

Tratamento do melanoma maligno

Leonor Isabel Castendo Ramos

Interna do Internato Complementar de Dermatovenereologia – 1º ano

Serviço de Dermatovenereologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra

Avenida Bissaya Barreto

3000-075 Coimbra

Índice

Resumo/ <i>Abstract</i>	4
Palavras-Chave/ <i>Keywords</i>	6
Introdução	7
Objectivos	9
Tratamento do melanoma	10
1. Tratamento cirúrgico	
1.1. Tratamento cirúrgico de melanomas em estádios I e II	10
1.1.1. Factores de prognóstico de tumores em estádios I e II	10
1.1.2. Excisão cirúrgica e margens de excisão	11
1.1.3. Biópsia do gânglio sentinela	12
1.2. Tratamento cirúrgico de melanomas em estágio III	18
1.2.1. Factores de prognóstico de tumores em estágio III	18
1.2.2. Linfadenectomia	18
1.3. Tratamento cirúrgico de melanomas em estágio IV	20
1.3.1. Factores prognósticos de melanoma em estágio IV	20
1.3.2. Metastasectomia	20
2. Tratamento adjuvante	
2.1. Radioterapia (RT)	21
2.2. Quimioterapia (QT)	24
2.3. Perfusão regional hipertérmica	26
2.4. Infusão regional hipertérmica	29

2.5. Imunoterapia	30
2.5.1. INF alfa (IFN- α)	31
2.5.2. Interleucina – 2 (IL-2)	32
2.5.3. Factor de crescimento dos granulócitos – macrófagos	33
2.6. Bioquimioterapia (BioQT)	34
2.7. Vacinas antitumorais	35
2.8. Transferência de células T	37
3. Nova geração de terapia para o melanoma maligno: alvos biológicos e moleculares	
3.1. Vias intracelulares	42
3.1.1. Vias MAPK e BRAF	44
3.1.2. Proteínas AKT e inibição do mTor	45
3.1.3. Vias antiapoptóticas	45
3.2. Superfície celular	46
3.2.1. HMW-MAA	46
3.2.2. Anticorpos (Acs) anti-integrinas	47
3.3. Imunoterapia	47
3.3.1. Imunorregulação	47
3.3.2. Vascularização tumoral	51
3.3.2.1. Factor de necrose tumoral (TNF)	51
3.3.2.2. Factor de crescimento vascular endotelial (VEGF)	52
3.3.2.3. Talidomida	53
3.3.2.4. Trombospondina	53
3.4. Terapia Génica	53

3.5. Novos candidatos	54
3.5.1. Células-tronco	54
3.5.2. Quimiocinas	56
Conclusões	56
Bibliografia	58
Anexos	60

Tratamento do melanoma maligno

Resumo/Abstract

A incidência do melanoma tem vindo a aumentar nas últimas décadas. Apesar de constituir uma pequena fracção dos tumores cutâneos, é responsável pela maioria das mortes por neoplasias da pele.

A excisão cirúrgica com margem adequada é a única abordagem com um papel potencialmente curativo, pelo que continua a ser a pedra-angular do tratamento. As principais alterações que se registaram na abordagem cirúrgica foram a revisão das margens de segurança (ainda hoje não consensuais) e a introdução da biópsia selectiva do gânglio sentinela, com valor prognóstico indiscutível, mas desprovida de valor no prolongamento da sobrevivência global dos doentes. As linfadenectomias estão indicadas apenas nos doentes com invasão tumoral do gânglio sentinela ou com metástases ganglionares clinicamente detectáveis no momento do diagnóstico ou durante a evolução.

O melanoma avançado é resistente à maioria das terapêuticas disponíveis, pelo que os tratamentos adjuvantes visaram reduzir o potencial de disseminação da doença e, por essa via, melhorar a sobrevivência. Neste contexto, a imunoterapia com interferão alfa (INF- α) foi desenvolvida em diversos protocolos, aplicando-se principalmente aos melanomas com disseminação linfática. Posteriormente, foram surgindo outras terapêuticas com fundamento imunológico, como a interleucina-2 (IL-2) e outras citocinas recombinantes, os linfócitos infiltrantes do tumor (células TIL) ou células dendríticas activadas, diversos tipos de vacinas antitumorais e alguns anticorpos monoclonais (ipilimumab).

O uso de agentes quimioterápicos isolados ou em associação está reservado para a doença metastática, com taxas de resposta bastante reduzidas. Todavia, a quimioterapia intra-

-arterial sob hipertermia (perfusão ou infusão regional hipertérmica) tem demonstrado taxas de resposta elevadas quando aplicada às metástases cutâneas em trânsito nos membros.

Os avanços mais recentes no conhecimento da biologia do melanoma abarcam a identificação de moléculas importantes na oncogénese e progressão desta neoplasia, permitindo delinear novos alvos terapêuticos. Têm surgido fármacos com acção anti-angiogénica (bevacizumab), inibidores de tirosina cinases (sorafenib, axitinib) e fármacos que interferem com a sobrevivência celular (oblimersen).

The incidence of melanoma is on rise in the last few decades. Although it is responsible for only a small fraction of cutaneous tumors, it's responsible for most of the deaths caused by skin neoplasms.

Surgical excision with an appropriate margin is the only potentially curative modality, being the cornerstone of melanoma treatment. The main developments affecting the surgical management of melanoma were the width of the surgical margins (which are still non consensual) and the introduction of sentinel lymph node biopsy, with an undeniable prognostic value but unsupplied of clinical value in prolonging the patient's overall survival. Complete lymph node dissection is only indicated in patients with positive sentinel lymph node or with clinically palpable metastatic lymph nodes at the time of diagnosis or during the evolution of the disease.

Metastatic melanoma is resistant to most of the available therapies. The development of adjuvant treatments aimed the reduction of tumor dissemination and improves patient's quality of life. In this context, immunotherapy with alfa-interferon was developed in multiple protocols, mainly for lymphatic progressive melanomas. Other immunological therapies were also studied, like IL-2 and other recombinant cytokines, adoptive T-cell or dendritic cell transfer, trials with cancer vaccines and monoclonal antibodies (ipilimumab).

The use of isolated cytotoxic chemotherapy or in association with other kind of treatments is purely reserved for metastatic disease, with very poor responses. Nowadays, however, administration of high doses of intra-arterial chemotherapy (isolated limb perfusion or infusion) has revealed dramatic tumor response when applied to in-transit metastases in limb tumors.

The understanding of melanoma biology disclosed important molecules in oncogenesis and disease progression, allowing the outline of new therapeutic targets. Anti-angiogenic strategies (bevacizumab), tyrosine-kinase inhibitors (sorafenib, axitinib) and molecules that interfere with cell survival have been emerging and explored in clinical trials.

Palavras-Chave/Keywords

Melanoma maligno, cirurgia, gânglio sentinela, quimioterapia, imunoterapia, vacinas antitumorais, terapia biológica.

Malignant melanoma, surgical excision, sentinel lymph node, chemotherapy, immunotherapy, cancer vaccines, biological therapies.

Introdução

O melanoma maligno é um tumor com origem nos melanócitos, células produtoras de pigmento derivadas da crista neural que normalmente estão presentes entre as células da camada basal da epiderme.

Apesar de constituir uma minoria dos tumores cutâneos (cerca de 5%), é a neoplasia cutânea associada a maior morbimortalidade, com significativo impacto socioeconómico.

O melanoma é a 6ª neoplasia mais comum no sexo masculino e a 7ª no sexo feminino (Yao K. et al., 2009), afectando predominantemente adultos jovens e de meia-idade.

A incidência do melanoma está a aumentar a um ritmo de 4,1%/ ano (Wargo e Tanabe, 2009), ou seja, mais rapidamente do que qualquer outra neoplasia, à excepção do cancro do pulmão. Os motivos deste crescimento permanecem desconhecidos, supondo-se que o aumento da exposição solar, especialmente nos primeiros anos de vida, possa ter um papel importante.

São conhecidos múltiplos factores de risco: exposição à radiação ultravioleta, história familiar de melanoma, neoplasias cutâneas prévias, múltiplos nevos melanocíticos adquiridos, nevos displásicos, imunossupressão, fototipo I, fenótipo pigmentar (olhos azuis, cabelo ruivo e efélides) e nevos congénitos gigantes.

Existem 4 tipos anatomo-clínicos principais de melanoma: melanoma de crescimento superficial (70% dos melanomas), lântigo maligno-melanoma (4 a 10% dos melanomas), melanoma lentiginoso acral (2 a 8% dos melanomas) e melanoma nodular (15% dos melanomas), existindo adicionalmente outros tipos bastante menos frequentes (melanoma desmoplásico, melanoma tipo animal, melanoma nevíide, melanoma das mucosas, etc.). Os diferentes tipos, à excepção do melanoma nodular, têm um padrão de crescimento que compreende uma fase de crescimento radial e uma fase subsequente de crescimento vertical

invasivo. O melanoma nodular salienta-se por demonstrar crescimento invasivo desde o início da sua evolução.

Lesões pigmentadas benignas podem ser distinguidas do Melanoma Maligno [MM] inicial, utilizando o acrónimo ABCDE para o melanoma maligno: A (assimetria), B (bordos irregulares), C (coloração variável), D (diâmetro), E (elevação e crescimento). Esta avaliação simples constitui um auxílio importante no diagnóstico diferencial.



Fig. 1 – Diferentes tipos de melanoma passíveis de distinção pelo ABCDE <www.melanoma.com>

Qualquer lesão cutânea suspeita deve ser submetida a biópsia excisional em profundidade que permita a confirmação do diagnóstico e a avaliação da espessura do tumor. A biópsia incisional só é admissível no caso de lesões de grandes dimensões ou localizadas em determinadas regiões anatómicas que impossibilitem a biópsia excisional. Ao contrário do que anteriormente se pensava, a biópsia incisional não aumenta o risco de disseminação tumoral, mas não permite avaliar de forma inequívoca a espessura máxima do melanoma.

O relatório histopatológico deverá incluir a espessura tumoral em milímetros (índice de Breslow), o nível anatómico de invasão (nível de Clark), a presença de ulceração, a existência

de regressão, o índice mitótico, a infiltração linfocitária peritumoral e a presença de invasão perineural, vascular ou linfática.

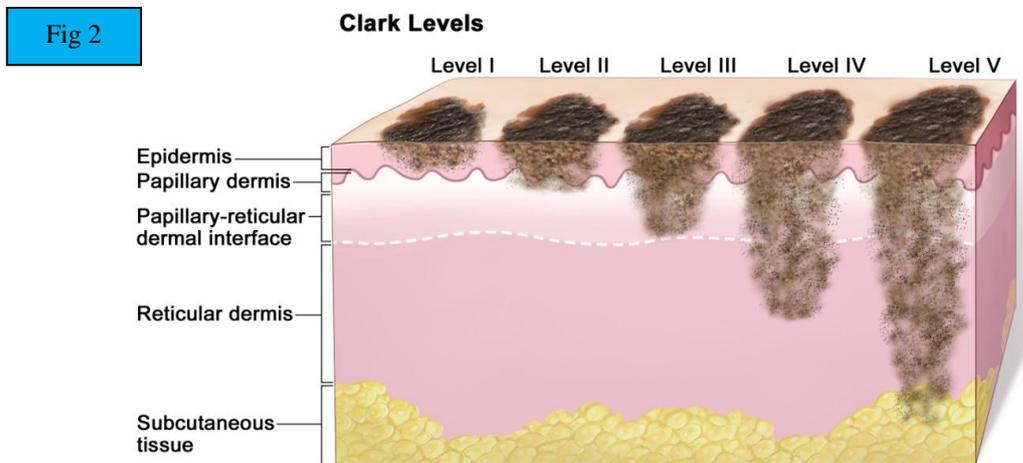


Fig. 2 – Níveis de Clark do MM: no nível I, as células do MM estão confinadas à epiderme; no nível II, as células do MM invadem as papilas dérmicas e no III ocupam a derme papilar; no nível IV, as células do MM atingem a derme reticular, e no nível V atingem o tecido celular subcutâneo < www.med.uni-bonn.de>

O factor prognóstico mais importante é o estágio do tumor. O sistema de estadiamento baseia-se na profundidade microscópica do tumor (índice de Breslow), na presença de ulceração, no envolvimento ganglionar e na existência de localizações secundárias (ver Anexos).

