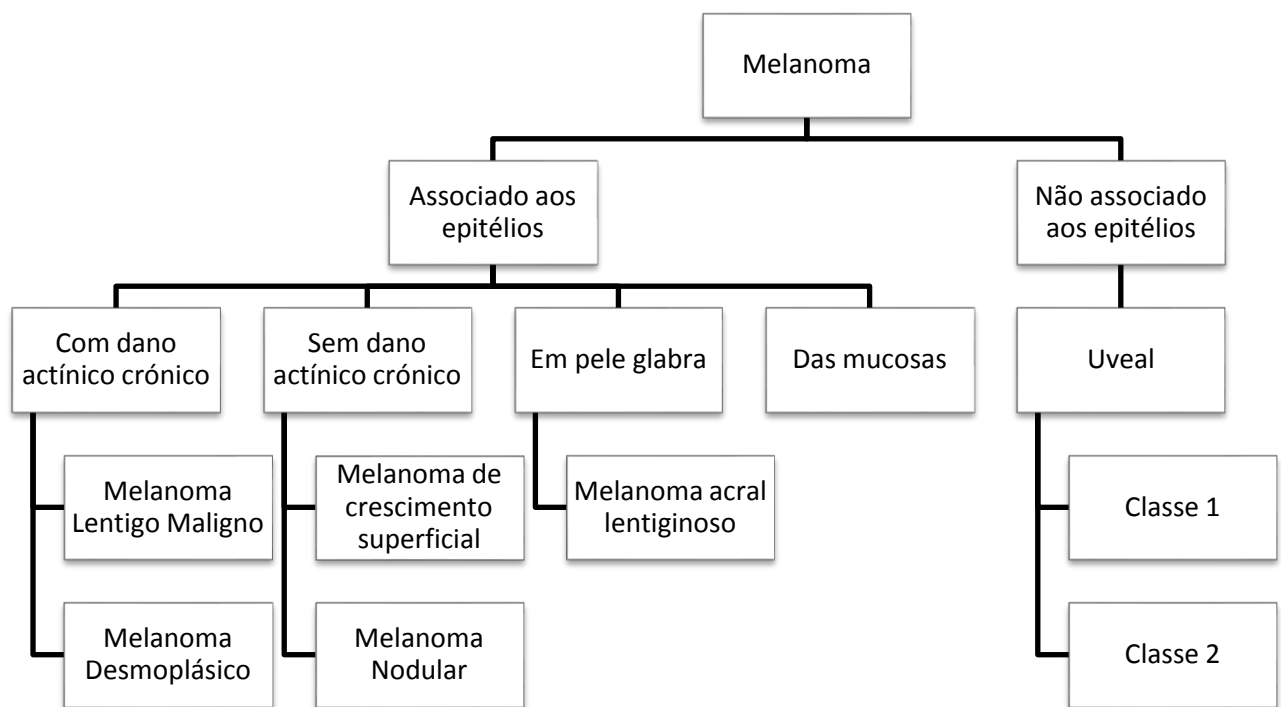
7. Propostas futuras para uma nova classificação

Nos últimos anos, várias têm sido as tentativas de uma nova proposta de classificação do melanoma baseadas nos seus aspetos genéticos.

Curtin et al em 2005 subclassificou os melanomas cutâneos de acordo com o seu *status* BRAF/NRAS e número de alterações cromossómicas entre melanomas cutâneos com dano solar crónico associado, sem dano solar crónico associado e melanoma das mucosas e acrais também sem dano solar associado.^{23,37} Numa outra proposta recente, a nova classificação do melanoma cutâneo baseava-se em quatro grupos/ subdivisões genéticas: BRAF, RAS, NF1 e Triple-WT, também de acordo com as suas diferenças clínicas e biológicas.¹⁹

Tendo por base estas propostas, uma possível proposta de classificação seria a divisão dos melanomas primeiramente quanto a sua localização, em melanomas associados aos epitélios e melanomas não associados aos epitélios. Dentro dos melanomas não associados aos epitélios inclui-se o melanoma uveal, com uma alta prevalência de mutações GNAQ e GNA11, raras nos melanomas cutâneos, e dentro dos melanomas uveais ainda os poderíamos subdividir quanto ao seu prognóstico, em classe 1 – prognóstico mais favorável e mutações SFB31- e classe 2 – prognóstico menos favorável e mutações BAP1 e monossomias 3. Dentro dos melanomas associados aos epitélios – mutações BRAF, RAS e KIT- estes podem-se subdividir de acordo com o padrão de exposição solar da área anatómica onde ocorrem em melanomas em pele com dano actínico crónico, sem dano actínico crónico, melanomas em pele glabra e melanomas das mucosas. Nos melanomas em pele com dano solar crónico (mutações NRAS predominantes e variante BRAF V600K) fariam parte o lentigo maligno e

