RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 19/07/2026.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE MEDICINA

Marcel Arakaki Asato

ASSOCIAÇÃO DOS PARÂMETROS HISTOPATOLÓGICOS (ÍNDICE DE BRESLOW MODIFICADO E DIMENSÃO MACROSCÓPICA) E IMUNOISTOQUÍMICOS (KI-67 E PRAME) COM O RESULTADO DO LINFONODO SENTINELA E SOBREVIDA EM CASOS DE MELANOMA CUTÂNEO

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Patologia.

Orientador: Prof. Dr. José Cândido Caldeira Xavier-Júnior
Coorientadora: Profa. Dra. Mariângela Esther Alencar Marques

Botucatu
2024

Marcel Arakaki Asato

ASSOCIAÇÃO DOS PARÂMETROS HISTOPATOLÓGICOS (ÍNDICE DE BRESLOW MODIFICADO E DIMENSÃO MACROSCÓPICA) E IMUNOISTOQUÍMICOS (KI-67 E PRAME) COM O RESULTADO DO LINFONODO SENTINELA E SOBREVIDA EM CASOS DE MELANOMA CUTÂNEO

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Patologia.

Orientador: Prof. Dr. José Cândido Caldeira Xavier-Júnior
Coorientadora: Profa. Dra. Mariângela Esther Alencar Marques

Botucatu

2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Asato, Marcel Arakaki.
Associação dos parâmetros histopatológicos (Índice de Breslow modificado e dimensão macroscópica) e imunoistoquímicos (Ki-67 e PRAME) com o resultado do linfonodo sentinela e sobrevida em casos de melanoma cutâneo / Marcel Arakaki Asato. - Botucatu, 2024

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina, Botucatu
Orientador: José Cândido Caldeira Xavier-Júnior
Coorientador: Mariângela Esther Alencar Marques
Capes: 40105008

1. Estadiamento de tumores. 2. Melanoma. 3. Pele - tumores. 4. Patologia.

Palavras-chave: Estadiamento de neoplasias; Melanoma; Neoplasias da pele; Patologia.

IMPACTOS POTENCIAIS DESTA PESQUISA

IMPACTO CIENTÍFICO

Esta pesquisa contribui significativamente para a área de dermatopatologia, trazendo novos conhecimentos relacionados a fatores prognósticos no melanoma cutâneo. A introdução de novas maneiras de mensuração do tumor (medida de Breslow modificada e DOI), além de certos marcadores imunoistoquímicos (Ki-67 e PRAME) pode ajudar a prever melhor o prognóstico desta neoplasia agressiva. Os resultados podem servir como base para futuras pesquisas acadêmicas, potencialmente levando ao desenvolvimento de novas abordagens para avaliação prognóstica e tratamento do melanoma cutâneo.

IMPACTO SOCIAL

Ao identificar marcadores que podem prever com maior precisão a sobrevida e o risco de metástases dos casos de melanoma cutâneo, os profissionais da saúde poderão fornecer um tratamento mais personalizado e eficaz. Isso pode resultar em melhores desfechos clínicos e mais qualidade de vida. Além disso, o desenvolvimento da tese de doutorado culmina com a formação de um pesquisador que já atua em universidade pública e poderá criar novos projetos de pesquisa relacionados em sua universidade, inclusive atuando na formação de recursos humanos na área.

IMPACTO ECONÔMICO

A melhoria da precisão na avaliação prognóstica no melanoma cutâneo pode reduzir a necessidade de procedimentos mais caros e complexos, resultando em economia para os sistemas de saúde pública e privada. Trata-se de projeto de base morfológica, baseado em técnica acessíveis, que pode ser reproduzido facilmente em outros centros de pesquisa e cujos resultados são aplicáveis à rotina diagnóstica.

POTENTIAL IMPACTS OF THIS RESEARCH

SCIENTIFIC IMPACT

This research significantly contributes to dermatopathology by introducing knowledge of prognostic factors in cutaneous melanoma. Introducing ways to measure the tumor (modified Breslow thickness and DOI) and immunohistochemistry markers (Ki-67 and PRAME) can help predict the outcomes of this aggressive neoplasm. The results will serve as the basis for future academic research, potentially leading to new approaches for prognostic evaluation and treatment of cutaneous melanoma.

SOCIAL IMPACT

By identifying markers that can accurately predict survival and the risk of metastasis in cutaneous melanoma, healthcare professionals can provide personalized and effective treatment. This advance can lead to significantly better clinical outcomes and a substantial enhancement in the quality of life for patients. Furthermore, the development of the doctoral thesis culminates in the training of a researcher who already works at a public university and will be able to create new related research projects at the university, including working on the training of human resources in the area.

ECONOMIC IMPACT

Improving the accuracy of prognostic evaluation in cutaneous melanoma can reduce the need for more expensive and complex procedures, resulting in savings for public and private healthcare systems. This is a morphological-based project based on accessible techniques that can be easily reproduced in other research centers and whose results apply to routine diagnosis.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE MARCEL ARAKAKI ASATO, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA, DA FACULDADE DE MEDICINA - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 19 dias do mês de julho do ano de 2024, às 08:30 horas, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de MARCEL ARAKAKI ASATO, intitulada **ASSOCIAÇÃO DOS PARÂMETROS HISTOPATOLÓGICOS (ÍNDICE DE BRESLOW MODIFICADO E DIMENSÃO MACROSCÓPICA) E IMUNOISTOQUÍMICOS (KI-67 E PRAME) COM O RESULTADO DO LINFONODO SENTINELA E SOBREVIDA EM CASOS DE MELANOMA CUTÂNEO**. A Comissão Examinadora foi constituida pelos seguintes membros: Prof. Dr. JOSÉ CÂNDIDO CALDEIRA XAVIER JÚNIOR (Orientador(a) - Participação Virtual) do(a) Instituto de Patologia de Araçatuba, Prof. Dr. GILLES LANDMAN (Participação Virtual) do(a) Depto. de Patologia / EPM/São Paulo - Unifesp, Profa. Dra. MIRIAN NACAGAMI SOTTO (Participação Virtual) do(a) Depto. de Patologia / FM/São Paulo - USP. Após a exposição pelo doutorando e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, o discente recebeu o conceito final: aprovado . Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. JOSÉ CÂNDIDO CALDEIRA XAVIER JÚNIOR

Documento assinado digitalmente
JOSE CANDIDO CALDEIRA XAVIER JUNIOR
Data: 19/07/2024 12:24:59-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. José Cândido Caldeira Xavier-Júnior, pela sua orientação, paciência, disponibilidade, suas dicas valiosas e presença constante, que foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

À Dra. Mariângela Esther Alencar Marques, coorientadora deste trabalho, que enriqueceu este trabalho com sua expertise e inestimáveis contribuições.

Aos meus pais, Marcos e Elaine, cujo apoio e incentivo foram o alicerce de toda a minha jornada de vida.

À generosidade do Dr. Luiz Carlos Takita, que não apenas me incentivou a entrar na pós-graduação como também foi essencial durante o desenvolvimento do projeto.

Ao Dr. Francisco Alves Moraes Neto, do Hospital Amaral Carvalho, por toda a ajuda no laboratório de patologia em Jaú.

Ao estatístico José Eduardo Corrente, cujas análises foram cruciais para a realização deste trabalho.

À Dra. Márcia Guimarães da Silva e à servidora Vânia Soler Amaral, pela disposição e apoio constante em todas as demandas relacionadas ao programa de pós-graduação.

À Dra. Juliana Polizel Ocanha-Xavier, por suas valiosas orientações e ajuda constante durante o desenvolvimento do projeto.

À aluna de mestrado Isabeli Joaquim Contel, bem como à Dra. Nathália Silva Carlos Oliveira que foram essenciais na etapa final deste projeto.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte financeiro que viabilizou muitas das fases deste trabalho (Número do processo: 2021/09431-0).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao programa CAPES-PrInt, pela oportunidade ímpar de capacitação em um dos serviços de referência mundial em Dermatopatologia.

Ao Dr. Jeffrey North e ao Dr. Philip LeBoit, da Universidade da Califórnia, San Francisco, por me acolherem e compartilharem seu valioso conhecimento.

Aos meus alunos de graduação em medicina e aos residentes de dermatologia, da UFMS, que com seu ânimo e dedicação, aumentam meu entusiasmo pelo ensino, pesquisa e pela continuidade na academia.

“Para resolver um problema desta natureza, o segredo é raciocinar de trás para a frente. É uma proeza da maior utilidade, mas as pessoas não costumam praticá-la.”

(Sherlock Holmes, de Arthur Conan Doyle)

RESUMO

Introdução: O melanoma cutâneo é um dos cânceres de pele com pior prognóstico, frequentemente evoluindo com metástases e alta mortalidade. Os principais subtipos histológicos são o extensivo superficial (baixo dano solar cumulativo), nodular, lentigo maligno (alto dano solar cumulativo) e o lentiginoso acral, sendo este considerado o subtipo de pior prognóstico. Para avaliação prognóstica do melanoma cutâneo a medida micrométrica de Breslow é considerado o fator mais importante, entretanto, possui limitações. O tamanho macroscópico não é um parâmetro considerado para estadiamento no melanoma cutâneo, embora a dimensão do tumor seja considerada no melanoma uveal e carcinoma de células escamosas. Vários marcadores imunoistoquímicos são utilizados para auxílio no diagnóstico do melanoma, porém não há marcadores consolidados para avaliação prognóstica. **Objetivo**: Correlacionar a extensão macroscópica do tumor, a profundidade de invasão medida a partir da membrana basal (Breslow modificado), o DOI ("depth of invasion"), índice de proliferação celular medido pelo Ki-67, padrões de marcação nuclear do Ki-67 e a expressão do PRAME, com o resultado do linfonodo sentinela e a sobrevida em pacientes com melanoma cutâneo. **Métodos:** Estudo transversal retrospectivo baseado na análise de dados de prontuário eletrônico (tamanho macroscópico, resultado do linfonodo sentinela e sobrevida), avaliação de lâminas coradas em Hematoxilina e Eosina (Breslow modificado e DOI), imunoistoquímica para Ki-67 e PRAME, e digitalização de lâminas e análise do padrão de marcação do Ki-67 por dois dermatopatologistas. **Resultados**: O tamanho macroscópico demonstrou correlação significativa apenas com o resultado do linfonodo sentinela em análise univariada. O Breslow modificado mostrou-se capaz de predizer a sobrevida específica e resultado do linfonodo sentinela, assim como a medida de Breslow convencional. O DOI foi capaz de predizer a sobrevida específica do melanoma acral apenas em análise univariada. Elevada expressão de PRAME e Ki-67 estão associadas a pior sobrevida geral em análise univariada. Em análise multivariada, entretanto, apenas a medida de Breslow foi significativa. A análise dos padrões de expressão nuclear do Ki-67 demonstrou uma elevada concordância interobservador (coeficiente de concordância de Linn: 0.9783) com maior frequencia de três padrões específicos no grupo de pacientes que morreram por melanoma. **Conclusão**: O Breslow modificado é capaz

de predizer o prognóstico no melanoma cutâneo assim como a medida de Breslow convencional. O tamanho macroscópico e o DOI possuem correlação significativa com desfechos (linfonodo sentinela e sobrevida, respectivamente) no melanoma cutâneo. Elevada expressão do PRAME e do Ki-67 estão associadas a pior sobrevida geral. Além disso, alguns padrões de marcação do Ki-67 estão associados a pior desfecho. Entretanto, em análise multivariada, a medida de Breslow continua sendo o principal fator para avaliação prognóstica no melanoma cutâneo.