Objectivos

O presente trabalho propõe-se fazer uma revisão das terapêuticas actualmente disponíveis no tratamento do melanoma maligno, focando os novos alvos biológicos e moleculares que poderão servir de base para terapias futuras.

Tratamento do melanoma

1. Tratamento cirúrgico

A excisão cirúrgica com margem adequada é a única abordagem com potencial curativo para melanomas malignos em estádios iniciais. É também, quando exequível, o tratamento de eleição da doença metastática, associando-se a uma sobrevivência mais longa.

1.1. Tratamento cirúrgico de melanomas em estádios I e II

1.1.1. Factores de prognóstico de tumores em estádios I e II

A maioria dos doentes com melanomas malignos (cerca de 80%) tem tumores clinicamente localizados. Múltiplos factores prognósticos são apontados para uma melhor estratificação do risco nestes doentes. Num melanoma maligno em estágio inicial, os factores prognósticos mais importantes são a espessura tumoral (que varia de T1 a T4) e a presença ou a ausência de ulceração. Ambos apresentam repercussões a nível da sobrevivência global aos 5 anos. À medida que a espessura aumenta, a sobrevivência diminui significativamente, bem como quando se verifica ulceração (Wargo e Tanabe, 2009).

O nível de Clark poderá também ter implicações em termos prognósticos nos melanomas superficiais, embora a sua importância tenha vindo a diminuir à medida que novos factores vão sendo estudados.

Um dos mais recentes factores de prognóstico que parece ter grande importância na sobrevivência é o índice mitótico da lesão primária, podendo mesmo sobrepor-se à presença/ausência de ulceração (Wargo e Tanabe, 2009).

1.1.2. Excisão cirúrgica e margens de excisão

A excisão cirúrgica ampla da lesão, com margens de pele sã, é necessária para a completa remoção de todas as células malignas.

Um dos maiores avanços em termos cirúrgicos nos últimos 60 anos foi a diminuição da extensão da excisão primária do melanoma. Múltiplos estudos prospectivos foram realizados com o intuito de averiguar qual a margem cirúrgica mais adequada para cada espessura da lesão. Apesar de haver normas baseadas nestes ensaios, este ponto continua a ser bastante polémico.

O tratamento cirúrgico de melanomas em estádios iniciais é condicionado pela espessura da lesão (índice de Breslow). Esta determinará a margem cirúrgica adequada e a necessidade de biópsia do gânglio sentinela.

Consideram-se margens de 0,5 cm adequadas para lesões *in situ* e margens de 1 cm, se a espessura da lesão for inferior a 1 mm. Em lesões de espessura intermédia (entre 1 e 2 mm), deverão ser utilizadas margens entre 1 e 2 cm. Para lesões com maior profundidade (superiores a 2 mm de espessura), deverão ser adoptadas margens de 2 cm (Yao K. et al., 2009; Wargo e Tanabe, 2009).

Outros autores, porém, recomendam margens de 0,5 cm para melanoma *in situ*, margens de 1 cm, se a espessura for inferior a 1 mm, e margens de 2 cm se a espessura oscilar entre 1 e 4 mm (Sober A. et al., 2008).

A incisão deverá ser, quando possível, elíptica (comprimento-largura 3:1), devendo a excisão estender-se até à fáscia muscular ou músculo subjacente. A inclusão do tecido adiposo subcutâneo facilita a medição adequada da espessura e a avaliação das margens.

O encerramento da ferida pode realizar-se com retalhos ou enxertos cutâneos, se não houver possibilidade de encerramento directo (Sober A. et al., 2008).

Espessura de Breslow e margens cirúrgicas

Espessura da lesão (mm)	Margem cirúrgica recomendada
Melanoma <i>in situ</i>	0,5 cm
< 1,0 mm	1,0 cm
Espessura intermédia (1,1 – 2,0 mm)	1,0 – 2,0 cm
> 2,0 mm	2,0 cm

Quadro 1: Relação entre as margens cirúrgicas recomendadas e o índice de Breslow.

1.1.3. Biópsia do gânglio sentinela

No melanoma maligno, a invasão de gânglios linfáticos é um importante factor de prognóstico. O risco de envolvimento ganglionar correlaciona-se com a espessura da lesão primária e com a presença de ulceração.

Uma vez que o padrão de metastização do melanoma se inicia, geralmente, por invasão linfática, acreditava-se que a remoção das cadeias linfáticas regionais teria um potencial curativo em doentes com metástases ganglionares ocultas. Até à década de 1990, realizava-se linfadenectomia electiva a todos os doentes com melanoma de espessura superior a 1 mm com o objectivo de prevenir disseminação subsequente, já que este grupo de doentes apresentava alto risco de metástases ganglionares. Além dos múltiplos efeitos secundários que este procedimento origina (linfedema temporário ou crónico, parestesias, seroma, infecção e dor crónica), estudos prospectivos não mostraram qualquer benefício na sobrevivência nos doentes submetidos a linfadenectomia electiva (Markovic et al., 2007; Demierre M-F et al., 2008; Warbo e Tanabe, 2009), pelo que, actualmente, se considera não haver indicação para a sua realização.

No entanto, o estado dos gânglios linfáticos revela informação prognóstica significativa, auxiliando nas decisões terapêuticas.

Neste contexto, surge a biópsia do gânglio sentinela que tem como fundamento a premissa de que a drenagem do melanoma se efectua de um modo previsível e organizado, podendo o primeiro gânglio de drenagem (gânglio sentinela) predizer o estado dos outros gânglios da cadeia. Pode afirmar-se que a biópsia do gânglio sentinela substituiu a realização da linfadenectomia electiva.

As principais vantagens desta técnica são a maior sensibilidade na detecção de micrometástases em gânglios regionais (estadiamento linfático) e morbidade reduzida, já que se trata de uma intervenção minimamente invasiva. A biópsia do gânglio sentinela é actualmente um procedimento rotineiro para melanomas de espessura intermédia (1-2 mm) e o seu resultado é considerado o factor preditivo mais importante na sobrevivência destes doentes (Wargo e Tanabe, 2009).

A técnica consiste inicialmente na realização de uma linfocintigrafia pré-operatória (injecção de colóide marcado com Tc-99m nos quatro quadrantes da lesão) que fornece informação detalhada sobre as vias de drenagem linfática, identificando-se o(s) gânglio(s) linfático(s) sentinela, cerca de 30 minutos após a injecção. A realização da linfocintigrafia é especialmente importante nas lesões não localizadas nas extremidades, nas quais pode haver vias de drenagem variáveis.

Conseguem-se melhores resultados se à linfocintigrafia se adicionar injecção de contraste intradérmico perilesão, o que facilita a visualização do gânglio sentinela.

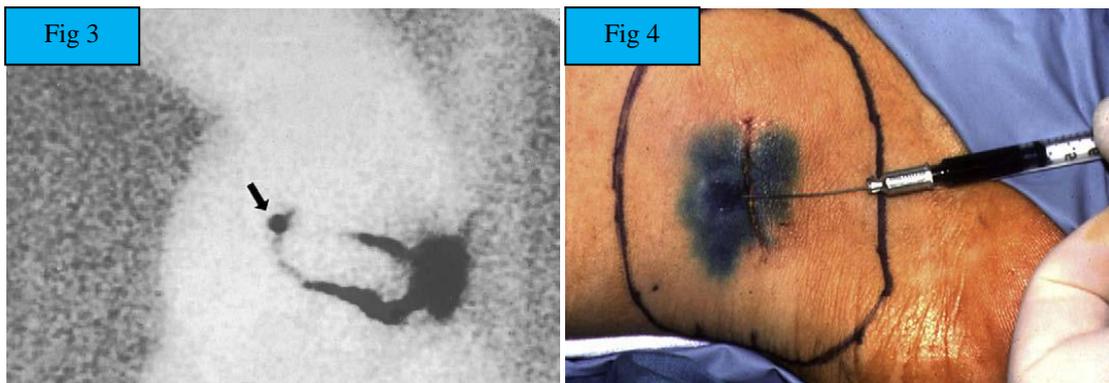


Fig. 3 – Linfocintigrafia: a injeção dérmica de colóide marcado com Tc99m em torno do melanoma dorsal revela gânglio sentinela axilar (from Surgical Management of Melanoma, 2009).

Fig. 4 – Injeção de contraste intradérmico perilesional, executada anteriormente à incisão cutânea na região linfática (from Surgical Management of Melanoma, 2009).

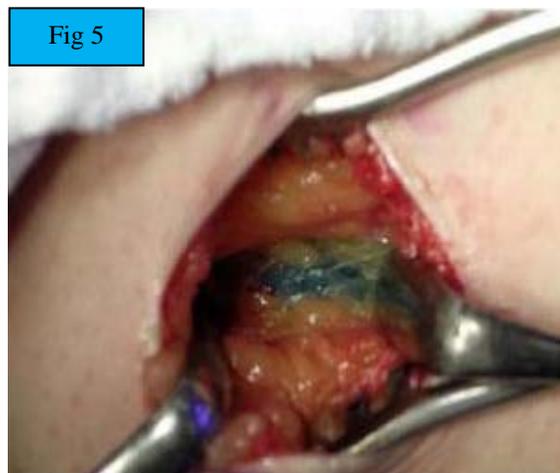


Fig. 5 – Identificação do gânglio sentinela <www.scielo.br>

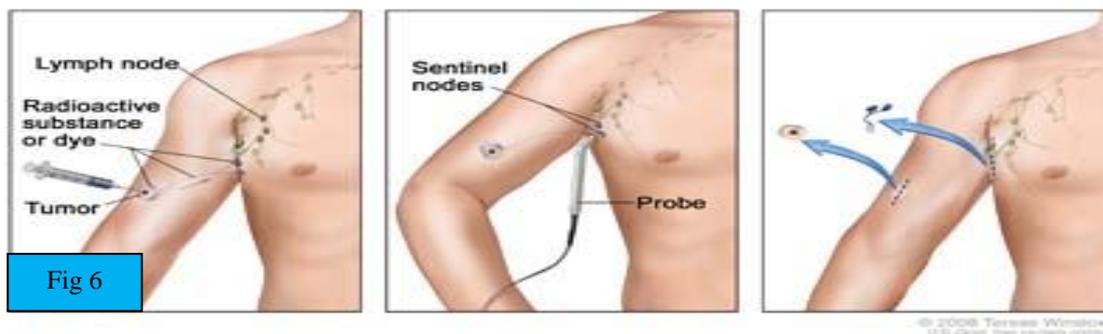


Fig. 6 – Esquema ilustrativo relativo à biópsia do gânglio sentinela <<http://www.meb.uni-bonn.de/cancer.gov/>>

Cada gânglio identificado é excisado e enviado para estudo. O exame do gânglio para micrometástases inclui preparação com hematoxilina-eosina (identificação de células de melanoma) e análise imunohistoquímica (proteína S-100, MART -1/Melan A e/ou HMB-45¹).