melanoma desmoplásico. Nos melanomas sem dano actínico crónico (mutações BRAF predominantes) estariam o melanoma maligno de crescimento superficial e o melanoma nodular. Nos melanomas em pele glabra (mutações KIT com maior prevalência, mutações BRAF pouco frequentes) incluir-se-ia o melanoma acral e por fim, estaria o grupo dos melanomas das mucosas, com predominância das mutações KIT e nos quais se inclui o melanoma da conjuntiva – com mutações BRAF e NRAS mais frequentes que as mutações KIT (Esquema 1).



Esquema 1- Nova proposta de classificação de melanoma

8. Conclusões

Apesar da classificação atualmente conhecida ser uma mais-valia para fins educativos, o seu impacto na prática clínica é limitado.²⁶ Por exemplo, se compararmos melanomas com espessuras tumorais equivalentes não há diferença significativa quanto a sobrevida individualizada dos doentes em causa nem da sua resposta á terapêutica.²⁶ Além disso,

há uma grande variabilidade de padrões dentro do mesmo subtipo, a ambiguidade dos mesmos e a variabilidade diagnóstica entre observadores.²⁶

Já foi posta em causa a existência de melanomas biologicamente distintos, sugerindo-se que as suas diferenças morfológicas advém e são secundárias à sua localização anatómica ou no caso, por exemplo, do melanoma nodular uma consequência dos diferentes ritmos da evolução tumoral.²⁶

Apesar dos subtipos de melanoma originalmente descritos (de crescimento superficial, lentigo maligno e nodular) serem anotados no relatório anatomo-patológico e de as classificações atuais servirem o seu propósito, ou seja de concluir antecipadamente uma sobrevivência livre de doença e a sobrevivência no geral dos doentes diagnosticados com melanoma, estão em falta dois aspetos importantes: não dividem os doentes de acordo com uma resposta a terapêutica específica e não incorporam nenhum biomarcador melanoma-específico ou informação genómica.

Hoje, existe uma melhor compreensão sobre as vias chave e potenciais terapêuticas alvo na progressão tumoral do melanoma.²⁶ Os testes moleculares são, atualmente, realizados por rotina em doentes com melanoma avançado.³ A expansão de opções terapêuticas conjuntamente com avanços técnicos levou ao desenvolvimento de um número crescente de plataformas de testes clínicos moleculares.³ Da mesma forma, estão a ser utilizados testes padrão de forma a maximizar e rentabilizar os materiais fornecidos pelo doente e os recursos e infraestruturas dos testes clínicos.³ Hoje em dia, amostras fixadas em formol e incluídas em parafina são enviadas para análise do seu estado mutacional.¹⁹

Face á multifacetada arquitetura genética do melanoma e o seu alto ratio mutacional, uma análise de muitos genes e não de apenas um único estará melhor indicada para estabelecer um perfil mais adequado do tumor.^{1,3,21}

Contudo e apenas numa breve referência de um estudo de 2009, a heterogeneidade do melanoma como tumor e o seu amplo perfil genómico poderão dificultar a classificação do melanoma segundo os seus aspetos genéticos uma vez que esta poderá não ser estática para o mesmo tumor¹⁰, algo comprovado segundo diversos autores, pela heterogeneidade intratumoral observada entre o tumor primário e a suas metástases e que certamente acarretará complicações quanto a seleção e resposta ao tratamento futuro.^{10,32,38} Há portanto necessidade de efetuar novas pesquisas com melhores recursos para uma análise mais detalhada que possa refletir-se numa melhoria útil da classificação ainda em uso.