Palavras-chave: Melanoma, patologia, estadiamento de neoplasias, neoplasias da pele

ABSTRACT

Introduction: Cutaneous melanoma is one of the skin cancers with the worst prognosis, often developing metastases and high mortality. The main histological subtypes are superficial spreading (low cumulative solar damage), nodular, lentigo maligna (high cumulative solar damage) and acral lentiginous, which is considered the subtype with the worst prognosis. For the prognostic assessment of cutaneous melanoma, the Breslow micrometric measurement is considered the most important factor, however, it has limitations. Macroscopic size is not a parameter considered for staging in cutaneous melanoma, although tumor size is considered in uveal melanoma and squamous cell carcinoma. Several immunohistochemical markers are used to aid in the diagnosis of melanoma, but there are no consolidated markers for prognostic assessment. **Objective**: To correlate the macroscopic extension of the tumor, the depth of invasion measured from the basement membrane (modified Breslow), the DOI ("depth of invasion"), cell proliferation index measured by Ki-67, Ki-67 nuclear labeling patterns and PRAME expression, with sentinel lymph node outcome and survival in patients with cutaneous melanoma. **Methods**: Retrospective cross-sectional study based on analysis of electronic medical record data (macroscopic size, sentinel lymph node results and survival), evaluation of slides stained with Hematoxylin and Eosin (modified Breslow and DOI), immunohistochemistry for Ki-67 and PRAME, and digitalization of slides and analysis of the Ki-67 staining pattern by two dermatopathologists. **Results**: Macroscopic size demonstrated a significant correlation only with the sentinel lymph node result in univariate analysis. The modified Breslow was able to predict specific survival and sentinel lymph node outcome, as well as the conventional Breslow measurement. DOI was able to predict acral melanoma-specific survival only in univariate analysis. High PRAME and Ki-67 expression are associated with worse overall survival in univariate analysis. In multivariate analysis, however, only the Breslow measurement was significant. Analysis of Ki-67 nuclear expression patterns demonstrated high interobserver agreement (Linn's coefficient of agreement: 0.9783) with a greater frequency of three specific patterns in the group of patients who died from melanoma. **Conclusion:** The modified Breslow is capable of predicting the prognosis in cutaneous melanoma as well as the conventional Breslow measurement. Macroscopic size and DOI have a significant correlation with outcomes

(sentinel lymph node and survival, respectively) in cutaneous melanoma. High expression of PRAME and Ki-67 are associated with worse overall survival. Furthermore, some Ki-67 staining patterns are associated with a worse outcome. However, in multivariate analysis, the Breslow measurement remains the main factor for prognostic assessment in cutaneous melanoma.

Keywords: Melanoma, pathology, neoplasm staging, skin neoplasms

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 13

1.1 Melanoma cutâneo 13
1.2 Medida de Breslow 17
1.3 Estadiamento patológico (Tamanho) 20
1.4 Linfonodo sentinela e outras características prognósticas 21
1.5 Tamanho macroscópico 22
1.6 DOI (Depth Of Invasion) 23
1.7 Estudo imunoistoquímico 25

2 RESULTADOS 31

2.1 Artigo 1 32
2.2 Artigo 2 40
2.3 Artigo 3 49
2.4 Artigo 4 56
2.5 Artigo 5 86

3 CONCLUSÃO 103

4 PERSPECTIVAS 104

REFERÊNCIAS 105

ANEXOS 112

Prêmio SBP Categoria Oral – 6º Lugar, 2022. 112
3º Lugar na categoria Investigação, durante a 40ª RADLA, 2023 113
Prêmio SBP Categoria Pôster, 2024 114
Outros artigos publicados durante a realização do doutorado 114

1 INTRODUÇÃO

1.1 Melanoma cutâneo

O melanoma cutâneo é uma neoplasia que surge de melanócitos e representa um dos tipos de câncer de pele mais perigosos já que frequentemente leva a metástases para órgãos distantes. (1)

A incidência de melanoma tem aumentado nas últimas décadas em populações brancas, provavelmente relacionada ao comportamento recreacional e exposição solar. As maiores incidências foram reportadas na Austrália e Nova Zelândia com até 60 casos por 100.000 habitantes por ano. (2) No Brasil a incidência estimada é de 4,13 casos por 100.000 habitantes por ano. No ano de 2020 foram estimados 1.120 óbitos em homens e 803 óbitos em mulheres. (3, 4)

Apesar do aumento da incidência, as taxas de mortalidade permaneceram estáveis desde a década de 1980, refletindo as melhorias na detecção precoce de melanomas finos em um estágio potencialmente curável. (2)

O melanoma surge como consequência de uma complexa interação de fatores ambientais e constitucionais. Estudos moleculares indicam que o melanoma é uma doença heterogênea com vários subtipos biológicos distintos possivelmente surgindo por diferentes vias. (2)

Fatores de risco para melanoma incluem, dentre outros:

- Exposição à radiação ultravioleta natural e bronzeamento artificial. Tanto a radiação UV-A, que é mais abundante na luz solar natural, quanto a UV-B estão relacionadas ao aumento do risco de desenvolvimento do melanoma. (5) A radiação UV-A provoca formação de radicais livres que causam dano oxidativo ao DNA, sendo um potencial mutagênico. Já a UV-B penetra na camada basal da epiderme levando à formação de dímeros de pirimidina no DNA. O reparo incorreto dessas alterações no DNA leva a mutações que alteram o funcionamento celular. Indivíduos expostos de maneira intermitente à luz solar intensa também têm maior risco de desenvolver melanoma. (6)

- Pele clara. A incidência de câncer de pele é menor em indivíduos de pele escura do que naqueles de pele clara. A melanina cutânea é o fator protetor mais importante, já que além de absorver a radiação UV, tem atividade antioxidante. (7)

- Múltiplos nevos melanocíticos. (8)

- Nevo displásico. A presença de nevo displásico está associado a um aumento de 1,5 a 10x no risco de melanoma, sendo que quanto maior o número de nevos displásicos mais elevado é o risco. (9)

- Sardas. (9)

- Imunossupressão. Sabe-se que há um aumento da incidência de melanoma em indivíduos transplantados. (10) Indivíduos infectados pelo vírus HIV possuem um risco 2,6x maior do que indivíduos não infectados, além de apresentar um pior prognóstico. (11)

- História familiar de melanoma. Cerca de 8 a 14% dos pacientes possuem história familiar de melanoma, sendo que o principal gene identificado relacionado a melanoma familiar é o *CDKN2A*. Mutações em outros genes predisponentes (*CDK4, BAP1, TERT, POT1, ACD, TERF2IP* e *MITF*) são mais raros. (2, 12, 13)

Os melanomas são mais comuns entre os 30 e 60 anos de idade, com uma frequência ligeiramente maior em homens do que em mulheres. Ocorrem em qualquer parte da pele, e podem atingir as mucosas. (14)

O mnemônico ABCDE pode ajudar a identificar um melanoma. A letra A vem de **a**ssimetria, já que no melanoma há perda da simetria (normalmente encontrada nos nevos melanocíticos). A letra B refere-se às **b**ordas da lesão, que são irregulares no melanoma. A letra C corresponde à **c**oloração heterogênea, ao contrário dos nevos melanocíticos que são uniformemente pigmentados. A letra D refere-se ao **d**iâmetro superior a 6mm e a letra E significa **e**xpansão em superfície ou modificação do aspecto da lesão. (14)

Podem ser classificados em diversos tipos com características epidemiológicas, histológicas e prognósticos diferentes. (14)

O melanoma extensivo superficial corresponde a 70% dos melanomas, ocorrendo principalmente no tronco, dorso em homens e membros inferiores nas mulheres. Apresenta-se como lesão levemente elevada, com margens irregulares e coloração variada. (14) Aproximadamente 50% possuem mutações no gene *BRAF* e 15-25% mutações no gene *NRAS*. Estes tendem a ser mais espessos e apresentar uma taxa mitótica mais elevada. (15) No exame histopatológico observam-se células neoplásicas isoladas ao longo da junção dermoepidérmica ou formando ninhos, frequentemente com invasão pagetóide da epiderme e podendo exibir invasão da derme. (16)

O melanoma nodular corresponde a 15-30% dos casos, ocorre mais comumente na quinta década de vida, é agressivo e pode crescer rapidamente em poucas semanas. É uma lesão nodular ou polipoide de coloração negro-azulada a vermelha, ocorrendo principalmente no tronco de homens e perna de mulheres, frequentemente confundidas com hemangioma ou granuloma piogênico. (14, 15) Aproximadamente 50% possuem mutações no gene *BRAF* e 20% no gene *NRAS*. (15) Na histopatologia predomina o componente invasor e a epiderme adjacente à lesão apresenta no máximo 2 cones epiteliais acometidos. (16)