A utilização de *Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) está em fase experimental (Markovic et al., 2007). O estudo *Sunbelt Melanoma Trial* avaliou a utilização do RT-PCR para estadiamento molecular de gânglios sentinela negativos por histopatologia e imunohistoquímica. O objectivo era, através desta técnica, detectar mRNAs específicos de melanoma (tirosinase, MART 1, MAGE 3², gp 100). Os doentes que se revelaram positivos através da RT-PCR foram randomizados em 2 grupos: um foi submetido a observação e outro a linfadenectomia associada a interferão. No que respeita a sobrevivência global ou período livre de doença, não houve qualquer diferença entre os 2 grupos. O valor destas técnicas ainda não foi demonstrado (Wargo e Tanabe, 2009).

A biópsia do gânglio sentinela é importante para um estadiamento mais fidedigno e para a decisão sobre a necessidade de terapêuticas adjuvantes. A presença de um gânglio sentinela positivo diminui a sobrevivência global e a sobrevivência livre de doença.

¹ MelanA – antigénio do melanoma; MART 1 – anticorpo antimelanoma; HMB 45 – Human Melanoma Black 45 (anticorpo monoclonal que reage contra antigénios presentes nos tumores melanocíticos).

² MAGE – Melanoma Antigen Family A.

Um gânglio sentinela negativo torna desnecessária a realização de uma linfadenectomia, evitando a morbidade associada a este procedimento. No pólo oposto, a linfadenectomia é considerada rotina para qualquer doente com metástases ganglionares, mesmo se apenas focos microscópicos celulares estiverem presentes (Lawson, 2004; Swetter, 2008).

A indicação para a realização de biópsia do gânglio sentinela é, pois, determinada pela espessura de Breslow, já que à medida que a espessura da lesão aumenta, aumenta também a probabilidade de metástases ganglionares.

Para melanomas com espessura inferior a 1 mm não está recomendada a biópsia do gânglio sentinela, já que apenas 5% dos doentes a esta submetidos apresentam resultados positivos. No entanto, a existência de factores de risco histológicos adversos, tais como ulceração, fase de crescimento vertical, infiltração linfocítica, elevado índice mitótico (Markovic et al., 2007; Yao K. et al., 2009) podem ser indicação para a realização de biópsia de gânglio sentinela, assim como se o doente for do sexo masculino (Markovic et al., 2007).

Cerca de 20% dos doentes com melanoma de espessura intermédia (profundidade entre 1 e 4 mm) desenvolverão metástases ganglionares regionais (Guadagnolo e Zagars, 2009). Nestes casos, se a espessura da lesão for superior a 1 mm, preconiza-se a realização de biópsia do gânglio sentinela, salvo se houver sinais clínicos de invasão ganglionar (gânglios palpáveis ao exame objectivo).

O prognóstico dos doentes que apresentam melanomas de espessura superior a 4,0 mm é mau. Nestes doentes, a positividade da biópsia é bastante elevada (cerca de 40%), pelo que a realização deste procedimento, neste grupo, é considerada rotineira por alguns autores (Markovic et al., 2007; Yao K. et al., 2009). Há quem defenda (Katipamula, 2008), por neste grupo de doentes a probabilidade de disseminação sistémica ser já muito elevada, que a utilidade da biópsia adicional é incerta.

Os doentes que na altura do diagnóstico apresentem ao exame objectivo sinais clínicos de invasão ganglionar (cerca de 10%) terão de realizar estudo complementar imagiológico e analítico para se detectar doença metastática assintomática (radiografia do tórax, Tomografia Axial Computorizada [TAC] toraco-abdomino-pélvica, lactato desidrogenase [LDH] sérica). No caso de este estudo de extensão ser negativo, este grupo de doentes deverá ser encaminhado para esvaziamento ganglionar radical.

Verificou-se a existência de uma certa controvérsia relativamente à utilidade da biópsia do gânglio sentinela. Encontramos autores que afirmam que 14% dos doentes com gânglios negativos apresentarão recorrência da doença em 3 anos; outros, por sua vez, afirmam que os depósitos metastáticos microscópicos poderiam manter-se quiescentes ou ser destruídos pelo sistema imunitário do doente e que depósitos com dimensões inferiores a 0,1 mm não terão impacto no prognóstico. Um outro grupo questiona ainda o facto de se realizar biópsia do gânglio sentinela, se não há terapia adjuvante com bons resultados a oferecer aos doentes (Warbo e Tanabe, 2009).

Quando se compara o impacto em grupos com MM intermédio submetidos a biópsia do gânglio sentinela *versus* [vs] observação, verifica-se um aumento do período livre de doença, mas não se regista alteração a nível da sobrevivência (Katipamula e Markovic, 2008). A biópsia selectiva do gânglio sentinela, tendo valor prognóstico indiscutível, é desprovida de significado no prolongamento da sobrevivência global dos doentes.

Apesar das vantagens enumeradas, a técnica não está completamente implementada, havendo dados que afirmam que apenas 50% dos doentes com indicação para biópsia do gânglio sentinela a ela são efectivamente submetidos (Markovic et al., 2007).

1.2. Tratamento cirúrgico de melanomas em estágio III

1.2.1. Factores de prognóstico de tumores em estágio III

O estágio III define-se quando o melanoma se apresenta com metástases ganglionares (macro ou micrometástases) com ou sem lesões satélites ou em trânsito³. A presença de metástases ganglionares agrava o prognóstico (devido largamente a uma maior tendência para a progressão para doença sistémica), com menos de 50% dos doentes vivos aos 5 anos (Warbo e Tanabe, 2009).

Estão definidos 4 factores de prognóstico nos doentes com melanoma em estágio III:

- Número de gânglios linfáticos atingidos;
- Depósitos ganglionares macroscópicos vs microscópicos;
- Presença de lesões em trânsito ou lesões satélites (que reflectem disseminação linfática);
- Ulceração da lesão primária.

Nos doentes em estágio III, deverá ser procurada doença metastática à distância antes de ser colocada a hipótese de cirurgia.

1.2.2. Linfadenectomia

A linfadenectomia terapêutica é a que é realizada em doentes com gânglios clinicamente evidentes (ou seja, palpáveis), com efeitos aceitáveis em termos de morbilidade.

A linfadenectomia completa é a que é realizada após a biópsia do gânglio sentinela (se o resultado for positivo).

³ As metástases em trânsito desenvolvem-se na derme regional e linfáticos subdérmicos antes de atingirem os gânglios linfáticos. A AJCC define-as como metástases cutâneas ou subcutâneas que distam mais de 2 cm da lesão primária, mas não vão além da cadeia linfática regional. As lesões satélites são lesões cutâneas ou subcutâneas que distam menos de 2 cm da lesão primária e que são consideradas extensões intralinfáticas da massa primária.



Fig. 7 – Melanoma maligno metastático localizado no ombro direito com lesões ganglionares clinicamente evidentes <www.dermis.multimedica.pt>

O impacto em termos de sobrevivência global da linfadenectomia após um gânglio sentinela positivo é controverso. O estudo *Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial-I* [MSLT-I] revelou que a realização de linfadenectomia imediatamente após o resultado positivo do gânglio sentinela proporciona melhores resultados na sobrevivência livre de doença, mas não na sobrevivência global, quando comparada com seguimento clínico, observação e linfadenectomia tardia (Wargo e Tanabe, 2009).

Apenas 15-20% dos doentes que são submetidos a esvaziamento ganglionar por gânglio sentinela positivo apresentam outras metástases ganglionares (Markovic et al., 2007; Yao K. et al., 2009). Esta percentagem provavelmente subestima o verdadeiro valor de metástases regionais existentes, já que os gânglios obtidos na linfadenectomia são apenas analisados com hematoxilina-eosina (e não com imunohistoquímica) (Wargo e Tanabe, 2009). Torna-se essencial obter factores que consigam prever a existência de outros gânglios positivos para que a linfadenectomia realizada tenha benefício clínico. Até à data não foi possível determinar com certeza quais os doentes com gânglio sentinela positivo que apresentarão melanoma nos restantes gânglios regionais.

A linfadenectomia fornece informação prognóstica importante, porque o número de gânglios afectados tem uma influência directa na sobrevivência.

Outro aspecto de extrema relevância no que toca à linfadenectomia é a extensão de dissecação cirúrgica necessária. Quanto maior a carga tumoral, maior terá de ser a extensão da dissecação. Deste modo, os doentes com micrometástases no gânglio sentinela terão de ser abordados de forma diferente dos que apresentam metástases visíveis macroscopicamente. Estudos actualmente em curso (MSLT-II) estão a analisar o benefício potencial de diferentes extensões de linfadenectomia e morbidade do procedimento.

1.3.Tratamento cirúrgico de melanomas em estágio IV

1.3.1. Factores prognósticos de melanoma em estágio IV

Nos doentes em estágio IV, os factores de prognóstico mais importantes são o local das metástases e os níveis de LDH. Doentes com metástases cutâneas e níveis séricos de LDH normais têm um prognóstico mais favorável.

1.3.2. Metastasectomia

A selecção de doentes para realização cirúrgica de metastasectomia por via cirúrgica depende do estágio inicial da doença, do período livre de doença após o tratamento primário, do local inicial das metástases e da sua extensão (única vs múltipla) e da ressecção completa ou não da lesão primária. A realização de metastasectomia pode ter carácter curativo ou paliativo.

A imagiologia pré-operatória revela-se essencial na avaliação destes pacientes. Os doentes deverão realizar uma PET (tomografia de emissão de positrões) para detecção de doença metastática oculta.

A maioria dos doentes em estágio IV não é considerada elegível para tratamento curativo, pelo que a metastasectomia assume um carácter paliativo para controlo de sintomas

e minimização da morbidade. Exemplos deste tipo de atitude terapêutica são a ressecção de metástases intestinais hemorrágicas, a ressecção de metástases subcutâneas ulceradas e a ressecção de metástases cerebrais sintomáticas (Wargo e Tanabe, 2009).

2. Tratamento adjuvante

A ressecção cirúrgica em melanomas com invasão ganglionar (estádio III) é apenas parcialmente eficaz. Muitos destes doentes padecerão de doença metastática. O desenvolvimento de novas terapias adjuvantes para erradicar metástases torna-se essencial no prolongamento de sobrevivência livre de doença.

2.1. Radioterapia (RT)

O melanoma maligno é considerado um tumor radiorresistente, pelo que a RT foi durante muito tempo uma opção terapêutica esquecida. Todavia, obteve muito sucesso no tratamento do melanoma ocular (evitando a enucleação) e lêntigo maligno-melanoma (doentes sem indicação cirúrgica). Teve também bons resultados no tratamento do melanoma nodular, após a ressecção parcial do tumor (Markovic et al., 2007).