Bibliografia

1. Richetta AG, Silvestri V, Giancristoforo S, et al. Mutational Profiling in Melanocytic Tumors: Multiple Somatic Mutations and Clinical Implications. *Oncology*. 2014;86(2):104-108. doi:10.1159/000356878.
2. Read J. Recent advances in cutaneous melanoma: Towards a molecular model and targeted treatment. *Australas J Dermatol*. 2013;54:163-172. doi:10.1111/ajd.12013.
3. Siroy AE, Boland GM, Milton DR, et al. Beyond BRAF(V600): clinical mutation panel testing by next-generation sequencing in advanced melanoma. *J Invest Dermatol*. 2015;135(2):508-515. doi:10.1038/jid.2014.366.
4. Niebling MG, Haydu LE, Karim RZ, Thompson JF, Scolyer RA. Reproducibility of AJCC staging parameters in primary cutaneous melanoma: an analysis of 4,924 cases. *Ann Surg Oncol*. 2013;20(12):3969-3975. doi:10.1245/s10434-013-3092-5.
5. Lin MJ, Mar V, McLean C, Wolfe R, Kelly JW. Diagnostic accuracy of malignant melanoma according to subtype. *Australas J Dermatol*. 2014;55(1):35-42. doi:10.1111/ajd.12121.
6. Swick JM, Maize JC. Molecular biology of melanoma. *J Am Acad Dermatol*. 2012;67(5):1049-1054. doi:10.1016/j.jaad.2011.06.047.
7. Pimiento JM, Larkin EM, Smalley KS, et al. Melanoma genotypes and phenotypes get personal. *Lab Invest*. 2013;93(8):858-867. doi:10.1038/labinvest.2013.84.
8. Lens M. Current clinical overview of cutaneous melanoma. *Br J Nurs*. 2008;17(5):300-305.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&do>

pt=Citation&list_uids=18414292.

9. Markovic SN, Erickson LA, Rao RD, et al. Malignant melanoma in the 21st century, part 1: epidemiology, risk factors, screening, prevention, and diagnosis. *Mayo Clin Proc.* 2007;82(3):364-380. doi:10.4065/82.3.364.
10. Duncan LM. The Classification of Cutaneous Melanoma. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2009;23(3):501-513. doi:10.1016/j.hoc.2009.03.013.
11. Smoller BR. Histologic criteria for diagnosing primary cutaneous malignant melanoma. *Mod Pathol.* 2006;19:S34-S40. doi:10.1038/modpathol.3800508.
12. Griewank KG, Westekemper H, Murali R, et al. Conjunctival melanomas harbor BRAF and NRAS mutations and copy number changes similar to cutaneous and mucosal melanomas. *Clin Cancer Res.* 2013;19(12):3143-3152. doi:10.1158/1078-0432.CCR-13-0163.
13. Griewank KG, Murali R, Schilling B, et al. TERT promoter mutations in ocular melanoma distinguish between conjunctival and uveal tumours. *Br J Cancer.* 2013;109(2):497-501. doi:10.1038/bjc.2013.312.
14. Lazarev S, Gupta V, Hu K, Harrison LB, Bakst R. Mucosal Melanoma of the Head and Neck: A Systematic Review of the Literature. *Int J Radiat Oncol.* 2014;90(5):1108-1118. doi:10.1016/j.ijrobp.2014.03.042.
15. Seetharamu N, Ott PA, Pavlick AC. Mucosal Melanomas: A Case-Based Review of the Literature. *Oncologist.* 2010;15(7):772-781. doi:10.1634/theoncologist.2010-0067.
16. Colombino M, Lissia A, Franco R, et al. Unexpected Distribution of *cKIT* and *BRAF* Mutations among Southern Italian Patients with Sinonasal Melanoma.

Dermatology. 2013;226(3):279-284. doi:10.1159/000350683.

17. Chen LL, Jaimes N, Barker C a., Busam KJ, Marghoob A a. Desmoplastic melanoma: A review. *J Am Acad Dermatol*. 2013;68(5):825-833. doi:10.1016/j.jaad.2012.10.041.
18. Scolyer RA, Long G V, Thompson JF. Evolving concepts in melanoma classification and their relevance to multidisciplinary melanoma patient care. *Mol Oncol*. 2011;5(2):124-136. doi:10.1016/j.molonc.2011.03.002.
19. Genomic Classification of Cutaneous Melanoma. *Cell*. 2015;161(7):1681-1696. doi:10.1016/j.cell.2015.05.044.
20. Pakneshan S, Salajegheh a, Smith R a, Lam a K. Clinicopathological relevance of BRAF mutations in human cancer. *Pathology*. 2013;45(4):346-356. doi:10.1097/PAT.0b013e328360b61d.
21. Zebary a, Jangard M, Omholt K, Ragnarsson-Olding B, Hansson J. KIT, NRAS and BRAF mutations in sinonasal melanoma. *Br J Cancer*. 2013;109(3):559-564. doi:10.1038/bjc.2013.373.
22. Mar VJ, Wong SQ, Li J, et al. BRAF/NRAS Wild-Type Melanomas Have a High Mutation Load Correlating with Histologic and Molecular Signatures of UV Damage. *Clin Cancer Res*. 2013;19(17):4589-4598. doi:10.1158/1078-0432.CCR-13-0398.
23. Davar D, Lin Y, Kirkwood JM. Unfolding the mutational landscape of human melanoma. *J Invest Dermatol*. 2015;135(3):659-662. doi:10.1038/jid.2014.467.
24. Ekedahl H, Cirenajwis H, Harbst K, et al. The clinical significance of BRAF and NRAS mutations in a clinic-based metastatic melanoma cohort. *Br J Dermatol*.