O melanoma lentiginoso acral é a forma mais comum em negros e asiáticos, mais comumente na sexta década de vida, principalmente nas regiões palmoplantares e falanges distais. (14) Este melanoma comumente possui mutação do gene *kit*. (15) À histologia a epiderme é hiperplásica com proliferação de melanócitos na camada basal, melanocitose pagetoide e prolongamentos dendríticos pigmentados por entre os queratinócitos. (16)

O lentigo maligno é um tipo de melanoma in situ mais comumente encontrado na face de indivíduos idosos com pele danificada pelo sol. Cresce por um longo período antes de se tornar invasivo, podendo se tornar bastante extenso à apresentação mesmo sendo restrito à epiderme. Quando ocorre invasão (lentigo maligno melanoma), comporta-se da mesma maneira que um melanoma invasivo *de novo.* Ao exame histopatológico observa-se atrofia e retificação da epiderme, elastose solar e proliferação de melanócitos na camada basal da epiderme. (15)

Melanoma é um diagnóstico histológico. Lesões pigmentadas e não pigmentadas clinicamente suspeitas para melanoma devem ser excisadas e submetidas a exame histopatológico. (15) Algumas características associam-se à índole maligna e são úteis para o diagnóstico de melanoma:

- Assimetria horizontal e vertical: Lesões com silhueta assimétrica, margens laterais opostas com diferentes morfologias, distribuição irregular do pigmento melânico, distribuição irregular dos ninhos na junção dermoepidérmica e uma epiderme com diferentes espessuras, por vezes mais fina ou ulcerada são características que podem favorecer melanoma. O infiltrado linfocitário é geralmente assimétrico nos melanomas enquanto nos nevos é uniformemente distribuído. (16, 17)

- Padrão lentiginoso extenso: consiste de melanócitos alinhados individualmente em áreas da epiderme.

- Falta de circunscrição: circunscrição é definida pela presença de ninhos de melanócitos nos limites da lesão. A falta de circunscrição ocorre na maioria dos melanomas extensivos superficiais. O melanoma nodular é exceção, já que se apresenta como uma lesão nitidamente bem circunscrita.

- Ninhos de melanócitos grandes, confluentes e irregulares.

- Perda da maturação dos melanócitos: maturação é um fenômeno que consiste na diminuição do tamanho dos melanócitos nas porções mais profundas da lesão. Os melanócitos também perdem a pigmentação e se tornam mais alongados. A maturação é característica dos nevos melanocíticos e geralmente ausente nos melanomas.

- Consumo da epiderme: adelgaçamento de parte da epiderme com perda dos cones epiteliais, provavelmente associado a ulceração incipiente.

- Disseminação pagetoide: presença de melanócitos neoplásicos intraepidérmicos acima da camada basal.

- Atipias citológicas: presença de melanócitos grandes (epitelióides) e fusiformes, pleomorfismo nuclear com variação do diâmetro do núcleo e da distribuição da cromatina, hipercromasia e nucléolo eosinofílico proeminente podem indicar uma natureza maligna.

- Elevado número de mitoses: encontro de número signficiativo de mitoses, mitoses agrupadas ou mitoses na porção mais profunda da lesão são sugestivas de melanoma.

- Necrose tumoral

- Sinais de dano solar: qualquer lesão melanocítica juncional ou composta que se desenvolve em pele severamente danificada pelo sol, caracterizado por elastose solar acentuada, deve ser considerado um provável melanoma. (16, 17, 18)

O laudo de melanoma relata as feições que permitiram o estabelecimento do diagnóstico assim como as características que são importantes para o prognóstico e conduta. O prognóstico é dependente principalmente da espessura do tumor. (18) Wallace H. Clark, em 1969, percebendo a relação entre a profundidade de invasão do melanoma e o prognóstico, desenvolveu um sistema baseado em níveis de envolvimento anatômico cutâneo, classificando os melanomas de acordo com a

profundidade máxima de invasão da lesão nos níveis da derme ou tecido subcutâneo, sendo o nível I: *in situ*; nível II: invasão superficial da derme; nível III: lesão preenche a derme papilar; nível IV: há invasão da derme reticular; nível V: alcança o tecido subcutâneo. (16, 19, 20, 21)

1.2 Medida de Breslow

A profundidade de invasão como fator prognóstico também foi reportada por Alexander Breslow em 1970, que demonstrou uma correlação da espessura do melanoma com risco de recorrência e metástase. Particularmente ele encontrou que melanomas com espessura menor do que 0,76 mm não evoluíram com recorrência ou metástases. (19, 21)

Estudos posteriores, mostraram que o nível de Clark, embora ainda justificadamente adotado, possui um valor preditivo baixo, é menos reproduzível e é mais operador-dependente quando comparado com a medida de Breslow. (19)

A medida micrométrica de Breslow tornou-se o fator mais importante para prognóstico e conduta, sendo utilizado amplamente e está incluído nos sistemas de estadiamento da AJCC (American Joint Committee on Cancer). A medida de Breslow define o estadiamento patológico, tamanho das margens da excisão e aplicabilidade da biópsia de linfonodo sentinela. (22, 23)

A medida de Breslow é mensurada utilizando-se um micrômetro ocular, escala de Vernier do microscópio, uma régua micrométrica sobre a lâmina ou programas de computador para mensuração de imagens digitalizadas. A medida é então realizada desde a porção mais superficial da camada granulosa (ou da camada espinhosa em sua ausência) até a porção mais profunda do tumor (Figuras 1 e 2). (17) Se a lesão é ulcerada, a medida começa desde a base da úlcera. Nestes casos a espessura poderá estar subestimada pois não se está levando em conta a quantidade de tumor perdida devido à ulceração (Figura 3). De acordo com a oitava edição da AJCC a mensuração deve ser arredondada para o décimo de milímetro (0,1mm) mais próximo, e não mais para o centésimo de milímetro como utilizado previamente, devido à imprecisão e impraticidade desta última medida. (24, 25) Convencionou-se ainda arredondar os valores na casa dos centésimos para baixo aqueles que terminam de 1 a 4 e para cima aqueles que terminam de 5 a 9 (Por exemplo, um melanoma medindo 0,75 mm de espessura seria arredondado para 0,8

mm. E aqueles que medem entre 0,95 mm e 1,04 mm são arredondados para 1,0mm). (25, 26)

Existem algumas particularidades na mensuração do Breslow como: a espessura apenas pode ser avaliada de forma acurada em cortes perpendiculares à superfície da epiderme; (26) caso haja extensão perianexial do melanoma e este represente o único foco de invasão, a espessura de Breslow deve ser mensurada a partir do centro da estrutura anexial que teve origem; (27) a espessura de Breslow não pode ser determinada em casos de ressecção superficial da lesão apenas. (26) A mensuração pode ser difícil na pele acral devido à epiderme extensamente espessada. (24) Portanto, percebe-se que a medida de Breslow possui algumas limitações. Quando há presença de ulceração, a medida começa deste a base da úlcera já que não há camada granulosa; e, quando há ausência da camada granulosa como ocorre na região ungueal, a mensuração pode ser desafiadora (28). Além disso a medida de Breslow não leva em conta as variações de espessura da epiderme normal nos diferentes sítios anatômicos, podendo mostrar diferenças mesmo quando o componente invasivo possui espessura semelhante, já que inclui a espessura total da epiderme. Sabe-se que, por exemplo, a pele acral possui uma epiderme mais espessa enquanto algumas áreas da face como a pele da região posterior da orelha possuem uma epiderme mais fina. (29, 30) Soma-se o fato de que para o subtipo de melanoma acral lentiginoso o valor da medida de Breslow para prognóstico ainda é discutido. (31)

Figura 1. Espessura de Breslow. A mensuração é realizada utilizando-se de um micrômetro ocular desde a camada granulosa até a célula tumoral mais profunda.

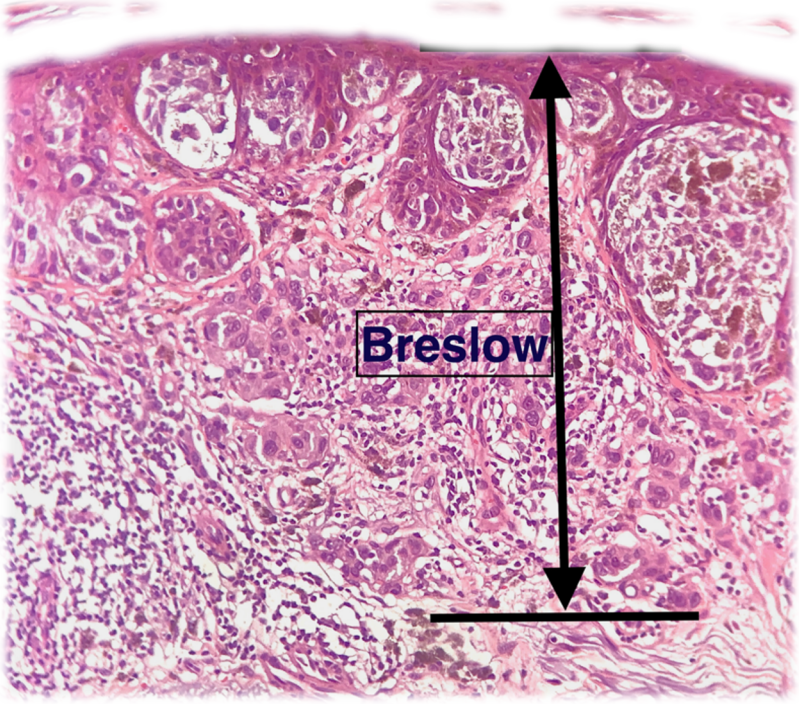


Figura 2. Espessura de Breslow. Neste exemplo a medida de Breslow é de 0,8mm.