O risco de recorrência loco-regional é superior quando os gânglios linfáticos estão atingidos. Apesar de o tratamento padrão na doença regional ser cirúrgico, a RT é utilizada como tratamento adjuvante após a ressecção cirúrgica nos doentes que apresentam características clínico-patológicas associadas a recorrência ganglionar (Guadagnolo e Zagars, 2009). Estudos retrospectivos verificaram a existência de características histopatológicas associadas a alto risco de recorrência numa área já dissecada cirurgicamente: invasão ganglionar extracapsular, número de gânglios atingidos pelo melanoma, tamanho dos gânglios (gânglios com 3 ou mais centímetros, metástases volumosas), doença ganglionar recorrente e

envolvimento do gânglio sentinela (Markovic et al., 2007; Yao K. et al., 2009; Wargo e Tanabe, 2009; Guadagnolo e Zagars, 2009).

Múltiplos estudos realizados usaram RT como tratamento adjuvante em doentes submetidos a esvaziamentos ganglionares inguinais, cervicais e outros. Foram demonstradas altas taxas de controlo loco-regional, especialmente no caso de metástases em gânglios cervicais, e prolongamento do tempo de período livre de doença até à recorrência da doença. No entanto, não houve qualquer aumento da sobrevivência (Markovic et al., 2007, Yao K. et al., 2009).

Os opositores à utilização da RT adjuvante advogam a ausência de benefício na sobrevivência, os resultados discrepantes nos estudos existentes e a morbilidade associada ao tratamento. Por outro lado, os apoiantes da aplicação da RT contrapõem que as recorrências regionais causam morbilidade significativa e podem implicar o recurso a outras terapias mais agressivas como uma nova cirurgia. Uma vez que a terapia adjuvante pode tratar a doença residual microscópica, o uso de RT pós-operatória poderá prevenir as recorrências (Guadagnolo e Zagars, 2009).

As taxas de recorrência do melanoma metastático em gânglios linfáticos cervicais podem atingir 30-50% após dissecação cervical isolada. Apesar de o tratamento de escolha, neste caso, ser cirúrgico, a RT pós-operatória é recomendada se houver presença de um dos seguintes factores (que indiciam risco significativo de recorrência): mais do que um gânglio atingido, extensão extracapsular, um gânglio com dimensões superiores a 2 cm ou doença recorrente (num pescoço previamente submetido a dissecação). O recurso a RT adjuvante pode obter o controlo regional em 90% dos doentes.

Após dissecação axilar, metástases ganglionares axilares recorrem em 23-50% dos doentes com características de alto risco. A RT adjuvante está indicada no caso de invasão extracapsular, ou 4 ou mais gânglios atingidos, ou gânglio superior a 3cm ou recorrência em

axila previamente dissecada. Os resultados do controlo regional com a RT adjuvante são semelhantes aos obtidos a nível cervical.

Doentes submetidos a dissecção inguinal por metástases apresentam recorrência em 19-40% dos casos. No caso de doentes com IMC⁴ inferior a 25 kg/m² basta apenas um dos seguintes para que a RT adjuvante esteja indicada: extensão extracapsular, o atingimento de 4 ou mais gânglios, gânglio com tamanho superior a 3 cm ou recorrência após dissecção cirúrgica. Nos doentes com IMC superior a 25 kg/m², pelo facto de os efeitos secundários da RT serem mais frequentes, é necessário estarem presentes 2 destes factores adversos. A taxa de controlo regional pode atingir 93% (Guadagnolo e Zagars, 2009).

As indicações actuais para a RT do local primário incluem melanomas desmoplásicos, margens positivas profundas consideradas não ressecáveis, doença localmente recorrente (essencialmente localizada na cabeça e no pescoço), invasão perineural extensa e tumores com profundidade superior a 4 mm de espessura com ulceração ou lesões satélites (Wargo e Tanabe, 2009).

Os efeitos secundários da RT dependem do local de irradiação. A nível cervical destacam-se o edema, a fibrose e complicações na cicatrização da ferida operatória. Podem também ocorrer perda auditiva, hipotiroidismo, exposição óssea e dor auricular. A nível axilar a complicação mais frequente é o linfedema do braço ipsilateral. À semelhança do que se passa a nível axilar, na região inguinal a RT adjuvante aumenta o risco de linfedema ipsilateral, com a agravante de o fazer de forma mais frequente. Doentes com IMC superior a 25 kg/m² apresentam maior risco de efeitos adversos, pelo que as indicações para RT são mais restritas.

A dose óptima de radiação e o esquema de fraccionamento (esquema hipofraccionado ou esquema convencional) permanecem fonte de controvérsia. Apesar de no esquema

⁴ IMC – índice de massa corporal = peso (kg)/ altura² (m)

fraccionado a dose recomendada ser 30 Gray (Gy) em 5 sessões, órgãos mais sensíveis (cérebro, medula espinhal e intestino) suportam doses de apenas 24 Gy. A dosimetria deve ser, pois, efectuada cautelosamente para se evitarem efeitos tóxicos tardios em tecidos saudáveis (Guadagnolo e Zagars, 2009).

Não obstante a teórica radiorresistência do melanoma maligno, a RT tem múltiplas aplicações no tratamento deste tumor: tanto em terapia primária (melanoma ocular e lêntigo maligno), como na forma de terapia adjuvante (quando há disseminação linfática) e no tratamento paliativo (no caso de metástases cerebrais).

2.2. Quimioterapia (QT)

Apesar dos múltiplos estudos efectuados, a resposta do melanoma maligno metastático aos vários esquemas de QT permanece escassa. As opções de tratamento disponíveis não demonstraram qualquer aumento na sobrevivência global.

O prognóstico do melanoma maligno em estágio IV é mau, com uma sobrevivência média inferior a 9 meses e uma taxa de sobrevivência a 5 anos inferior a 5% (Markovic et al., 2007).

A hidroxiureia foi o primeiro agente a ser aprovado para o tratamento do melanoma maligno metastizado. No entanto, pela sua baixa eficácia, estabeleceu-se uma busca constante de tratamentos mais promissores.

A dacarbazina é um agente alquilante que está actualmente a ser utilizado no tratamento do melanoma avançado. É administrado por via endovenosa, metabolizado a nível hepático pelo citocromo P450 sendo eliminado por via renal. Apresenta efeitos tóxicos significativos dos quais se destacam a doença veno-oclusiva hepática, náuseas e vômitos (combatidos actualmente com os inibidores dos receptores 5HT-3 da serotonina). Mesmo com uma taxa de

resposta global de 22% (Markovic et al., 2007), não se demonstra qualquer impacto a nível da sobrevivência global.

A temozolomida é o análogo oral da dacarbazina, tendo taxas de resposta semelhantes. Uma vez absorvido, é degradado por via não enzimática no mesmo metabolito activo da dacarbazina, com excelentes biodisponibilidade e distribuição tecidual. A eliminação é também feita por via renal, o que implica um ajuste da dose adaptada à função renal do doente. Ao contrário da dacarbazina, a temozolomida atravessa a barreira hemato-encefálica, com possíveis vantagens nos doentes que apresentam metástases cerebrais. Como efeitos adversos salientam-se a supressão medular (trombocitopenia) e a obstipação (Markovic et al., 2007; Demierre M-F et al., 2008).

Vários esquemas de politerapia que têm por base a dacarbazina (dacarbazina, cisplatina, carmustina e tamoxifeno, por exemplo) foram desenvolvidos. Se bem que se consigam maiores taxas de resposta obtidas se comparados à dacarbazina em monoterapia, estes esquemas não tiveram qualquer impacto sobre a sobrevivência global (Demierre M-F et al., 2008). A combinação CVD (cisplatina, vimblastina e dacarbazina) é utilizada como parte essencial dos esquemas de quimioterapia tradicionais e dos esquemas de bioquimioterapia.

Como forma de ultrapassar os maus resultados obtidos com a dacarbazina, introduziram-se outros agentes (paclitaxel, carboplatina e fotemustina). A fotemustina é uma nitrosureia que ultrapassa a barreira hemato-encefálica. Tem como vantagem uma maior eficácia em metástases cerebrais, bem como taxas de respostas objectivas importantes (quase 25%). No entanto, revela uma toxicidade medular importante e não aumenta a taxa de sobrevivência comparativamente à da dacarbazina. O paclitaxel é administrado por via endovenosa e interfere na despolimerização dos microtúbulos na divisão celular. O tratamento com este agente pode provocar complicações, tais como neuropatia periférica e neutropenia (Mansfield e Markovic, 2009).

O melanoma maligno apresenta vários mecanismos de resistência aos agentes citotóxicos. Os genes que interferem na apoptose têm expressão alterada: as vias apoptóticas estão silenciadas, enquanto os genes antiapoptóticos (survivina, BCL-2⁵, BCL-xl⁶) estão sobreexpressos. Estas alterações contribuem potencialmente para a quimiorresistência e poderão ser ponto de partida para novos fármacos cujo intuito será aumentar a sensibilidade celular à apoptose.

2.3. Perfusão regional hipertérmica

Esta forma de administração de agentes de QT (infusão de altas doses de quimioterapia, com obtenção de concentrações regionais muito superiores às obtidas pela QT sistêmica convencional) tem como principal indicação a doença loco-regional avançada localizada nos membros.

As metástases satélites e as metástases em trânsito ocorrem em 5-8% dos doentes com melanoma com espessura superior a 1,5 mm (Demierre M-F et al., 2008). Normalmente, associam-se a um mau prognóstico, já que reflectem a disseminação do melanoma ao longo de todo o membro a partir do tumor inicial para os gânglios regionais.

As lesões satélites encontram-se a menos de 2 cm da lesão primária e as metástases em trânsito a mais de 2 cm da lesão. Historicamente, uma vez que as lesões em trânsito se localizavam mais longe relativamente à lesão primária, eram consideradas mais graves e tratadas de forma mais agressiva. No entanto, com a nova classificação de estadiamento agora em vigor, estes 2 tipos de lesão são enquadradas no mesmo estágio (estádio III).

O tratamento destas lesões é um desafio, já que a abordagem cirúrgica convencional não é fácil e os tratamentos quimioterapêuticos não atingem bons resultados.

⁵ BCL 2 – B cell lymphoma 2: gene antiapoptótico

⁶ BCL-xl – B cell lymphoma-extra large: gene antiapoptótico

Se o número e o tamanho das lesões é pequeno, a excisão cirúrgica deverá ser o tratamento de escolha. Se as lesões forem extensas e estiverem localizadas numa extremidade, poderá ponderar-se a utilização de perfusão regional isolada, com bons resultados a nível da sobrevivência e qualidade de vida dos doentes, sem os efeitos tóxicos da QT sistémica.

A perfusão dos membros abrange 3 fases diferentes: fase cirúrgica (dissecção e preparação vascular), fase de perfusão e fase reconstrutiva.

Deste modo, destacam-se 2 vantagens da perfusão isolada hipertérmica:

- a. Altas concentrações de agentes antineoplásicos na área tumoral;
- b. Baixa toxicidade sistémica.

A perfusão implica uma dissecção extensa, com isolamento venoso e arterial, e mobilização do fluxo nos vasos sanguíneos da circulação para que se possa perfundir o membro com agentes de quimioterapia durante um período de 60-90 minutos através de uma técnica de circulação extracorporal.

