

ISSN 2238-9113**ÁREA TEMÁTICA:** (marque uma das opções)

- COMUNICAÇÃO
- CULTURA
- DIREITOS HUMANOS E JUSTIÇA
- EDUCAÇÃO
- MEIO AMBIENTE
- SAÚDE
- TRABALHO
- TECNOLOGIA

SIGNIFICÂNCIA PROGNÓSTICA DA EXPRESSÃO DE KI-67, RECEPTORES DE ESTRÓGENO E RECEPTORES DE PROGESTERONA EM PACIENTES COM MELANOMA CUTÂNEO

Claudia Adriane Kuhn (clau.akuhn@gmail.com)**Cynthia Holzmann Koehler (cykoehler@gmail.com)****Mário Rodrigues Montemór Netto (montemornetto@gmail.com)****Camila Mariana Fukuda (camis_fukuda@hotmail.com)****Lúcia De Noronha (lucia.noronha@pucpr.br)**

RESUMO –O melanoma cutâneo é uma neoplasia de pele desencadeada pela proliferação desordenada e anômala dos melanócitos, representando 4-6% dos tumores de pele. Contudo, sua agressividade e alta capacidade de metastização o tornam a neoplasia cutânea de maior importância. O presente estudo caso controle analisou os dados referentes a 281 casos de melanoma cutâneo que ocorreram na região dos Campos Gerais no período entre 2002 e 2014. Foi construído um banco de dados, que tem como fonte os laudos diagnósticos anatomopatológicos dos fragmentos de pele dos pacientes selecionados, as informações clínicas destes e a análise de imunohistoquímica, na qual será pesquisado o receptor de estrogênio (RE), receptor de progesterona (RP), índice de imunoproliferação celular (Ki-67). Trata-se de uma pesquisa em andamento, sendo que seus resultados finais não foram, ainda, obtidos.

PALAVRAS-CHAVE – Melanoma. Marcadores Biológicos. Imuno-Histoquímica.

Introdução

O melanoma cutâneo (MC) é uma neoplasia de pele desencadeada por uma proliferação desordenada e anômala dos melanócitos (MITCHELL, 2012), descrita pela primeira vez em 1806, por René Laënnac (IRANZO *et al*, 2015). Mesmo representando apenas 4-6% das neoplasias de pele (MORENO, 2015), é o tumor do órgão de maior importância médica (NASER, 2011). Isso em virtude a sua agressividade e alta capacidade de metastização (INCA, 2016; LONGO, 2011), além do fato de representar $\frac{3}{4}$ das mortes decorrentes de afecções cutâneas (ARAUJO, 2014). O principal órgão acometido pelo MC é a pele. No entanto, não ocorre de maneira exclusiva, podendo acomete qualquer órgão que contenha melanócitos, desde meninges, mucosas e olhos (LONGO, 2011; THORNE, 2007).

No ano de 2013, 1.547 óbitos decorrentes de MC foram relatados pelo Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM). Para o ano de 2016, estima-se 5.670 novos casos no Brasil (INCA, 2016).

Atualmente, existem fatores clínicos e histológicos que cursam com a clínica do melanoma (LEVI *et al*, 1999). São esses fatores que indicarão um melhor ou pior prognóstico aos pacientes com a patologia e qual o tratamento mais adequado naquele caso (MARGHOOB *et al*, 2000). Dentre os típicos fatores prognósticos que encontramos histologicamente estão: espessura de Breslow, espessura de Clark, o tipo histológico de melanoma, além de presença ou não de ulceração, taxa mitótica, dentre outros (AK *et al*, 2000; BALZI *et al*, 1998; MARGHOOB *et al*, 2000; MASSI *et al*, 1999).

Pesquisas envolvendo o tumor primário veem sendo empregadas para a busca de novos marcadores biológicos que apresentem fator prognóstico ao MC. Entretanto, estudos deste caráter, que confirmem ou identifiquem a expressão de moléculas que sugiram uma maior ou menor agressividade do MC, apresentam-se insuficientes e com pouca significância para a prática clínica. (KYCLER *et al*, 2006).

Contudo, estudos que correlacionem novos fatores prognósticos, tais como marcadores biológicos, apresentam-se insuficientes e com pouca significância (KYCLER *et al*, 2006). Pesquisas acerca da influência dos hormônios femininos no desenvolvimento e/ou progressão do melanoma vêm sendo realizadas, todavia, encontram-se, ainda, em um patamar paradoxal (MILLER, 1997). Em relação ao Ki-67, escassos estudos enfatizam seu vínculo com a possível sobrevivência (KYCLER *et al*, 2006; TALVE, 1996).

Objetivos

O objetivo desse trabalho é analisar o perfil molecular de pacientes com melanoma cutâneo, verificando se os receptores de estrogênio, receptores de progesterona e Ki-67 implicam em um melhor ou pior prognóstico nessa patologia.