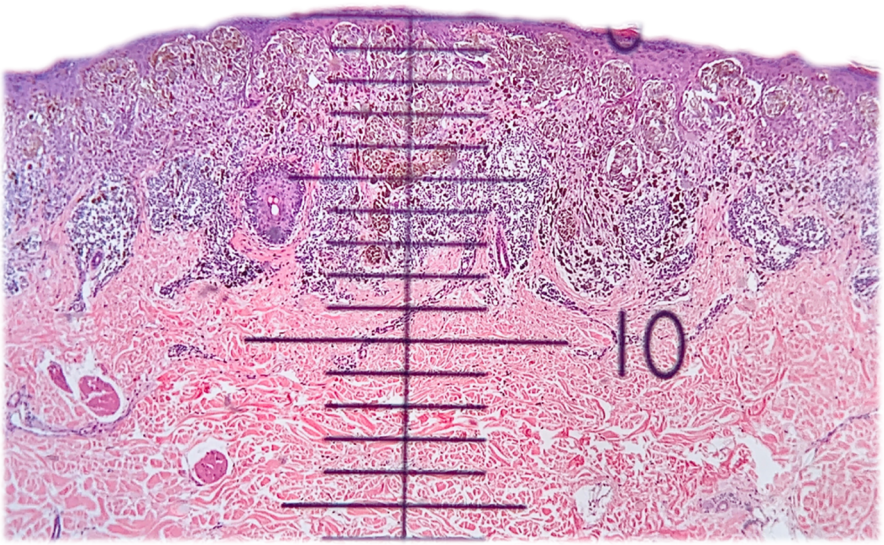
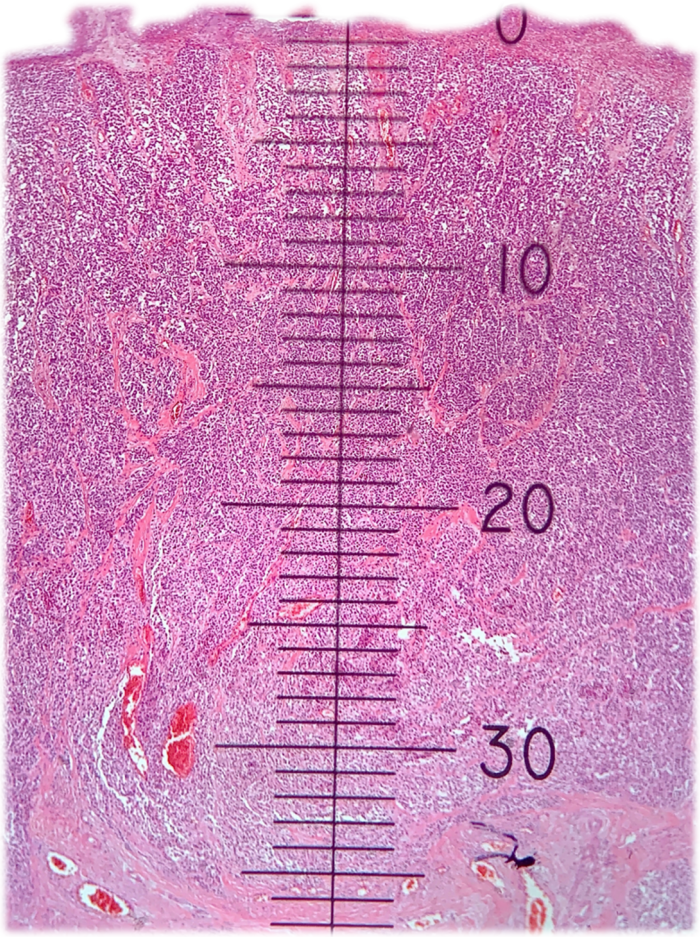


Figura 3. Espessura de Breslow em melanoma com ulceração. Mensura-se à partir da base da úlcera. Neste exemplo a espessura de Breslow é de 3,6mm.



1.3 Estadiamento patológico (Tamanho)

A oitava edição do Manual de Estadiamento do Câncer da AJCC (2017) estabelece a seguinte divisão da categoria T, de T1 a T4 de acordo com a espessura do tumor (22):

- TX: espessura do tumor primário não pode ser mensurada (por exemplo, diagnóstico por curetagem).

- T0: Sem evidência de tumor primário (por exemplo, melanoma que sofreu regressão total)

- Tis: Melanoma *in situ*.

- T1: Menor ou igual a 1,0 mm, sendo T1a < 0,8mm sem ulceração e T1b < 0,8mm com ulceração ou 0,8 mm a 1,0 mm (com ou sem ulceração).

- T2: > 1,0 mm a 2,0 mm, sendo T2a sem ulceração e T2b com ulceração.

- T3: > 2,0 mm a 4,0 mm, sendo T3a sem ulceração e T3b com ulceração.

- T4: > 4,0 mm, sendo T4a sem ulceração e T4b com ulceração. (27, 25)

A sobrevida aproximada em 5 anos é de 95 - 100% para melanomas *in situ* e melanomas finos (espessura menor ou igual a 1,0 mm) e varia de 50 - 96% para melanomas com mais de 1,0 mm de espessura sendo: 80 - 96% para melanomas de 1,1 mm a 2,0mm; 60 – 75% para melanomas de 2,1 mm a 4,0 mm; e 50% para melanomas com mais de 4,0 mm de espessura. (19, 32)

A ampliação de margens como parte do tratamento do melanoma cutâneo deve se basear na profundidade de Breslow. Para melanomas *in situ* a ampliação recomendada é de 0,5 – 1,0cm. Em melanomas com espessura menor ou igual a 1,0 mm (T1) a ampliação deve ser de 1,0cm. Para melanomas T2 (maior que 1,0 mm até 2,0mm), a ampliação pode ser de 1,0 cm a 2,0 cm devendo-se levar em consideração a localização do tumor, aspectos funcionais e cosméticos. E uma ampliação de margens de 2,0 cm é recomendada para tumores com espessura maior do que 2,0 mm (T3 e T4). (33)

Alguns estudos mostram que melanomas finos localizados na cabeça e pescoço exibem uma taxa maior de recorrência e metástases, possivelmente em consequência das margens cirúrgicas mais estreitas pela localização anatômica, por motivos estéticos e funcionais. Outra explicação plausível é de que a pele da cabeça e pescoço possui uma derme reticular mais fina, frequentemente danificada pela radiação solar. Por isso um Breslow fino poderia estar associado a um nível anatômico de invasão profundo. (34, 35, 36)

1.4 Linfonodo sentinela e outras características prognósticas

Os linfonodos regionais são os sítios mais comuns de metástases iniciais em pacientes com melanoma. A biópsia de linfonodo sentinela é uma técnica para detectar micrometástases linfonodais que contribui para determinar o prognóstico, adequar o tratamento e possui uma morbidade e efeitos adversos muito menores do que uma linfadenectomia eletiva. A biópsia de linfonodo sentinela deve ser discutida e recomendada / oferecida nos casos de melanoma com pelo menos 1,0mm de

espessura ou nos casos com menos de 1,0mm com características adversas (presença de ulceração, invasão linfovascular e/ou índice mitótico elevado principalmente em pacientes com menos de 40 anos). Melanomas com a espessura de Breslow maior ou igual a 1,0mm possuem um risco de aproximadamente 10% de invasão linfonodal, enquanto que em melanomas mais finos o risco é em torno de 5%. A dissecção linfonodal completa em pacientes com linfonodo sentinela positivo tradicionalmente tem sido recomendada, porém os estudos não demonstram uma diferença significativa na sobrevida dos pacientes submetidos ao procedimento. (33, 37)

Outras características importantes para o prognóstico incluem:

- Ulceração: a presença de ulceração, mesmo mínima tem impacto prognóstico. Além disso, a extensão da ulceração de um melanoma se correlaciona tanto com o status do linfonodo sentinela quanto à sobrevida geral. (38)

- Índice mitótico: é definido como o número de mitoses por milímetro quadrado no componente dérmico. Um índice mitótico elevado está fortemente associado a pior prognóstico, independente da espessura do tumor, ainda que esse parâmetro tenha sido excluído da última edição do AJCC para estadiamento (22)

- Invasão linfovascular: a presença de invasão está associada a maior risco de metástase para linfonodo sentinela assim como é um preditor de pior sobrevida geral em pacientes com evidência de regressão do tumor primário. (39)

- Infiltrado linfocitário: a presença de um infiltrado linfocitário tumoral denso (TIL "*tumor-infiltrating lymphocytes*", em que os linfócitos infiltram e rompem os ninhos tumorais e estão em contato direto com as células tumorais), está associado com um prognóstico favorável. (40)

- Necrose: presença de necrose tumoral está associado a uma maior espessura do melanoma, ulceração, invasão vascular, maior índice proliferativo e uma sobrevida geral reduzida. (41)

- Subtipo histológico: melanoma extensivo superficial possui características prognósticas melhores do que os subtipos lentiginoso acral e nodular. (42)

- Características clínicas como idade, sexo e localização do tumor. (18)

1.5 Tamanho macroscópico

De acordo com o conceito de progressão tumoral aplicado para melanomas, a primeira fase de crescimento é a radial, caracterizada por aumento do tumor em sua

periferia. A fase seguinte é a de crescimento vertical, em que o tumor adquire potencial metastático, caracterizado por uma nova população de células mitoticamente ativas que tendem a crescer como um nódulo expansivo intradérmico como um balão. (43, 44, 45, 46)

O tamanho macroscópico é um parâmetro utilizado para estadiamento do carcinoma de células escamosas e no melanoma uveal, porém não no melanoma cutâneo (47, 48), estando sua relevância ainda indeterminada neste caso. Raros estudos demonstraram correlação entre a dimensão macroscópica tumoral e a sobrevida (49, 50). Um estudo demonstrou através de análise multivariada, que a dimensão tumoral é um preditor independente de sobrevida específica do melanoma, reforçando a importância da informação quanto ao tamanho do tumor no laudo anatomopatológico. (49) Outro estudo comparou o valor prognóstico da maior largura microscópica do melanoma com a largura macroscópica, mostrando que ambas as mensurações estão associadas a prognóstico, embora a dimensão microscópica tenha sido superior. (50)