A perfusão implica a monitorização sistémica de fugas do agente e a presença constante de um perfusionista, com o objectivo de manter o mínimo de toxicidade sistémica e o máximo de concentração na área tumoral.

O agente mais utilizado é o alquilante melfalan (associado a dactinomicina no caso da infusão selectiva) e a temperatura do membro é elevada para valores da ordem dos 39°C-40°C. O benefício farmacológico da perfusão está relacionado não só com as altas concentrações mas também com a circulação contínua dos citostáticos no membro que aumenta a sua captação pelo tumor. A hipertermia promove um dano selectivo às células tumorais, com diminuição da sua adaptação vascular e aumento da permeabilidade da membrana celular, o que permite maior acumulação de citostáticos a nível das células tumorais (De Simone M. e Vaira M., 2006).

As indicações actuais para a perfusão são:

- Tratamento de metástases em trânsito do melanoma;
- Tratamento paliativo quando a qualidade de vida é o objectivo principal;
- Tentativa de salvação do membro atingido;
- Tratamento neo-adjuvante de tumores volumosos para permitir posteriormente uma cirurgia conservadora.

Nos doentes com gânglios linfáticos clinicamente positivos, a linfadenectomia é realizada no mesmo tempo cirúrgico.

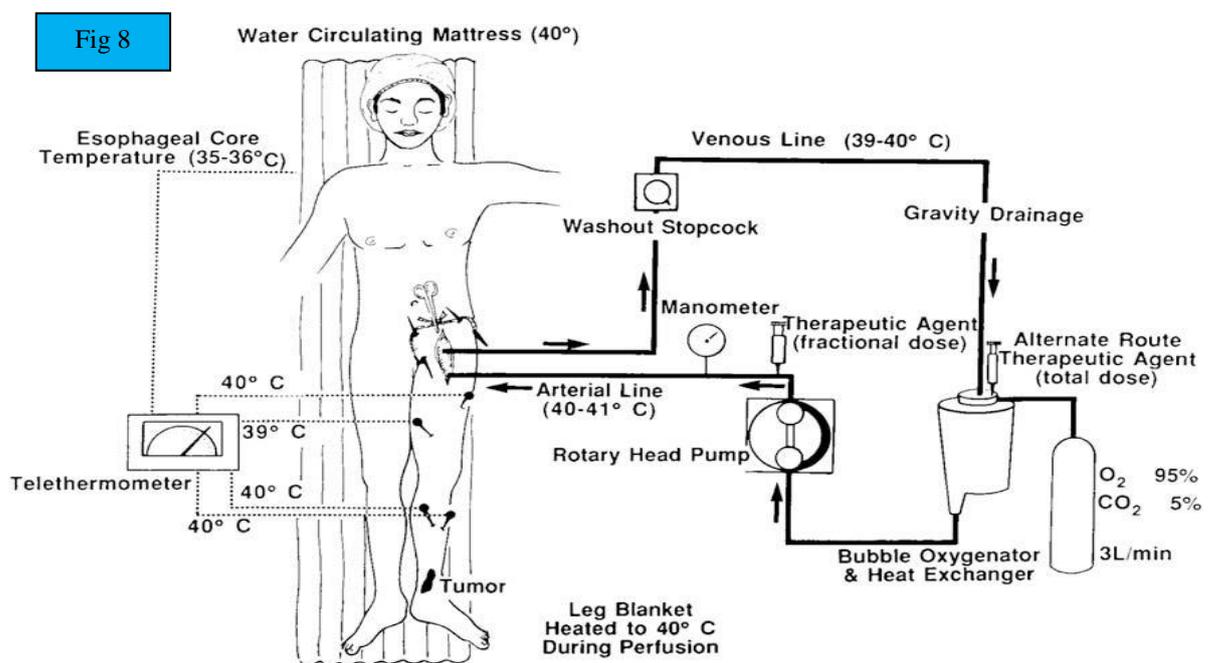


Fig. 8 – Perfusão hipertérmica isolada (in: Wargo e Tanabe, 2009).

A resposta à perfusão isolada pode ser impressionante (respostas completas de 54% com melfalan, que podem aumentar para 91% quando este se associa ao factor de necrose tumoral – TNF).

No entanto, as respostas obtidas são de curta duração, com recorrências frequentes (cerca de 50%) (Wargo e Tanabe, 2009). Embora se tenha observado um aumento no período

livre de doença, não há resultados positivos no que respeita à sobrevivência. A importância deste tipo de QT selectiva é fundamentalmente o facto de poder ser considerada alternativa à amputação.

Entre os efeitos secundários contam-se edema do membro perfundido, leucopenia ou doenças plaquetares transitórias e hemorragia retroperitoneal (De Simone M. e Vaira M., 2006).



Fig. 9 – Evolução das metástases em trânsito após a utilização de perfusão hipertérmica isolada <www.cancerimmunity.org>

2.4. Infusão regional hipertérmica

A infusão regional constitui uma alternativa terapêutica à perfusão regional, que se pode revelar tóxica e bastante dispendiosa.

A infusão regional baseia-se no isolamento venoso e arterial através da utilização de catéteres cutâneos e torniquetes para isolamento do membro afectado.

O agente utilizado é também o melfalan (associado à dactinomicina).

A diferença essencial entre as duas técnicas é a circulação mais lenta e por um menor período de tempo (cerca de 30 minutos) na infusão regional. Não é necessária utilização de bomba oxigenadora, pelo que o membro isolado se torna hipóxico, conduzindo à acidose.

Nesta técnica, a percentagem de fugas sistêmicas é mínima, evitando a necessidade de monitorização sistêmica.

Apesar de não haver estudos que comparem a infusão vs perfusão regional hipertérmica, a taxa de resposta parece ser inferior na infusão regional.

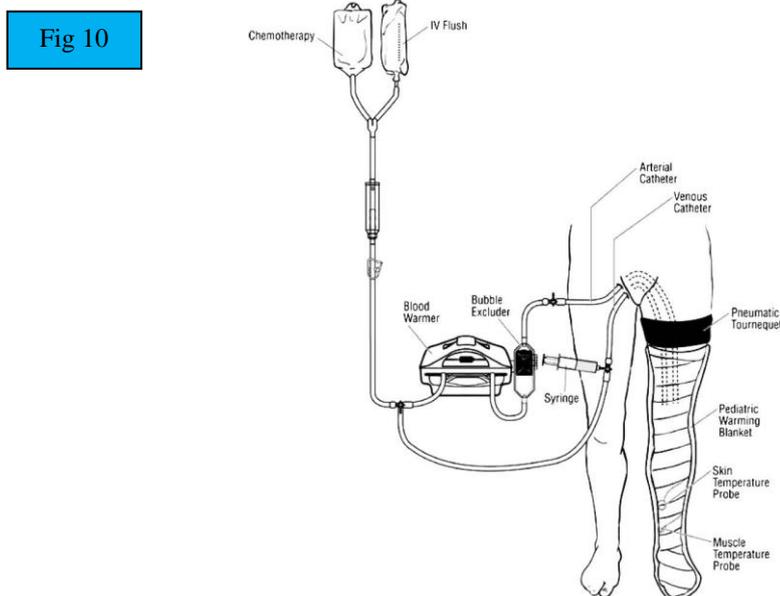


Fig. 10 – Infusão isolada hipertérmica (in: Wargo e Tanabe, 2009).

2.5. Imunoterapia

O uso terapêutico de mediadores inflamatórios no tratamento de neoplasias iniciou-se ainda no século XIX, quando se observou uma associação favorável entre a infiltração linfocitária do tumor e a resposta clínica, com regressão tumoral.

O melanoma maligno é considerado uma neoplasia imunogénica e, pela sua resistência à maioria das terapias convencionais, cedo se tornou num alvo de investigação no campo da imunoterapia.

A imunoterapia tem uma longa história de sucessos marcantes, embora limitados, nos doentes com melanoma. Os maiores obstáculos a esta vertente terapêutica consistem na supressão imune induzida pela neoplasia e nos mecanismos de fuga imunológica tumoral, que tornam o hospedeiro tolerante aos antígenos tumorais (Kirkwood et al., 2008).

2.5.1. INF alfa (IFN- α)

O IFN- α foi a primeira citocina exógena a demonstrar actividade antitumoral em melanomas avançados (Kirkwood et al., 2008).

O IFN- α -2b é uma citocina pleiotrópica com actividade imunorreguladora, antiproliferativa, indutora de diferenciação, apoptótica e antiangiogénica em diversas neoplasias (Kirkwood et al., 2008).

O IFN- α -2b foi comparado com observação e outras modalidades terapêuticas em múltiplos estudos. A taxa de resposta global, como agente isolado, é de aproximadamente 15% (Koon e Atkins, 2007). Apesar de não se terem obtido benefícios na sobrevivência global, houve uma vantagem clara ao prolongar-se o período livre de doença.

No entanto, o uso do IFN- α -2b permanece controverso, quando se avalia a relação benefício/toxicidade. O tratamento com altas doses de IFN- α -2b é acompanhado de múltiplos efeitos adversos, como sintomas gripais, anorexia, reacções cutâneas adversas, hepatotoxicidade, fadiga e sintomas depressivos, limitando a sua utilização. O pré-tratamento com paroxetina diminui a incidência de depressão, melhorando a adesão à terapia com IFN- α -2b (Lawson, 2004).

Com o intuito de diminuir a toxicidade, foram efectuados estudos que compararam IFN- α administrado em altas doses vs IFN- α em doses mais baixas. Doses menores revelaram menor toxicidade, mas também eficácia inferior no atraso da progressão da doença. Em ambos os casos não houve influência na sobrevivência. O desenvolvimento do IFN- α peguilado, com uma maior semivida, permite a administração semanal (em vez de diária), com diminuição significativa da toxicidade. Porém, continua a não existir um regime óptimo de administração de IFN- α .

O IFN- α terá maior papel nos doentes com menor carga tumoral (Koon e Atkins, 2007).

Dados recentes sugerem que os doentes que desenvolvem evidências clínicas e serológicas de auto-imunidade depois do tratamento com IFN- α terão mais benefício em termos de sobrevivência (Markovic et al., 2007). Além disso, a presença de infiltrados de células T a nível da lesão primária e das metástases ganglionares regionais poderá também ser um indicador de potenciais benefícios da terapêutica com IFN- α 2b (Kirkwood et al., 2008).

Em suma, o IFN- α -2b aumenta a sobrevivência livre de doença, embora não tenha qualquer efeito positivo na sobrevivência global dos doentes com melanoma metastático. Está indicado como tratamento adjuvante nos estádios II B e II C e no estágio III, estando em estudo a sua utilização como tratamento neoa-djuvante (Katipamula e Markovic, 2008).

2.5.2. Interleucina-2 (IL-2)

A IL-2 foi a segunda citocina exógena a demonstrar actividade antitumoral no melanoma maligno. A IL-2 é uma hormona recombinante do sistema imunitário descrita como “factor de crescimento para células T”. Tem actividade na regulação imunitária e na proliferação de células T.