Referencial teórico-metodológico

Trata-se de um estudo caso controle, que abordou 281 pacientes diagnosticados com melanoma cutâneo no período de 2002 a 2014. Essa pesquisa faz parte do projeto de extensão intitulado Estudo Retrospectivo dos Principais Tumores de Pele nos Campos Gerais e servirá

de base para o trabalho de conclusão de curso (TCC – Graduação do curso de Medicina – Universidade Estadual de Ponta Grossa).

A seleção de pacientes foi realizada através do registro de biópsias de pele da clínica Patologia Médica de Ponta Grossa LTDA, na qual foram englobados todos os diagnosticados com melanoma cutâneo entre o mês de janeiro de 2002 e dezembro de 2014. Com os pacientes previamente separados, realizou-se a busca dos respectivos exames anatomopatológicos utilizando o *software* de busca *Patho Control*® e, em seguida, a escolha do material (lâminas de histologia e blocos de parafina condizentes) que viriam a ser analisados.

Os dados clínicos dos pacientes foram coletados por meio de prontuários eletrônicos do Instituto Sul Paranaense de Oncologia (ISPON) em Ponta Grossa, Paraná.

Através do *software Microsoft Excel 2013* criou-se uma tabela para confecção do banco de dados. Nesta, todos os exames anteriormente selecionados foram identificados seguindo o protocolo da Patologia Médica. Em um primeiro momento, foram verificadas as características histopatológicas: nível de Clark, espessura de Breslow, taxa mitótica, infiltrado linfocitário tumoral, ulceração, invasão vascular e linfática, regressão e microssateliteose. Após isso, foi realizado a análise das características clínicas: sexo, idade, cor da pele, histórico familiar, tabagismo, exposição solar laboral, local, simetria, bordas, cor, diâmetro, sintomas, estadiamento clínico, data do diagnóstico, tempo para diagnóstico da primeira metástase, local da metástase, pesquisa de linfonodo sentinela, data de início e tipo de tratamento, recidiva, data e causa do óbito.

Foram construídos *tissue microarray* (TMA) dos focos tumorais para posterior avaliação quanto aos receptores hormonais para estrogênio (RE) e progesterona (RP) e quanto à superexpressão de Ki-67. Inicialmente realizou-se a marcação das áreas condizentes com melanoma cutâneo de cada lâmina e bloco de parafina. Posteriormente, com uma broca de implante odontológico, cilíndrica, de 3mm de diâmetro, retirou-se a região marcada dos blocos (tecido doador), sendo esta colocada em uma posição especificamente designada e coordenada, em um novo bloco de parafina vazio (receptor). O processo de retirada de amostras foi repetido, até que todos os blocos doadores possuíssem áreas que as representassem dentro do bloco receptor, produzindo assim o *tissue microarray* final. Após isso, usando um micrótomo, foram cortadas partes de 4 µm desses blocos, para gerar as lâminas de TMA que foram utilizadas na imuno-histoquímica.

Na imuno-histoquímica, será analisado a responsividade para RE, RP e Ki-67. Os receptores hormonais serão considerados positivos quando houver mais de 10% de núcleos positivos corados.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (COEP) da Universidade Estadual de Ponta Grossa sob o número 1.302.609, CAAE: 17571713.2.0000.0105.

Resultados

Dos 281 laudos coletados entre os anos de 2002 a 2014, 269 discriminaram o gênero dos pacientes com MC, sendo que 148 eram do sexo feminino e 121 do sexo masculino, correspondendo, percentualmente, à 52,67% e 43,06% do total analisado, respectivamente. Com relação à idade, 265 laudos continham esta informação. As idades variaram entre 21 e 96 anos. A média de idade foi de 56,19 anos, observando-se um predomínio entre as faixas etárias de 50 a 70 anos, que corresponderam à 41,13% do total de exames avaliados.

Quanto à localização topográfica, 250 laudos as discriminavam: 88 lesões encontravam-se no tronco (35,2%), 83 lesões em membros (33,2%), sendo 43 delas em membros superiores e 40 em membros inferiores; e 79 lesões em cabeça e pescoço (31,6%). Em relação à exposição à radiação solar, 122 lesões estavam em região fotoexposta (48,8%) e 128 lesões em regiões não fotoexpostas (51,2%). Foram consideradas regiões fotoexpostas: cabeça, pescoço, mãos, antebraços e pernas.

Sobre o nível de Clark, dos 247 laudos com essa avaliação, 80 apresentavam nível I (32,39%), 42 apresentavam nível II (17%), 47 eram nível III (19,03%), 63 eram nível IV (25,51%) e 15 eram nível V (6,07%). A espessura de Breslow foi descrita em 169 laudos. 51 lesões apresentam uma espessura menor que 0.75mm (30,18%), 47 lesões apresentam uma espessura entre 0.76mm e 1.5mm (27,81%), 28 lesões apresentam uma espessura entre 1.6mm e 3.0mm (16,57%) e 43 lesões apresentam uma espessura maior do que 3.0mm (25,44%); sendo a menor espessura de 0,2mm e a maior de 15,3mm.