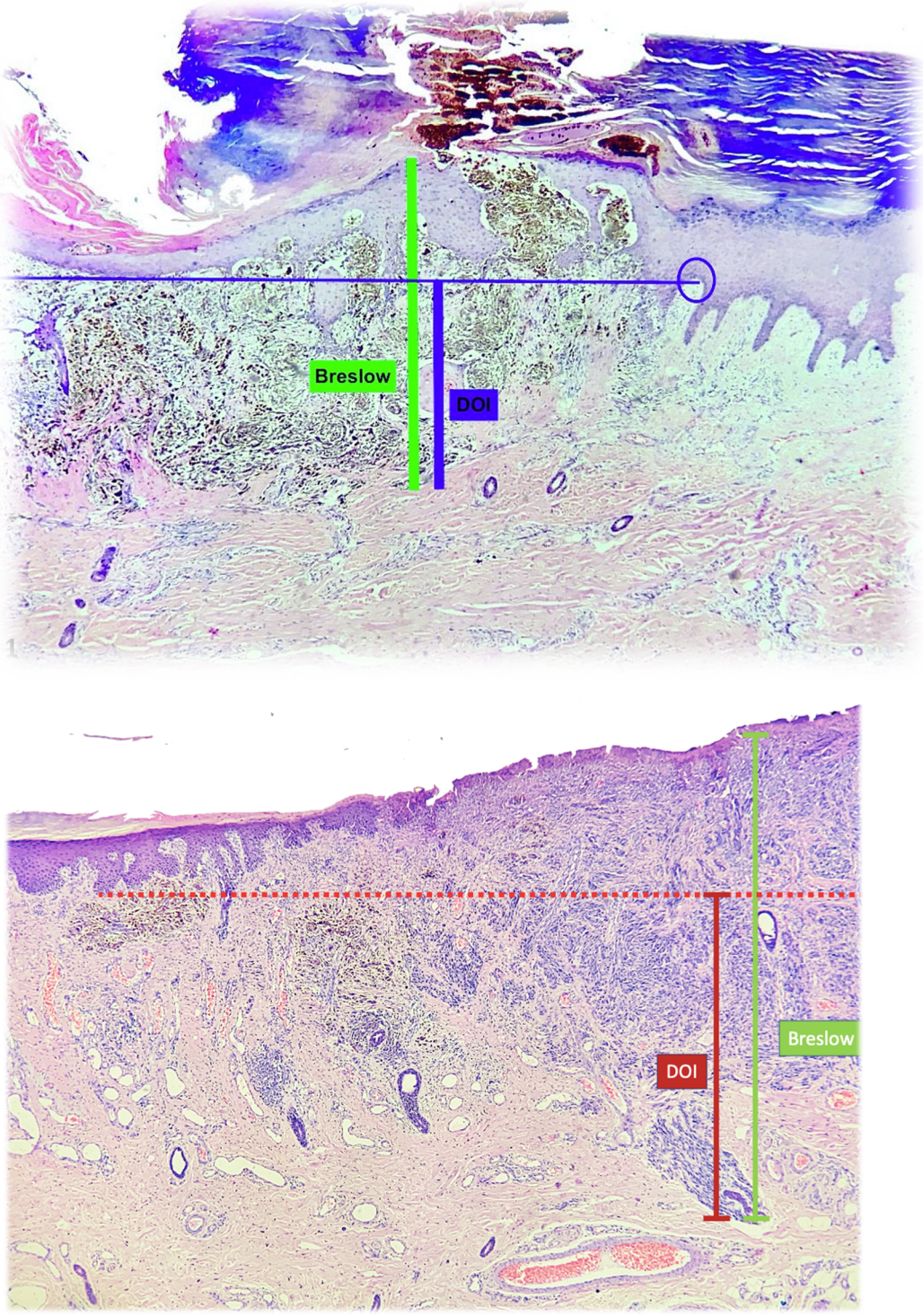
1.6 DOI (Depth Of Invasion)

O DOI (“Depth of Invasion”) ou “profundidade de invasão” é uma medida utilizada para estadiamento e prognóstico do carcinoma de células escamosas (CEC) da cavidade oral e foi incluído na oitava edição da American Joint Committee on Cancer (AJCC), enquanto a espessura tumoral (“tumor thickness”), uma mensuração com semelhanças à medida de Breslow, foi excluída. (51, 52) Para o CEC oral, um estudo demonstrou que a espessura tumoral não está associada a sobrevida específica do CEC oral, enquanto um aumento do DOI teve uma correlação significativa com redução da sobrevida específica. Outro estudo que comparou a espessura tumoral com o DOI encontrou que ambos estão independentemente associados com risco de metástase linfonodal. (52)

Existem diferenças na mensuração do DOI e da espessura tumoral. O DOI é medido da membrana basal normal adjacente até a porção mais profunda do tumor, em milímetros. (Figura 4) Já a espessura tumoral, assim como a medida de Breslow é mensurada do ponto mais alto da superfície tumoral até a porção mais profunda do tumor. No DOI, caso a membrana basal esteja comprometida ou ausente, uma linha hipotética é desenhada na superfície, permitindo a mensuração. (51, 52, 53). O DOI independe, portanto, da espessura do epitélio, da presença de ulceração ou

papilomatose, fatores estes que podem dificultar a medida de Breslow no melanoma cutâneo. Não há estudos, entretanto, avaliando a aplicabilidade do DOI em melanomas cutâneos e comparando com a medida de Breslow.

Figura 4. Comparação da medida de Breslow com DOI em pele não ulcerada (imagem superior) e ulcerada (imagem inferior), considerando a possível aplicação do DOI no melanoma cutâneo.



1.7 Estudo imunoistoquímico

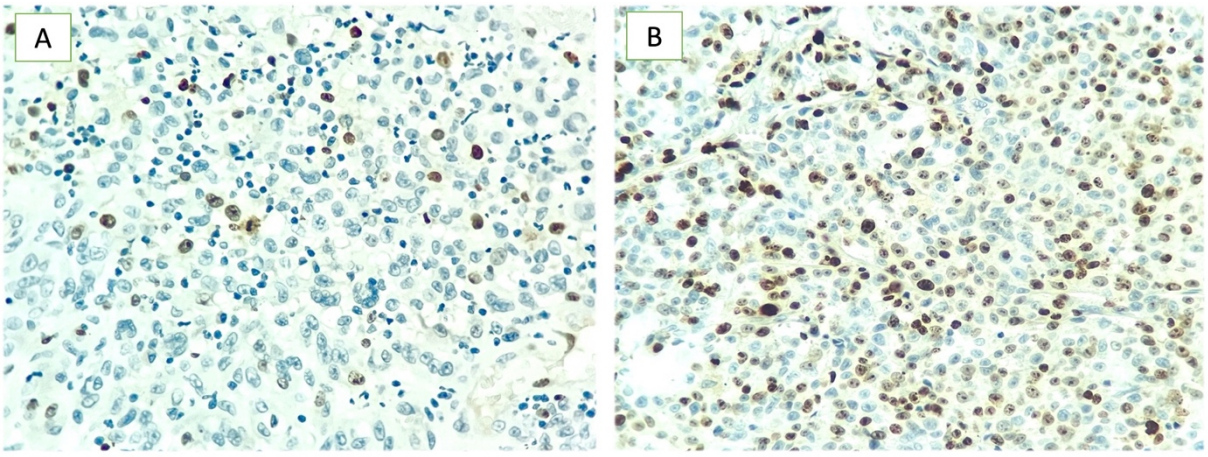
Os marcadores imunoistoquímicos são utilizados de forma complementar no estudo histopatológico, de diversas neoplasias, tanto para auxiliar no diagnóstico quanto no prognóstico. Vários marcadores são rotineiramente utilizados para o diagnóstico do melanoma, porém, até o momento não há marcadores imunoistoquímicos consolidados para avaliação prognóstica dos melanomas cutâneos que estejam incorporados nos protocolos de estadiamento (22, 54)

O Ki-67 é uma proteína encontrada no núcleo de células em proliferação, codificada pelo gene *MK167*, e é expressa nas fases G1, S, G2 e M do ciclo celular, mas não na G0. O antígeno Ki-67 pode reagir com seu anticorpo monoclonal MIB-1, tornando-se, portanto, um importante marcador de proliferação celular para a graduação de diversos tipos de câncer. (55, 56)

Vários estudos mostram uma correlação entre a expressão do Ki-67/MIB-1 e um pior prognóstico no câncer de ovário, câncer de mama, carcinoma de células escamosas do esôfago, câncer de pulmão, carcinoma do ducto e vesícula biliar, câncer cervical, dentre outros. (56)