Administrada em altas doses apresenta efeitos antitumorais (respostas na ordem dos 16%, com respostas completas na ordem dos 6%) (Markovic et al., 2007; Kirkwood et al.,

2008), sendo os resultados mais evidentes em doentes com metástases ganglionares ou metastização em tecidos moles. É o único agente actualmente disponível que produz remissões a longo prazo nos doentes com melanoma avançado (Koon e Atkins, 2007).

A IL-2 pode provocar efeitos secundários (sintomas gripais, toxicidade cardiovascular, efeitos gastro-intestinais, hepatotoxicidade, neurotoxicidade, nefrotoxicidade, hipotiroidismo) que podem ser graves e condicionar internamento em Unidades de Cuidados Intensivos (Markovic et al., 2007; Kirkwood et al., 2008). A monitorização do doente é crucial pelo risco de falência multiorgânica. Apesar de a maioria dos efeitos adversos ser reversível, o perfil tóxico da IL-2 implica uma selecção cuidadosa dos doentes nos quais pode ser utilizada.

O aparecimento de complicações auto-imunes, como a disfunção da tiróide e vitiligo, foi identificado como estando relacionado com uma melhor resposta terapêutica e mesmo com uma melhoria da sobrevivência global (Kirkwood et al., 2008).

A IL-2 pode ser usada em associação com outros agentes, nomeadamente com dacarbazina, cisplatina e IFN- α (bioquimioterapia). Com o objectivo de averiguar a possibilidade de aumentar a resposta à IL-2 em altas doses, um ensaio clínico adicionou IL-2 a uma vacina de gp-100 (em doentes HLA-A2 positivos) ou a histamina (que inibe a formação de espécies reactivas de oxigénio supressoras da acção dos linfócitos T), demonstrando-se um aumento da taxa de resposta (Koon e Takins, 2007).

A indicação actual da IL-2 é o tratamento do melanoma metastático.

2.5.3. Factor de crescimento dos granulócitos – macrófagos (GM-CSF)

O GM-CSF activa os macrófagos, medeia a actividade das células dendríticas e promove a libertação de angiostatina pelos macrófagos. A activação de macrófagos citotóxicos pelo GM-CSF poderia teoricamente provocar lise tumoral, pelo que a utilização

do GM-CSF como tratamento adjuvante foi alvo de estudo em doentes com melanoma de alto risco.

Segundo Spitler, a utilização de GM-CSF subcutâneo em doentes com melanoma em estágio III-IV ressecado cirurgicamente induziu um aumento da sobrevivência média, comparativamente com controlos. A importância clínica do GM-CSF como terapia adjuvante (isolado ou em associação a vacinas) está em estudo, não havendo até esta data resultados disponíveis (Mansfield e Markovic, 2009). Verificou-se também a estabilização da doença em alguns doentes com metástases pulmonares após o tratamento com GM-CSF em aerossol.

A terapia com GM-CSF pode ser considerada uma alternativa ao IFN- α em doentes com melanoma com alto risco de recorrência que não querem submeter-se a terapia com IFN- α , devido aos efeitos adversos deste tratamento.

2.6. Bioquimioterapia (BioQT)

Perante os resultados desanimadores com a quimioterapia convencional e com a imunoterapia no melanoma metastático, surgiu a BioQT.

O objectivo da bioquimioterapia – junção de agentes de QT convencionais (cisplatina, vimblastina e dacarbazina) com agentes biológicos (IL-2 e IFN- α -2b) – é o de aumentar as taxas de resposta (e obter respostas mais duradouras) e a sobrevivência dos doentes com melanoma maligno avançado.

Estudos comparativos entre QT isolada (cisplatina, vimblastina e dacarbazina - CVD) e bioQT (CVD, IL-2 e IFN- α) mostraram uma maior resposta clínica no braço da bioQT. No entanto, e apesar de maior toxicidade (constitucionais, hemodinâmicos e efeitos mielossupressores) no grupo da bioQT, a sobrevivência global não aumentou.

As combinações em desenvolvimento pretendem aumentar a eficácia clínica e minimizar a toxicidade.

Em suma, a bioQT, apesar de melhorar as taxas de resposta, não apresenta um impacto na sobrevivência global, pelo que não deve ser considerada como um tratamento padrão.

2.7. Vacinas antitumorais

As vacinas antitumorais têm como propósito auxiliar doentes que já sofrem de melanoma (ao contrário da maioria das vacinas, que pretende a prevenção da patologia). Estas foram estudadas de modo a atingir 2 objectivos:

1. Aumentar o reconhecimento imunológico das células tumorais;
2. Melhorar a resposta imune antitumoral através da activação linfocitária (o aumento dos linfócitos T citotóxicos permitiria a regressão tumoral bem como a prevenção de recidivas).

O estudo de diversos antigénios específicos de tumores tornou-se pedra angular no desenvolvimento da imunoterapia específica de tumor. Os antigénios tumorais são degradados intracelularmente em peptídeos que, por sua vez, são apresentados pelo complexo HLA na superfície celular. Estes vão ser reconhecidos pelos receptores das células T (TCR) dos linfócitos citotóxicos T CD8+.

Existem 2 classes de antigénios tumorais:

1. Antigénios tumorais/testiculares como, por exemplo, MAGE-A1, MAGE-A3 e NY-ESO-1 ⁷
2. Antigénios de diferenciação melanocítica (associados ao melanoma maligno) entre os quais se destacam Melan –A/MART 1, gp 100 e as tirosinases.

Estes últimos poderão mediar o reconhecimento celular tumoral pelas células T, podendo tornar-se um alvo para terapia específica (Lejeune et al., 2007). Outros antigénios

⁷ NY-ESO-1 – cancer/testis antigen (antigénio expresso em tecidos normais – apenas em células germinativas testiculares normais – e em várias neoplasias).

com hiperexpressão no melanoma (p53, survivina) são também alvos potenciais para estimulação de respostas imunes específicas.

Existem actualmente diversos tipos de vacinas antitumorais. Estas podem basear-se em: células tumorais autólogas, vacinas alogénicas (lisados de células malignas), melanócitos malignos obtidos por engenharia genética, gangliosídeos, peptídeos específicos de células de melanoma maligno ou proteínas derivadas do tumor, injeção intratumoral de adjuvantes (GM-CSF e IL-2), vacinas de células dendríticas, vacinas de plasmídeos de DNA e vacinas virais (Katipamula e Markovic, 2008; Kirkwood et al., 2008).

Novas fórmulas vacinais baseadas em peptídeos tumorais são capazes de produzir uma resposta imunológica mediada por células T bastante activa, não havendo no entanto repercussões em termos de resposta clínica. Existem múltiplas explicações para a fraca resposta, como o desconhecimento da dose óptima ou do esquema vacinal mais adequado (Lejeune et al., 2007).

As células dendríticas são células apresentadoras de antígenos (APC). Captam e degradam os antígenos e apresentam-nos aos linfócitos T na forma de peptídeos ligados às moléculas HLA. A imunização com células dendríticas tornou-se uma possibilidade terapêutica. Células dendríticas maduras autólogas são cultivadas com peptídeos ou outras formas de antígenos, sendo posteriormente reinjectadas nos doentes. Esta tem-se mostrado uma forma eficaz de imunização, sendo ainda necessário otimizar as preparações celulares e esquema de vacinação. Num pequeno subgrupo de doentes com melanoma metastático, conseguiu-se mesmo obter uma resposta duradoura (Katipamula e Markovic, 2008).

Até à data, as vacinas antitumorais mostraram-se ineficazes no contexto do melanoma maligno metastizado. As respostas imunes obtidas têm apenas a capacidade de destruir um número limitado de células neoplásicas. Poderão vir a ter um papel importante no futuro,

possivelmente em combinação com outros agentes ou no contexto de tratamento adjuvante ou neo-adjuvante.

2.8. Transferência de células T

Um dos obstáculos no desenvolvimento de vacinas antitumorais é a obtenção de uma resposta imune persistente e duradoura por células T (Katipamula e Markovic, 2008). A transferência de células tem como objectivo melhorar a resposta dos linfócitos T citotóxicos contra o melanoma.

De forma simplificada, a técnica consiste na remoção de células T reactivas antitumorais do doente, que vão ser activadas e expandidas *ex vivo* para serem depois novamente transferidas para o hospedeiro. A transferência de células exige que se gerem células T com alta afinidade contra os antigénios tumorais.

As técnicas iniciais apresentaram obstáculos importantes nomeadamente a semivida curta dos clones transferidos e a necessidade de grande número linfócitos antitumorais pré-existent para colheita.

Células T específicas do tumor, derivadas dos *tumour-infiltrating lymphocytes* (TILs), podem ser facilmente isoladas *ex vivo* das lesões de melanoma, usando altas doses de IL-2. As TILs são seleccionadas pela sua capacidade de libertar elevados níveis de IFN γ . São posteriormente colocadas em cultura com anti-CD3 e IL-2 exógena, bem como com células mononucleares irradiadas (*feeder cells*), de modo a que se expandam rapidamente até cerca de 10¹¹. Foi recentemente descrito que a transferência das células TILs após QT não mieloablactiva mas linfodepletora poderá induzir respostas reprodutíveis numa percentagem substancial de doentes, mesmo na presença de doença volumosa e metastática (Gattinoni L. et al., 2006).

A transferência de linfócitos autólogos é efectuada após imunossupressão sistémica que consiste em esquemas linfodepletos mas não mieloablativos (ciclofosfamida e fludarabina). Esta terapia, combinada com IL-2, induziu a regressão tumoral em cerca de 60% dos doentes num estudo não randomizado (Sabatino et al., 2009). Especula-se que a linfodepleção poderá aumentar a actividade das células T transferidas, porque elimina previamente as células T reguladoras [T regs] (responsáveis pela supressão da resposta antitumoral); por outro lado, diminui as células endógenas que competem por citocinas activadoras, aumentando a disponibilidade de citocinas estimuladoras para as células transferidas.

A IL-2 é usada para promover a expansão e a função dos linfócitos transferidos, que sofrem apoptose com a sua retirada. A sua administração pode estar associada a trombocitopenia, infecções oportunistas e reacções auto-imunes.

A remoção das T regs pela linfodepleção prévia, tal como dito anteriormente, resulta em maior actividade das células T CD8 transferidas, já que há uma diminuição da supressão da resposta imunológica antitumoral por elas mediada.

As respostas obtidas até à data não resultaram em benefícios na sobrevivência, padecendo a maioria dos doentes de doença recorrente.

Dados recentes sugerem que a transferência de células menos diferenciadas é acompanhada por um maior potencial proliferativo, uma menor susceptibilidade à apoptose e uma maior capacidade de resposta a citocinas homeostáticas, de que é exemplo a IL-7, por estas células expressarem maior número de receptores. Tal como referido previamente, a retirada da IL-2 pode conduzir à apoptose das células transferidas. Uma vez que as células T mais precoces têm uma maior capacidade de secreção de IL-2, a sobrevivência selectiva destas células pode ocorrer de um modo autócrino.