2013;169(5):1049-1055. doi:10.1111/bjd.12504.

25. Kim SY, Kim SN, Hahn HJ, Lee YW, Choe YB, Ahn KJ. Metaanalysis of BRAF mutations and clinicopathologic characteristics in primary melanoma. *J Am Acad Dermatol*. 2015;72(6):1036-1046.e2. doi:10.1016/j.jaad.2015.02.1113.
26. Viros A, Fridlyand J, Bauer J, et al. Improving Melanoma Classification by Integrating Genetic and Morphologic Features. *PLoS Med*. 2008;5(6):e120. doi:10.1371/journal.pmed.0050120.
27. Solus JFMD, Kraft SMD. Ras, Raf, and MAP Kinase in Melanoma. *Adv Anat Pathol*. 2013;20(4):217-226. doi:10.1097/PAP.0b013e3182976c94.
28. Carlino MS, Haydu LE, Kakavand H, et al. Correlation of BRAF and NRAS mutation status with outcome, site of distant metastasis and response to chemotherapy in metastatic melanoma. *Br J Cancer*. 2014;111(2):292-299. doi:10.1038/bjc.2014.287.
29. Dika E, Altimari A, Patrizi A, et al. KIT, NRAS, and BRAF mutations in nail apparatus melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2013;26(5):758-760. doi:10.1111/pcmr.12123.
30. Puig-Butillé JA, Badenas C, Ogbah Z, et al. Genetic alterations in RAS-regulated pathway in acral lentiginous melanoma. *Exp Dermatol*. 2013;22(2):148-150. doi:10.1111/exd.12080.
31. Chraybi M, Alsamad IA, Copie-Bergman C, et al. Oncogene abnormalities in a series of primary melanomas of the sinonasal tract: NRAS mutations and cyclin D1 amplification are more frequent than KIT or BRAF mutations. *Hum Pathol*. 2013;44(9):1902-1911. doi:10.1016/j.humpath.2013.01.025.

32. Uhara H, Ashida A, Koga H, et al. NRAS mutations in primary and metastatic melanomas of Japanese patients. *Int J Clin Oncol*. 2014;19(3):544-548. doi:10.1007/s10147-013-0573-2.
33. Alessandrini L, Parrozzani R, Bertorelle R, et al. C-Kit SCF receptor (CD117) expression and KIT gene mutation in conjunctival pigmented lesions. *Acta Ophthalmol*. 2013;91(8):e641-e645. doi:10.1111/aos.12166.
34. Schilling B, Bielefeld N, Sucker A, et al. Lack of SF3B1 R625 mutations in cutaneous melanoma. *Diagn Pathol*. 2013;8(1):87. doi:10.1186/1746-1596-8-87.
35. Aulmann S, Sinn HP, Penzel R, et al. Comparison of molecular abnormalities in vulvar and vaginal melanomas. *Mod Pathol*. 2014;27(10):1386-1393. doi:10.1038/modpathol.2013.211.
36. Dahl C, Abildgaard C, Riber-Hansen R, Steiniche T, Lade-Keller J, Guldborg P. KIT is a frequent target for epigenetic silencing in cutaneous melanoma. *J Invest Dermatol*. 2015;135(2):516-524. doi:10.1038/jid.2014.372.
37. Fecher LA, Cummings SD, Keefe MJ, Alani RM. Toward a Molecular Classification of Melanoma. *J Clin Oncol*. 2007;25(12):1606-1620. doi:10.1200/JCO.2006.06.0442.
38. Colombino M, Lissia A, Capone M, et al. Heterogeneous distribution of BRAF/NRAS mutations among Italian patients with advanced melanoma. *J Transl Med*. 2013;11(1):202. doi:10.1186/1479-5876-11-202.