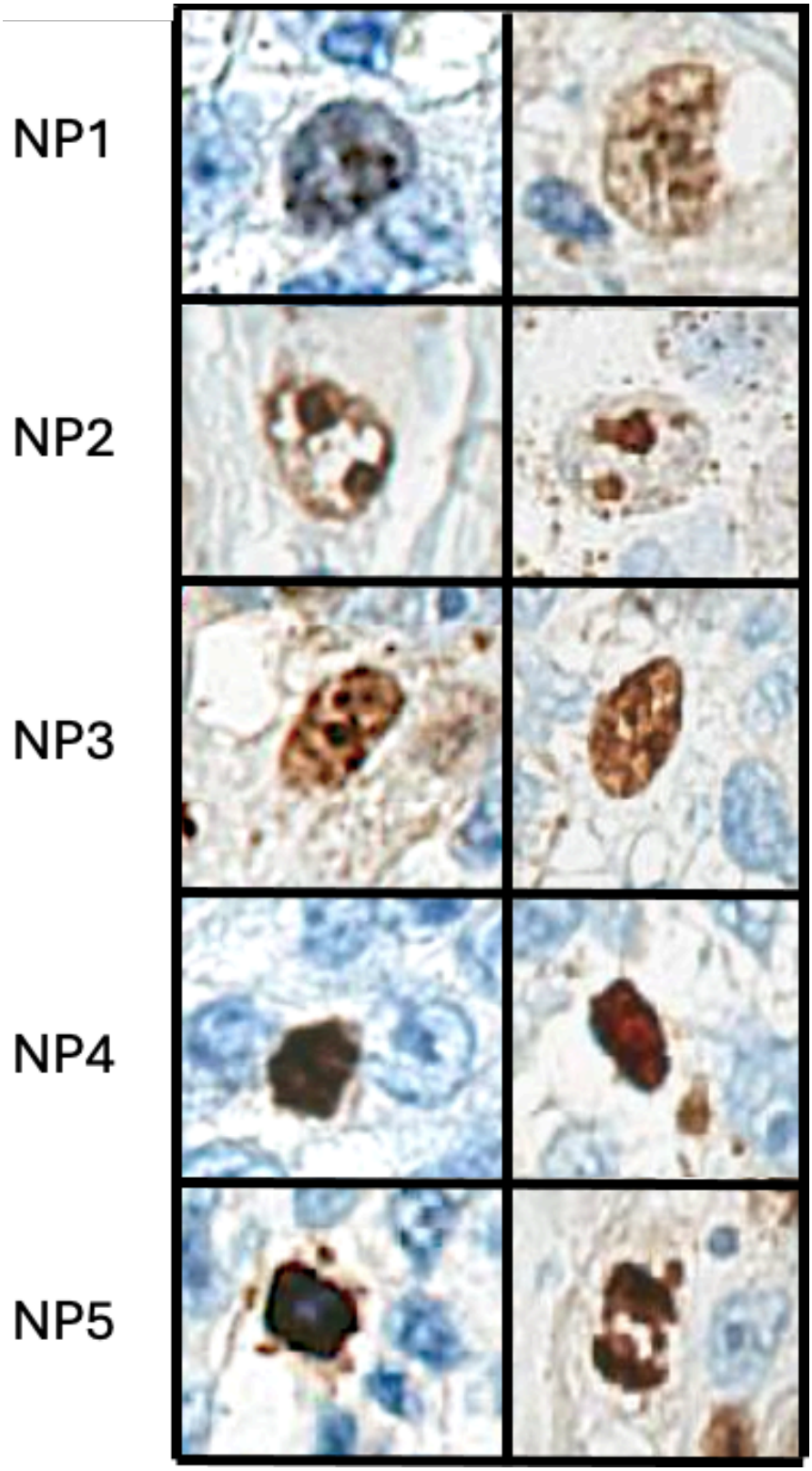
O índice do Ki-67 também é um fator prognóstico significativo no melanoma, sendo que o aumento de sua expressão está relacionado à diminuição da sobrevida. (57) Um trabalho mostrou que uma contagem mitótica maior ou igual a 1 por milímetro quadrado e expressão do Ki-67 em 20% ou mais das células tumorais é um fator prognóstico independente para metástases em melanomas finos, com uma taxa de metástase em 10 anos de cerca de 39%. (58) Um estudo demonstrou índices do Ki-67 significativamente mais elevados nos pacientes com metástases em linfonodo sentinela. (59) Outro estudo mostrou que o MIB-1 não é um fator prognóstico independente, porém está associado a parâmetros clinicopatológicos preditivos de pior evolução clínica (maior espessura e maior estádio). (60) Índice elevado do Ki-67 também foi associado a uma maior medida de Breslow. (61) (Figura 5)

Figura 5. Exemplo de índice do Ki-67 baixo (A) e elevado (B).



Além disso, verificou-se que o Ki-67 possui um padrão de marcação distinto durante os vários estágios do ciclo de proliferação celular (55, 62). (Figura 6) Localiza-se na região ao redor do cromossomo no começo da mitose; na forma de centenas de focos homogeneamente distribuídos na fase G1 inicial; um ou dois nucléolos na fase G1 tardia; grânulos grosseiros densos na fase S; grânulos e nódulos irregulares no nucleoplasma na fase G2. (63, 64) Um estudo de Dias et al., mostrou diferenças significativas no padrão de expressão do Ki-67 entre lesões epiteliais benignas e lesões epiteliais malignas ou pré-malignas. (64) Não há, entretanto, estudos que avaliaram o padrão de marcação do Ki-67 no melanoma cutâneo até o momento.

Figura 6. Exemplos de padrões de marcação nuclear do Ki-67 de acordo com a fase do ciclo celular, sendo NP1 (G1 inicial), NP2 (G1 tardio), NP3 (fase S), NP4 (G2) e NP5 (mitose)



O PRAME (*PReferentially expressed Antigen in MElanoma*), gene correspondente aos cDNAs 5E10 e Hi2 foi descrito pela primeira vez por Ikeda et al., em 1997. Trata-se de um antígeno tumoral identificado através da análise da especificidade de clones tumorais reativos de células T derivados de pacientes com melanoma cutâneo metastático em que as células do melanoma perderam a expressão de várias moléculas HLA. (65) Codificado em uma região de 12 quilobases no cromossomo 22, o PRAME atua como um correpressor da sinalização ligante-dependente do receptor do ácido retinoico que auxilia na inibição da diferenciação celular e apoptose (66, 67, 68) É expresso em alguns tecidos normais como testículos, adrenais, ovário e endométrio. (65) Nas neoplasias, além do melanoma cutâneo, o PRAME também é expresso no melanoma ocular (69), carcinoma da mama (70), carcinoma renal (71), carcinoma ovariano (72), sarcoma sinovial (73), carcinoma não de pequenas células pulmonar, dentre outros. (74, 68)

A alta frequência de expressão do PRAME (cerca de 90%) nos melanomas convencionais o tornou útil para diferenciar de nevos melanocíticos que em sua maioria são negativos para o PRAME (quando positivos, geralmente são focais, ao contrário dos melanomas que apresentam marcação difusa), e também na distinção dos melanomas metastáticos para linfonodo com os nevos melanocíticos nodais. Além da utilidade no diagnóstico, o PRAME é membro da família dos antígenos do câncer testicular (CTA) tornando-o um possível alvo na imunoterapia. (74, 75).

O PRAME foi identificado como um possível biomarcador para avaliação de prognóstico e risco de metástases em diversos tumores. (74, 68) O aumento da expressão do PRAME em estágios mais avançados da doença e a associação com maior risco de metástase sugere que o PRAME desempenha um papel na aquisição de várias características do câncer incluindo a capacidade de invasão e metástases. Demonstrou-se que o PRAME facilita a motilidade celular aumentando o comportamento invasivo do câncer de mama triplo negativo in vitro. (68) Foi evidenciado que uma alta expressão do PRAME se associa com um pior prognóstico clínico no câncer de mama aumentando-se a taxa de metástases a distância e menor sobrevida total. (70) No osteosarcoma, a alta expressão do PRAME se associa com pior prognóstico e maior risco de metástases pulmonares. (76) Em carcinomas espinocelulares da cabeça e pescoço, a intensidade de expressão do PRAME esteve diretamente relacionada ao grau da neoplasia, ao tamanho do tumor, metástases

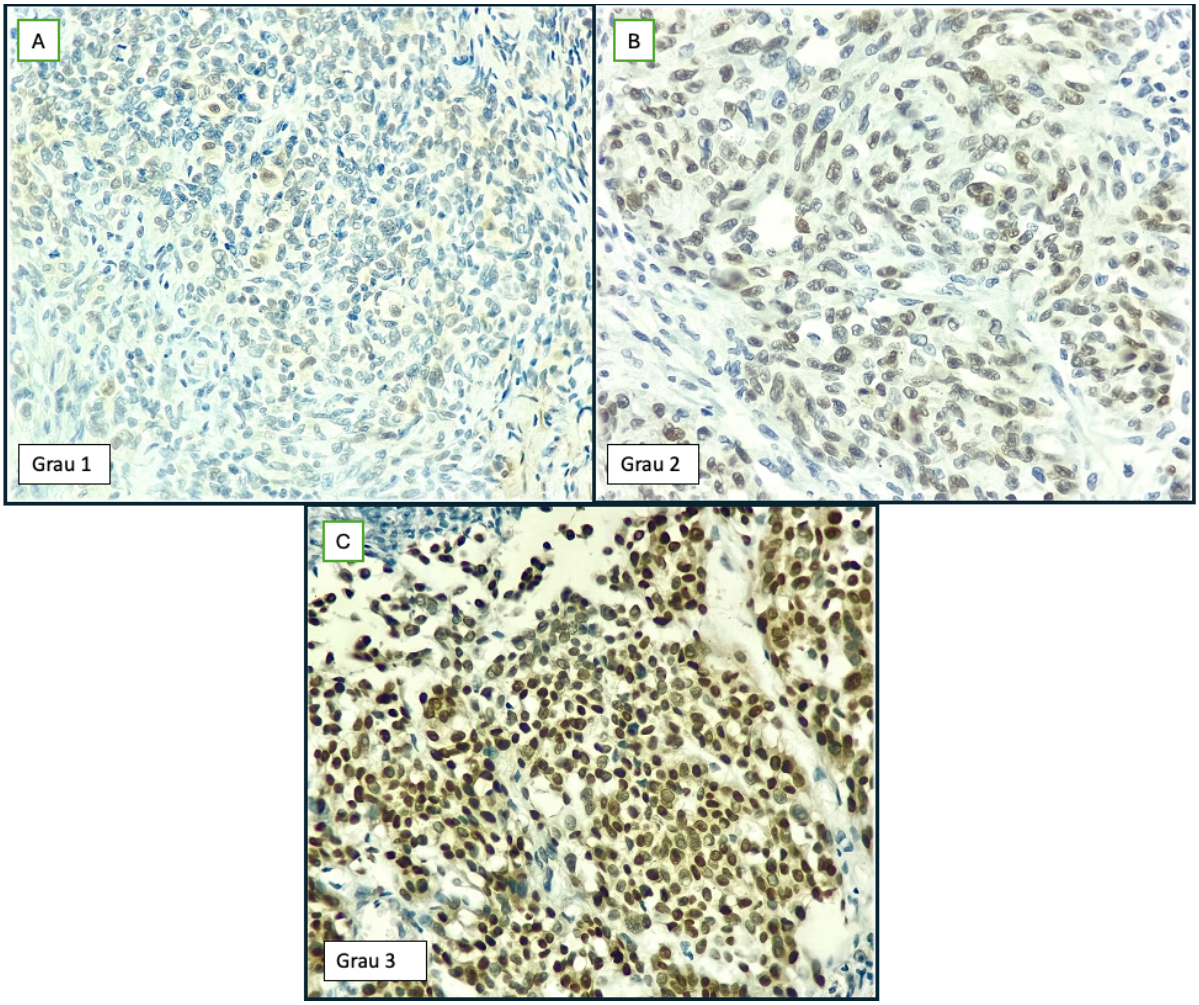
linfonodais e progressão da doença. (77). No melanoma uveal a expressão do PRAME foi fortemente associada ao risco de metástases e a um maior diâmetro do tumor (69).