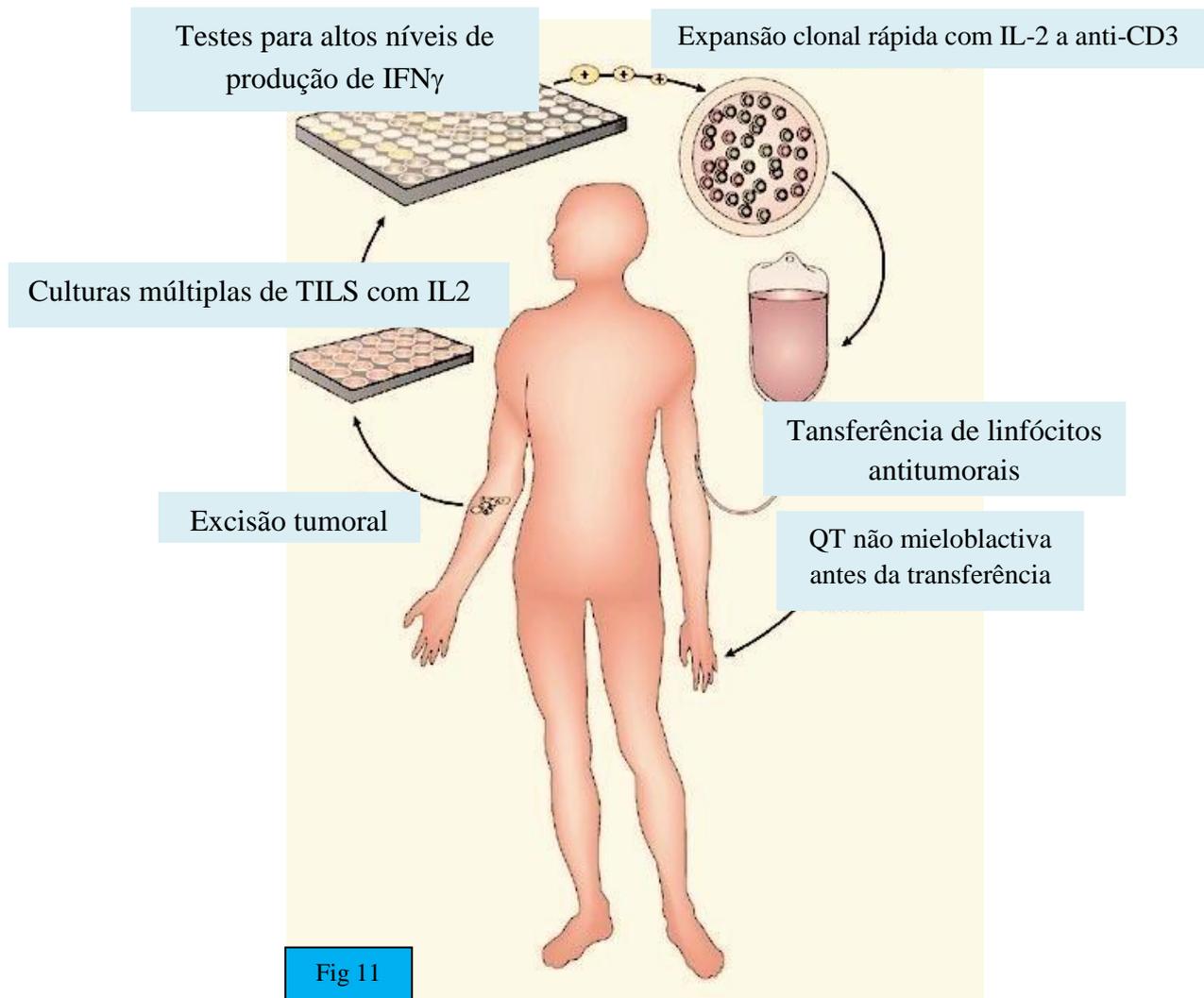
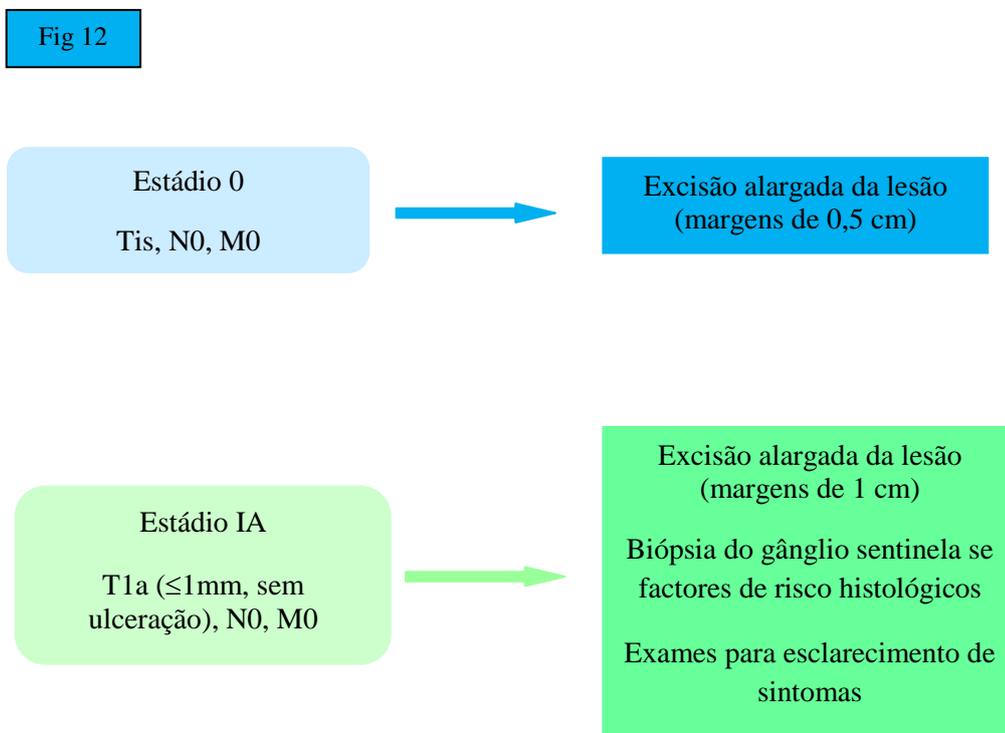


Fig. 11 – Protocolos actuais para transferência de células (Nature Reviews Immunology 6).

A descoberta de que células menos diferenciadas podem ser a população óptima para a transferência de células T traz consigo múltiplos problemas. Nos estudos clínicos realizados fica a noção geral de que, para se obter uma resposta antitumoral terapêutica, é necessária a administração de um grande número de células. Nestes trabalhos, e tal como já foi explicado, as células T CD8 sofrem expansão *in vitro* quando expostas a anti-CD3 e IL2, que conduzem à diferenciação celular (células intermédias e tardias). O que actualmente se investiga é uma forma de fazer a transferência de células T num estágio mais precoce de diferenciação, uma

vez que as respostas antitumorais foram superiores com baixo número de células precoces, comparativamente com um grande número de células tardias (Gattinoni L. et al., 2006).

Estão, portanto, em estudo técnicas de modificação dos protocolos actuais *in vitro* de modo a evitar a diferenciação das células T para estádios intermédios e tardios. Limitar a expansão para um curto período de tempo (em vez das actuais 2 semanas) é uma possibilidade, embora esta alternativa possa ter como consequência a obtenção de um número muito pequeno de células T para respostas clínicas eficazes. Outra opção é a mudança na IL utilizada para promover a expansão. A IL-15 também promove o crescimento de números semelhantes de células T, embora não induza a diferenciação prejudicial das células T e a apoptose que a IL-2 provoca. Células T que sofreram expansão com IL-15 mostraram maior capacidade na regressão tumoral quando comparadas às expandidas com IL-2 (Gattinoni L. et al., 2006).



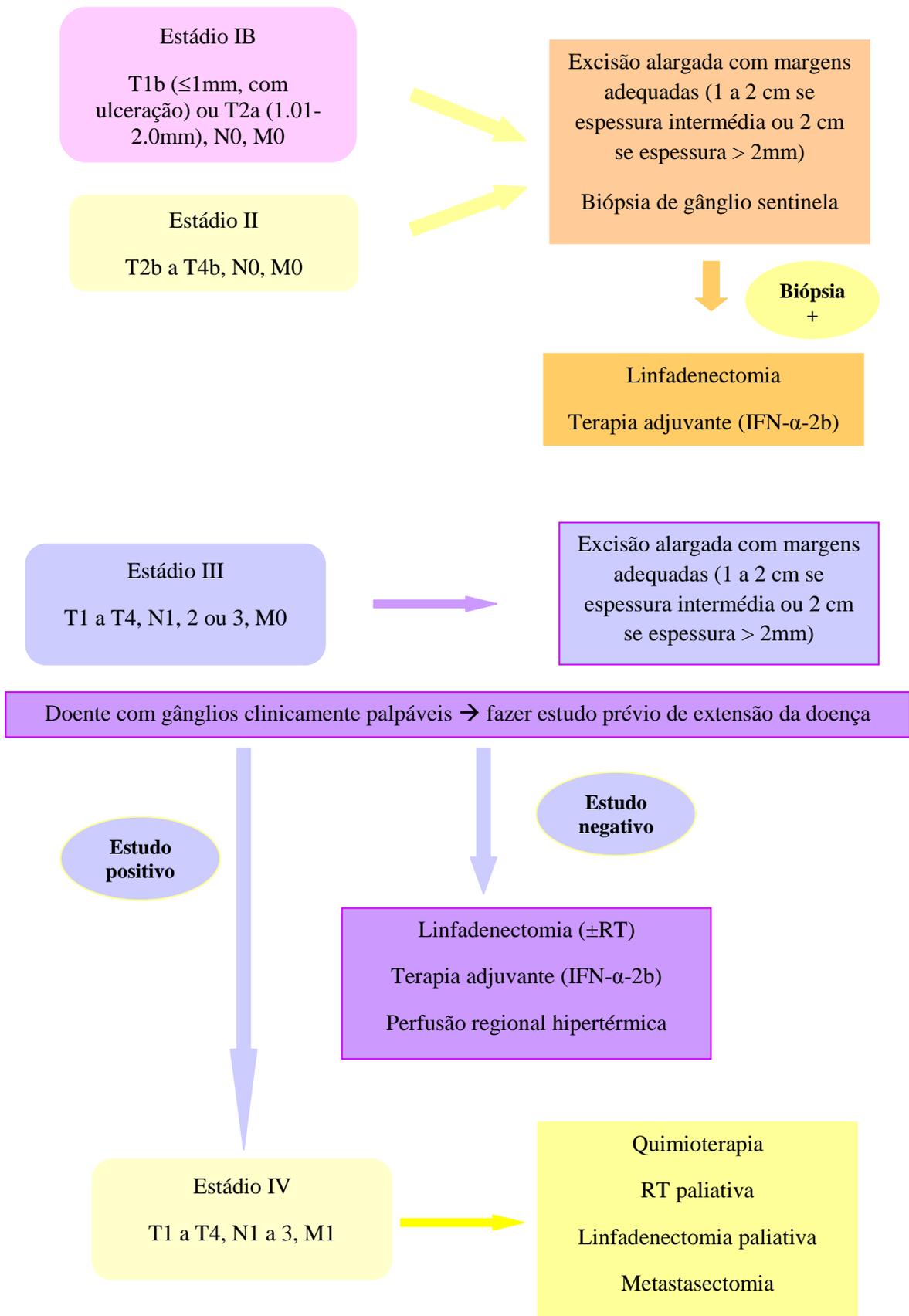


Fig. 12. Opções terapêuticas para cada estágio do MM.