Até o momento, 130 pacientes apresentaram o estadiamento clínico analisado. Destes, 26 apresentam estadiamento 0 (20%), 32 estadiamento I (24,62%), 31 estadiamento II (23,85%), 15 estadiamento III (11,54%) e 26 estadiamento IV (20%).

Essa pesquisa encontra-se em desenvolvimento. No momento, estamos aguardando o resultado da imuno-histoquímica, para que possamos prosseguir com a análise estatística e

concluir se os marcadores utilizados (receptores de estrógeno, de progesterona e Ki-67) possuem importância no prognóstico do melanoma cutâneo.

Considerações Finais

Esse estudo possui grande validade científica, uma vez que permite uma avaliação clínica, epidemiológica e imuno-histoquímica do melanoma cutâneo.

O perfil epidemiológico e histopatológico do melanoma cutâneo, neste estudo, apresentou um predomínio de pacientes do sexo feminino, com idade média de 56,19 anos e localização predominantemente em tronco e membros, o que é condizente com a maioria dos trabalhos sobre o assunto publicados até agora.

No momento do diagnóstico, 20% dos pacientes já se encontravam em estadió clínico IV, o que significa um diagnóstico tardio e implica em altas taxas de mortalidade. Isso reitera a importância de uma prevenção eficaz e detecção precoce do melanoma, a fim de diminuir um pior desfecho, o óbito do paciente.

Esperamos que o estudo seja de utilidade para a comunidade acadêmica e científica, bem como para a população em geral, contribuindo para ampliar o conhecimento acerca do MC, uma vez que definido o perfil molecular da patologia, podemos definir melhores tratamentos e estipular fatores prognósticos aos pacientes acometidos pelo melanoma cutâneo.

Referências

AK, Ilknur, et al. Cutaneous malignant melanoma: clinical aspects, imaging modalities and treatment. **Eur J of Nuclear Medicine**, v. 27, n. 4, pp.447–58, 2000.

ARAUJO, Izabella Costa, et al. Melanoma Cutâneo: aspectos clínicos, epidemiológicos e anatomopatológicos de um centro de formação em Belo Horizonte. **Rev. Bras. Cir. Plást**, v. 29, n. 4, pp.497-503, 2014

BALZI, Daniela, et al. Skin melanoma in Italy: a population-based study on survival and prognostic factors. **Eur J Cancer**, v. 34, n. 5, pp.699–704, 1998.

INCA- Instituto Nacional do Cancer. Estimativa 2016: Incidência de câncer no Brasil. Disponível em:

http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/pele_melanoma/definicao Acessado em 07/04/2016.

IRANZO, Carmen Cabañés, et al. Lesões cutâneas malignas e pré-malignas: conhecimentos, hábitos e campanhas de prevenção solar. **Acta paul. enferm.**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 2-6, Feb. 2015.

KYCLER, Witold, et al. Prognostic factors in melanoma. **Rep Pract Oncol Radiother**, v. 11, n. 1, p. 39-48, 2006.

LEVI, Fabio, et al. Prognostic factors for cutaneous malignant melanoma in Vaud, Switzerland. **Int J Cancer**, v. 78, n. 3, p. 315–319, Oct. 1998

LONGO, Dan, et al. **Medicina Interna de Harrison**. 18 ed. New York: The McGraw-Hill; 2011.

MARGHOOB, Ashfaq A, et al. Breslow thickness and Clark level in melanoma: support for including level in pathology reports and American Joint Committee on Cancer Staging. **Cancer**, v. 88, n. 3, p. 589–95, 2000.

MASSI, Daniela, et al. Thin cutaneous malignant melanomas (< or =1,5mm): identification of risk factors indicative of progression. **Cancer**, v. 85, n. 5, p. 1067–1076 1999.

MILLER, Jacqueline G; MAC NEIL, Sheila. Gender and cutaneous melanoma. *Br J Dermatol*. 136:657-665, 1997

MITCHELL, Richard N. **Robbins & Cotran: fundamentos de patologia**, v. 8, Rio de Janeiro: Elsevier; 2012.

MORENO, Marcelo; CONTE, Bruna; MENEGAT, Eduardo. Diferenças Clínico-Epidemiológicas entre Pacientes Masculinos e Femininos com Diagnóstico de Melanoma Cutâneo no Oeste de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 61, n. 1, p. 15-21, 2015.

NASER, Nilton. Melanoma cutâneo: estudo epidemiológico de 30 anos em cidade do sul do Brasil, de 1980-2009. **An. Bras. Dermatol**. Rio de Janeiro, v. 86, n. 5, p. 932-941, 2011.

TALVE, Lauri Arvo Ilmar; COLLAN, Yrjö Urho Ilmar; EKFORSS, Tauno Olavi. Nuclear morphometry, immunohistochemical staining with Ki-67 antibody and mitotic index in the assessment of proliferative activity and prognosis of primary malignant melanomas of the skin. **J Cutan Pathol**, v. 23, n.4, p. 335-343, 1996.

THORNE, Charles. **Grabb and Smith's plastic surgery**. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p.960, 2007.