Apesar de existirem vários estudos sobre o uso do PRAME para o diagnóstico de melanoma, raros estudos focaram na relação entre PRAME e prognóstico do melanoma. Os escassos estudos existentes não demonstraram correlação entre a expressão do PRAME com a sobrevida geral ou específica do melanoma cutâneo. (61, 78, 79). Quanto ao risco de metástases linfonodais, um estudo com melanomas do tipo lentiginoso acral mostrou uma maior expressão do PRAME naqueles casos com metástases em linfonodo do que naqueles livres de metástase. (80)

Para avaliação do PRAME no melanoma cutâneo a maioria dos estudos adota a estratificação utilizada por Lezcano et al., que leva em conta a extensão da expressão do PRAME em toda a área tumoral, sendo: 0= negativo; 1= entre 1% e 25% de células neoplásicas positivas; 2= entre 26% e 50%; 3= entre 51% e 75%; 4= entre 76% e 100%. Os estudos iniciais evidenciaram que os melanomas cutâneos exibem expressão difusa (grau 4) na maioria dos casos (mais de 80%). Entretanto estudos posteriores demonstram uma maior variabilidade da extensão de expressão do PRAME. (74, 81, 61)

Outro estudo adota ainda a intensidade da marcação do PRAME, sendo classificado em graus: 0= negativa; 1= fraca; 2= moderada; 3= forte (Figura 7). E um escore combinado consistindo na soma do grau de intensidade com a classificação da extensão da marcação, variando então de 0 a 7. (82). Um trabalho também demonstrou uma correlação entre o índice do Ki-67 mais elevado e uma maior expressão do PRAME. (61)

Figura 7. Graus de intensidade do PRAME: A = grau 1 (fraca), B = grau 2 (moderada), C = grau 3 (forte)



REFERÊNCIAS

1- MIREA, M. *et al.* Insights into Differentiation of Melanocytes from Human Stem Cells and Their Relevance for Melanoma Treatment. **Cancers**, [S.L.], v. 12, n. 9, p. 2508, 2020.

2- NIKOLAOU, V.; STRATIGOS, A.J.. Emerging trends in the epidemiology of melanoma. **British Journal of Dermatology**, [S.L.], v. 170, n. 1, p. 11-19, 2014.

3- INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil:** Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/estimativa-2023.pdf> Acesso em: abr. 2024.

4- MENDES, G. L. Q. **Melanoma no Brasil: Tendência Temporal de Mortalidade com Modelagem idade-período-coorte, e Análise de sobrevida em coorte hospitalar.** 2014. 134f. Tese (Doutorado) – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca. Rio De Janeiro. 2014.

5- IARC – International Agency for Research on Cancer. **Exposure to artificial UV radiation and skin cancer**. Lyon (France); 2005. Disponível em: <https://publications.iarc.fr/_publications/media/download/4033/c6dbb6ef039134a92cce28b4bfc7ce5d21ad9a8f.pdf> Acesso em: abr. 2024.

6- MULLIKEN, J. S.; RUSSAK, J. E.; RIGEL, D. S.. The Effect of Sunscreen on Melanoma Risk. **Dermatologic Clinics**, [S.L.], v. 30, n. 3, p. 369-376, 2012.

7- LABERGE, Greggory S. et al. Recent Advances in Studies of Skin Color and Skin Cancer. **Yale Journal of Biology and Medicine**, [S.L.], v. 93, p. 69-80, 2020.

8- HOLLY, E. A. *et al.* Number of melanocytic nevi as a major risk factor for malignant melanoma. **Journal of The American Academy Of Dermatology**, [S.L.], v. 17, n. 3, p. 459-468, 1987.

9- CARR, S.; SMITH, C.; WERNBERG, J.. Epidemiology and Risk Factors of Melanoma. **Surgical Clinics of North America**, [S.L.], v. 100, n. 1, p. 1-12, 2020.

10- BREWER, J. D.. Melanoma in immunosuppressed patients. **Expert Review of Dermatology**, [S.L.], v. 5, n. 3, p. 247-250, 2010.

11- FACCIOLÀ, A. *et al.* Malignant melanoma in HIV: epidemiology, pathogenesis, and management. **Dermatologic Therapy**, [S.L.], v. 33, n. 1, 2019.

12- CARVALHO, C. A. *et al.* Melanoma hereditário: prevalência de fatores de risco em um grupo de pacientes no sul do brasil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [S.L.], v. 79, n. 1, p. 53-60, 2004.

13- ROSSI, M. *et al*. Familial melanoma: diagnostic and management implications. **Dermatology Practical & Conceptual**, [S.L.], p. 10-16, 2019.

14- RIVITTI, Evandro A. **Manual de dermatologia clínica de Sampaio e Rivitti**. São Paulo: Artes Médicas, 2014.

15- PERERA, E. *et al.* Malignant Melanoma. **Healthcare**, [S.L.], v. 2, n. 1, p. 1-19, 2013.

16- BILLIS, A.; ALTEMANI, A. M.; ANDRADE, L. A.. **Patologia Diagnóstica de Tumores**. 3. ed. Campinas: Idb, 2017.

17- MASSI, Guido; LEBOIT, Philip E. **Histological Diagnosis of Nevi and Melanoma**. 2. ed.: Springer, 2014

18- SMOLLER, B. R. Histologic criteria for diagnosing primary cutaneous malignant melanoma. **Modern Pathology**, [S.L.], v. 19, n. 2, p. 34-40, 2006.

19- RONCATI, L.; VERGARI, B.; GAUDIO, A. The 'All-or-None Law' Applied to the Vertical Growth Phase of Cutaneous Malignant Melanoma. **Chonnam Medical Journal**, [S.L.], v. 53, n. 3, p. 234, 2017.

20- CLARK, Jr.; WALLACE, H. *et al.* The Histogenesis and Biologic Behavior of Primary Human Malignant Melanomas of the Skin. **Cancer Research**, [S.L.], v. 29, n. 3, p. 705-727, 1969.

21- BRESLOW, A. Thickness, Cross-Sectional Areas and Depth of Invasion in the Prognosis of Cutaneous Melanoma. **Annals of Surgery**, [S.L.], v. 172, n. 5, p. 902-908, 1970.

22- AMIN, Mahul B. **AJCC Cancer Staging Manual**. 8 ed. Chicago: Springer, 2017.

23- SWETTER, S. M. *et al*. Guidelines of care for the management of primary cutaneous melanoma. **Journal of the American Academy of Dermatology**. V. 80, n. 1, p. 208–50, 2019.

24- TEJERA-VAQUERIZO, A. *et al.* Protocolo de diagnóstico histológico para muestras de pacientes con melanoma cutáneo. Documento de consenso de la SEAP y la AEDV para el Registro Nacional de Melanoma. **Actas Dermo-Sifiliográficas**, [S.L.], v. 112, n. 1, p. 32-43, jan. 2021.

25- GERSHENWALD, J. E. *et al*. Melanoma staging: evidence-based changes in the american joint committee on cancer eighth edition cancer staging manual. CA**: A Cancer Journal for Clinicians**, [S.L.], v. 67, n. 6, p. 472-492, 2017.

26- SCOLYER, R. A. *et al.* Data Set for Pathology Reporting of Cutaneous Invasive Melanoma. **American Journal of Surgical Pathology**, [S.L.], v. 37, n. 12, p. 1797-1814, 2013.

27- SCOLYER, R. A. *et al*. Melanoma pathology reporting and staging. **Modern Pathology**, [S.L.], v. 33, n. 1, p. 15-24, 2019.

28- TAN, K. B. *et al*. Subungual melanoma: a study of 124 cases highlighting features of early lesions, potential pitfalls in diagnosis, and guidelines for histologic reporting. **The American Journal of Surgical Pathology**. [S.L.], v. 31, n. 12, p. 1902-12, 2007.

29- CHOPRA, K. *et al*. A Comprehensive Examination of Topographic Thickness of Skin in the Human Face. **Aesthetic Surgery Journal**. v.35, n.8, p. 1007-1013, 2015.

30- OLTULU, P. *et al*. Measurement of epidermis, dermis, and total skin thicknesses from six different body regions with a new ethical histometric technique. **Turkish Journal of Plastic Surgery**. v. 26, n. 2, p. 56-61, 2018.

31- WEI, X. *et al*. Prognostic impact of Breslow thickness in acral melanoma: A retrospective analysis. **Journal of the American Academy of Dermatology**. v. 87, n. 6, p. 1287–94, 2022.

32- ROBERTS, D.L.L. *et al*. U.K. guidelines for the management of cutaneous melanoma. **British Journal of Dermatology**, [S.L.], v. 146, n. 1, p. 7-17, 2002.

33- SWETTER, S. M. *et al.* Guidelines of care for the management of primary cutaneous melanoma. **Journal of The American Academy of Dermatology**, [S.L.], v. 80, n. 1, p. 208-250, 2019.

34- GUITART, J. *et al.* Histological Characteristics of Metastasizing Thin Melanomas. **Archives of Dermatology**, [S.L.], v. 138, n. 5, p. 603-608, 2002.

35 ANDERSSON, A. P.; DAHLSTRØM, K. K.; DRZEWIECKI, K. T. Prognosis of thin cutaneous head and neck melanoma. **European Journal of Surgical Oncology (EJSO)**, [S.L.], v. 22, n. 1, p. 55-57, 1996.

36- VILMER, C. *et al.* Thin melanomas with unusual aggressive behavior: a report of nine cases. **Journal of The American Academy Of Dermatology**, [S.L.], v. 34, n. 3, p. 439-444, 1996.

37- PLOEG, A. P. T. *et al.* Prognosis in patients with sentinel node-positive melanoma without immediate completion lymph node dissection. **British Journal of Surgery**, [S.L.], v. 99, n. 10, p. 1396-1405, 2012.

38- SARPA, H. G. *et al.* Prognostic Significance of Extent of Ulceration in Primary Cutaneous Melanoma. **American Journal of Surgical Pathology**, [S.L.], v. 30, n. 11, p. 1396-1400, 2006.

39- EGGER, M. E. *et al.* Lymphovascular Invasion as a Prognostic Factor in Melanoma. **The American Surgeon**, [S.L.], v. 77, n. 8, p. 992-997, 2011.

40- AZIMI, F. *et al.* Tumor-Infiltrating Lymphocyte Grade Is an Independent Predictor of Sentinel Lymph Node Status and Survival in Patients With Cutaneous Melanoma. **Journal of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 30, n. 21, p. 2678-2683, 2012.

41- BACHMANN, I. M. *et al*. Tumor necrosis is associated with increased alphavbeta3integrin expression and poor prognosis in nodular cutaneous melanomas. **BMC Cancer**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-10, 2008.

42- OCANHA-XAVIER, J. P. XAVIER-JUNIOR, J. C. C.; MARQUES, M. E. A. Melanoma: clinical, evolutive and histopathological characteristics of a series of 136 cases. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [S.L.], v. 93, n. 3, p. 373-376, 2018.

43- CLARK, W. H. *et al*. A study of tumor progression: The precursor lesions of superficial spreading and nodular melanoma. **Human Pathology**. v. 15, n. 12, p. 1147-1165, 1984.

44- McDERMOTT, N. C. *et al*. Identification of vertical growth phase in malignant melanoma. A study of interobserver agreement. **American Journal of Clinical Pathology**. v. 110, n. 6, p. 753-7, 1998

45- ELDER, D. E. Melanoma progression. **Pathology**. v. 48, n. 2, p. 147-54, 2016

46- LAGA, A.C.; MURPHY, G.F; Cellular heterogeneity in vertical growth phase melanoma. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine.** v. 134, n. 12, p. 1750-7, 2010.

47- SHIELDS, C. L. *et al*. American Joint Committee on Cancer Classification of Uveal Melanoma (Anatomic Stage) Predicts Prognosis in 7,731 Patients: The 2013 Zimmerman Lecture. **Ophthalmology.** v. 122, n. 6, p. 1180-6, 2015

48- CHENG, J.; Yan S. Prognostic variables in high-risk cutaneous squamous cell carcinoma: a review. **Journal of Cutaneous Pathology**. v. 43, n. 11, p. 994-1004, 2016.

49- MA, Q. *et al*. Prognostic significance of tumor size for primary invasive cutaneous melanoma: A population-based study, 2004-2016. **Cancer Medicine**. v. 9, n. 13, p. 4561-4571, 2020.

50- BAMFORD, M. *et al*. Comparison of the prognostic value of microscopically measured invasive width versus macroscopic width in cutaneous melanoma shows the superiority of microscopic invasive width measurement. **Journal of Cutaneous Pathology.** v. 49, n. 6, p. 536–42, 2022

51- LEE, Y. J. *et al*. Evaluation of Depth of Invasion and Tumor Thickness as a Prognostic Factor for Early-Stage Oral Squamous Cell Carcinoma: A Retrospective Study. **Diagnostics.** v. 12, n. 1, 2021.

52- SALAMA, A. M. *et al*. Depth of invasion versus tumour thickness in early oral tongue squamous cell carcinoma: which measurement is the most practical and predictive of outcome? **Histopathology.** v. 79, n. 3, p. 325–37, 2020

53- GHAZI, N. *et al*. Importance of depth of invasion in patients with oral squamous cell carcinoma: A review article. **Journal of Orofacial Sciences.** v. 10, n. 1, p. 3-6, 2018.

54- FERRINGER, T. Immunohistochemistry in Dermatopathology. **Archives Of Pathology & Laboratory Medicine**, [S.L.], v. 139, n. 1, p. 83-105, 2015.

55- SUN, X.; KAUFMAN, P. D. Ki-67: more than a proliferation marker. **Chromosoma**, [S.L.], v. 127, n. 2, p. 175-186, 2018.

56- CHEN, G*. et al.* The Prognostic Role of Ki-67/MIB-1 in Cervical Cancer: a systematic review with meta-analysis. **Medical Science Monitor**, [S.L.], v. 21, p. 882-889, 2015.

57- NIELSEN, P. S. *et al.* Proliferation indices of phosphohistone H3 and Ki67: strong prognostic markers in a consecutive cohort with stage i/ii melanoma. **Modern Pathology**, [S.L.], v. 26, n. 3, p. 404-413, 2012.

58- GIMOTTY, P. A. *et al.* Biologic and Prognostic Significance of Dermal Ki67 Expression, Mitoses, and Tumorigenicity in Thin Invasive Cutaneous Melanoma. **Journal Of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 23, n. 31, p. 8048-8056, 2005.

59- UDOVIČIĆ-GAGULA, D. *et al*. Expression of Ki-67 and Estrogen Receptor Beta in Primary Cutaneous Melanoma as a Potential Indicator of Regional Lymph Node Positivity. **Applied Immunohistochemestry & Molecular Morphology**. v. 27, n. 1, p. 27-32, 2019.

60- HAZAN, C. *et al.* Evaluation of the proliferation marker MIB-1 in the prognosis of cutaneous malignant melanoma. **Cancer**, [S.L.], v. 95, n. 3, p. 634-640, 2002.

61- PARRA, O. *et al*. PRAME expression in cutaneous melanoma does not correlate with disease-specific survival. **Journal of Cutaneous Pathology** 2023;903–912.

62- VERHEIJEN, R. *et al*. Ki-67 detects a nuclear matrix-associated proliferation-related antigen. II. Localization in mitotic cells and association with chromosomes. **Journal of Cell Science**. Pt. 4, p: 531-40, 1989.

63- MATHESON, T. D.; KAUFMAN, P. D. The p150N domain of chromatin assembly factor-1 regulates Ki-67 accumulation on the mitotic perichromosomal layer. **Molecular Biology of the Cell.** v. 28, n. 1, p. 21-29, 2017.

64- DIAS, E. P. *et al*. A novel evaluation method for Ki-67 immunostaining in paraffin-embedded tissues. **Virchows Archiv**. v. 479, n. 1, p. 121-131, 2021.

65- IKEDA, H*. et al.* Characterization of an Antigen That Is Recognized on a Melanoma Showing Partial HLA Loss by CTL Expressing an NK Inhibitory Receptor. **Immunity**, [S.L.], v. 6, n. 2, p. 199-208, 1997.

66- GRADECKI, S. E.; SLINGLUFF, C. L.; GRU, A. A. PRAME expression in 155 cases of metastatic melanoma. **Journal Of Cutaneous Pathology**, [S.L.], v. 48, n. 4, p. 479-485, 2020.

67- EPPING, M. T. *et al.* The Human Tumor Antigen PRAME Is a Dominant Repressor of Retinoic Acid Receptor Signaling. **Cell**, [S.L.], v. 122, n. 6, p. 835-847, 2005.

68- AL-KHADAIRI, G.; DECOCK, J. Cancer Testis Antigens and Immunotherapy: where do we stand in the targeting of prame?. **Cancers**, [S.L.], v. 11, n. 7, p. 984, 2019.

69- FIELD, M. G. *et al.* PRAME as an Independent Biomarker for Metastasis in Uveal Melanoma. **Clinical Cancer Research**, [S.L.], v. 22, n. 5, p. 1234-1242, 2016.

70- DOOLAN, P. *et al.* Prevalence and prognostic and predictive relevance of PRAME in breast cancer. **Breast Cancer Research And Treatment**, [S.L.], v. 109, n. 2, p. 359-365, 2007.

71- NEUMANN, E. *et al.* Heterogeneous Expression of the Tumor-associated Antigens RAGE-1, PRAME, and Glycoprotein 75 in Human Renal Cell Carcinoma: Candidates for T-Cell-based Immunotherapies? **Cancer Research**, v. 58, n.18, p. 4090-4095, 1998.

72- ZHANG, W. *et al.* PRAME expression and promoter hypomethylation in epithelial ovarian cancer. **Oncotarget**, [S.L.], v. 7, n. 29, p. 45352-45369, 2016.

73 IURA, K. *et al.* Cancer-testis antigen expression in synovial sarcoma: ny-eso-1, prame, magea4, and magea1. **Human Pathology**, [S.L.], v. 61, p. 130-139, 2017.

74- LEZCANO, C. *et al.* PRAME Expression in Melanocytic Tumors. **American Journal Of Surgical Pathology**, [S.L.], v. 42, n. 11, p. 1456-1465, 2018.

75- LEZCANO, C. *et al.* Immunohistochemistry for PRAME in the Distinction of Nodal Nevi From Metastatic Melanoma. **American Journal Of Surgical Pathology**, [S.L.], v. 44, n. 4, p. 503-508, 2019.

76- TAN, P. *et al.* Expression and prognostic relevance of PRAME in primary osteosarcoma. **Biochemical And Biophysical Research Communications**, [S.L.], v. 419, n. 4, p. 801-808, 2012.

77- SZCZEPANSKI, M. J. *et al.* PRAME expression in head and neck cancer correlates with markers of poor prognosis and might help in selecting candidates for retinoid chemoprevention in pre-malignant lesions. **Oral Oncology**, [S.L.], v. 49, n. 2, p. 144-151, 2013.

78- GASSENMAIER M. *et al*. Diffuse PRAME Expression Is Highly Specific for Thin Melanomas in the Distinction from Severely Dysplastic Nevi but Does Not Distinguish Metastasizing from Non-Metastasizing Thin Melanomas. **Cancers.** v. 13, n. 15, 2021.

79- BELLO, G. *et al*. PRAME expression in 137 primary cutaneous melanomas and comparison with 38 related metastases. **Pathology - Research and Practice** , v. 251, 2023

80- HU, J. *et al*. Preferentially expressed antigen in melanoma immunohistochemistry as an adjunct for differential diagnosis in acral lentiginous melanoma and acral nevi. **Human Pathology,** v.120, p. 9–17, 2022.

81- RAWSON, R. V. *et al*. Diagnostic utility of PRAME, p53 and 5-hmC immunostaining for distinguishing melanomas from naevi, neurofibromas, scars and other histological mimics. **Pathology,** v. 54, n. 7, p. 863–873, 2022.

82- HORNICK, J. L. *et al*. PRAME Expression Is a Useful Tool in the Diagnosis of Primary and Metastatic Dedifferentiated and Undifferentiated Melanoma. **American Journal of Surgical Pathology,** v. 47, n. 12, p. 1390–1397, 2023.