3. Nova geração de terapia para o melanoma maligno: alvos biológicos e moleculares

A biologia do melanoma maligno é cada vez mais bem compreendida. Lesões genéticas e alteração de vias de sinalização intracelular poderão ser alvo de novos agentes terapêuticos.

Moléculas que interferem nas vias intracelulares de sinalização do melanoma (diminuindo a sua proliferação, sobrevivência e migração ou invasão) ou outros agentes que interferem com componentes do estroma (angiogênese e sistema imune) tornaram-se novas abordagens de tratamento no melanoma metastático (Lejeune et al., 2007).

3.1. Vias intracelulares

Muitos receptores de factores de crescimento têm actividade de tirosina cinase intrínseca (TKR). A via RAF/MEK/ERK é um importante regulador no crescimento, sobrevivência e migração, estando constitutivamente activada em muitas neoplasias humanas.

A ligação de ligandos extracelulares culmina na activação destes receptores com actividade de tirosina cinase intrínseca (*c-kit*⁸, *platelet-derived growth factor receptor* [PDGFR], *vascular endothelial growth factor receptor* [VEGFR]), resultando na activação de duas vias de sinalização intracelulares (MAPK e PI3K-AKT). O resultado final é a transcrição de centenas de genes relacionados com proliferação celular, sobrevivência e motilidade.

O interesse relativo ao MM surgiu quando se verificou que 66% dos melanomas apresentavam mutações do BRAF⁹.

A activação da via MAPK consiste na transdução de sinais das proteínas RAS para as cinases RAF. Estas, por sua vez, fosforilam as cinases MAPK/ERK (*mitogen-activated protein kinase kinase* [MEK]), activando-as. As *extracelular signal-regulated kinase* [ERK] activadas regulam os factores de transcrição.

⁸ *c-kit* – stem cell factor receptor

⁹ BRAF – v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1

A via PIK3-AKT tem como efeito a activação do PI3K (cinase lipídica) que conduz à formação do trifosfato de fosfoinositol [PIP3]. Este último leva à activação das proteínas cinases AKT que fosforilam múltiplos alvos de que é exemplo o mTor (alvo da rapamicina). Os níveis do PIP3 são regulados pela *Phosphatase and Tensin Homolog* [PTEN] que, ao interferir indirectamente na activação das AKT, funciona como supressor tumoral.

Pelo exposto, há um incontável número de alvos potenciais a serem utilizados no tratamento do melanoma.

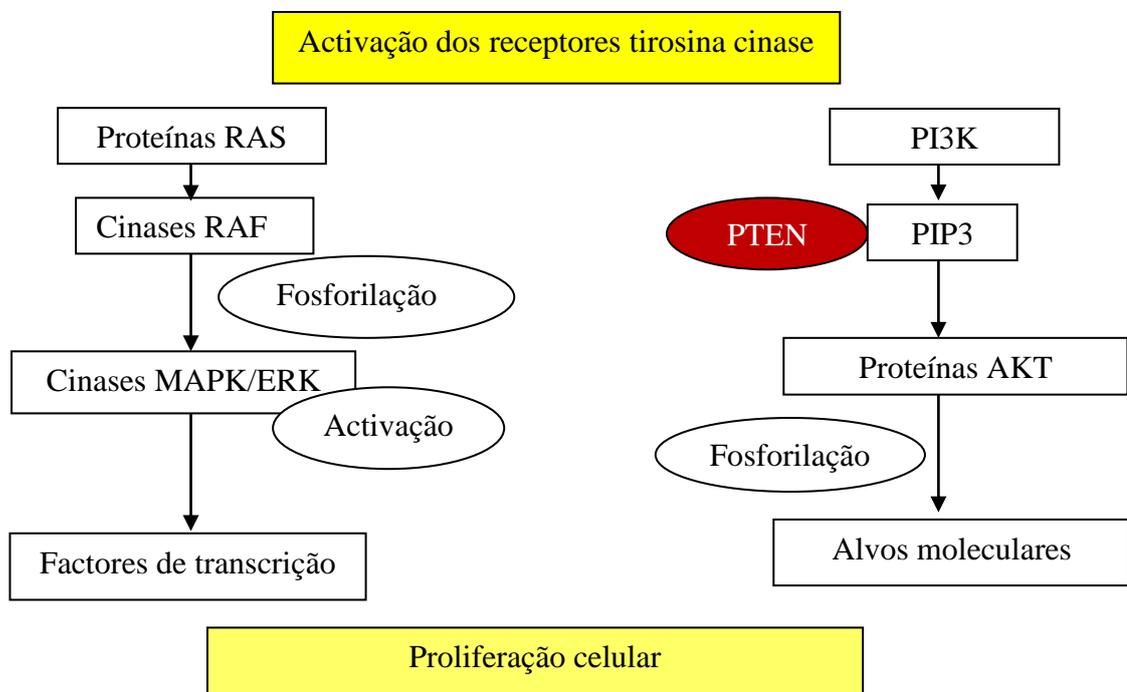


Fig. 13 – As duas vias de sinalização dos receptores de tirosina cinase.

Múltiplas alterações foram observadas em doentes com melanoma: mutações nos TKR, N-RAS e RAF que conduzem à sua hiperexpressão, com activação independente das MEK (que activam os factores de transcrição culminando em proliferação celular). A via PI3K está também muitas vezes activada no melanoma através da expressão das AKT ou da inactivação da PTEN (concomitantemente com as mutações do BRAF).

3.1.1 Vias MAPK e BRAF

O BRAF é o oncogene mais frequentemente mutado no melanoma. A mutação V600E está presente em 2/3 das metástases cutâneas do melanoma e confere uma activação constitucional da proteína B-RAF (envolvida no crescimento celular) (Lejeune et al., 2007).

O *Sorafenib*, inibidor específico do BRAF mutado, é um agente oral que interfere no crescimento tumoral ao bloquear a via RAF/MEK/ERK. Embora usado isoladamente se tenha mostrado ineficaz, a sua associação com a carboplatina/paclitaxel obteve respostas objectivas (em doentes não submetidos a outros tratamentos). Estudos posteriores não demonstraram, contudo, benefício na sobrevivência com a adição do sorafenib.

Na associação com dacarbazina ou temozolomida constataram-se respostas objectivas superiores, bem como um período livre de doença mais longo do que o conseguido com aqueles antineoplásicos utilizados isoladamente. Combinações terapêuticas, como o sorafenib associado à temozolomida, também se mostraram activas, embora se tenha verificado que a apoptose das células tumorais não estava relacionada com a mutação do BRAF. Será de supor que os benefícios alcançados pelo sorafenib estarão relacionados com outro alvo celular que não a mutação do BRAF (Lejeune et al., 2007).

A eficácia do sorafenib ficou relatada em doentes com e sem mutação do BRAF. Verificou-se que o sorafenib é um inibidor de tirosina cinase “multi-alvo”, inibindo simultaneamente outros receptores tirosina cinase como VEGFR-2 e 3 (envolvidos na angiogénese), o *platelet derived growth factor receptor* – PDGFR, *c-kit*, *endothelial growth factor receptor* – EGFR, além do BRAF (Katipamula e Markovic, 2008; Seetharamu N. et al., 2009).

Apesar da boa tolerância, a utilização do sorafenib, isoladamente, mostrou pouca actividade antitumoral.

O *Sutinib*, agente que inibe c-kit (entre outras tirosinas cinases) tem sido testado nos doentes com melanoma uveal, com obtenção de respostas parciais e estabilização da doença.

Outros agentes inibidores da via MAPK estão a ser desenvolvidos, procurando-se uma maior selectividade para o BRAF ou para outros alvos da mesma via, MEK, por exemplo.

A regressão tumoral não é atingida com uma simples inibição da via MAPK, pelo que será necessário estudar outras vias que possam funcionar como alvos de inibição.

3.1.2. Proteínas AKT e inibição do mTor

A via PIK3-AKT é um importante alvo alternativo na terapia do melanoma. A perda da PTEN pode levar à activação desta via, pela supressão da inibição sobre a quantidade de PIP3 disponível. A inibição concomitante da via PIK3-AKT e BRAF-MAPK poderá ser necessária para obter resultados clínicos. A inibição da via PIK3-AKT não foi tão bem estudada, havendo poucos inibidores farmacológicos conhecidos disponíveis.

O mTor é uma treonina cinase reguladora da produção de VEGF, do crescimento e proliferação celulares, sendo um modelador da via PIK3-AKT. O *Everolimus* é um inibidor oral desta cinase. Estudos realizados até à data revelaram ligeiro benefício clínico num subgrupo de doentes, tendo-se atingido estabilização da doença.

3.1.3. Vias antiapoptóticas

A proteína Bcl-2, bem como outras proteínas antiapoptóticas, apresentam hiperexpressão no melanoma. Este será um possível mecanismo de resistência tumoral às terapias actualmente disponíveis, já que conduz a uma sobrevivência e proliferação das células tumorais que se tornam resistentes à apoptose.

O *Oblimersen* (Genasense ®) é um oligonucleótido *antisense* que inibe o mRNA Bcl-2.

A sua utilização em infusão contínua, combinado com a dacarbazina, mostrou uma melhoria nas respostas globais e completas, comparativamente à dacarbazina isolada. Segundo Lejeune (2007), obteve-se tendência ligeira a melhorar a sobrevivência global, a aumentar o período livre de doença e as taxas de resposta global e de resposta completa. Os doentes que apresentaram benefício tinham valores de LDH dentro ou abaixo dos parâmetros normais. Segundo Koon (2007) e Katipamula (2008), não houve influência significativa na sobrevivência global.

As espécies reactivas de oxigénio são constantemente geradas e destruídas a nível orgânico, tendo um importante papel a nível das funções bioquímicas normais e nos processos patológicos. As células neoplásicas poderão exibir um maior stress oxidativo que conduz à proliferação e progressão tumoral. O *Elesclomol* é um agente pró-apoptótico que induz um stress oxidativo que está para além da capacidade normal de resistência celular, condicionando, assim, a apoptose. Foi testado em modelos animais, melhorando a actividade da quimioterapia. Aguardam-se resultados mais consistentes da sua utilização isolada e em associação com paclitaxel.

3.2. Superfície celular

3.2.1. HMW-MAA

O antigénio de alto peso molecular associado ao melanoma (HMW-MAA) foi um dos primeiros antigénios associados ao melanoma a ser descoberto. Esta proteína tem como característica a activação da FAK (cinase de adesão focal) e da via ERK-MAPK. A FAK é uma tirosina cinase que faz a integração de sinais entre integrinas da matriz extracelular e receptores de factores de crescimento, que resultam em sobrevivência, migração e proliferação celular tumoral.

Teoricamente, anticorpos anti-HMW-MAA poderiam induzir uma paragem no crescimento do melanoma.

3.2.2. Anticorpos (Acs) anti-integrinas

As integrinas α_v estão implicadas na indução da angiogénese tumoral, tendo um papel importante no crescimento neoplásico.

O anticorpo monoclonal anti-integrinas α_v (CNTO 95) demonstrou actividade antitumoral e antiangiogénica em modelos animais, com boa tolerância.

A sobrerregulação da integrina $\alpha\beta$ (molécula de adesão que activa a FAK) é frequente no melanoma avançado. O anticorpo anti-integrina produz apoptose das células do melanoma podendo também tornar-se um alvo terapêutico.

3.3.Imunoterapia

3.3.1. Imunorregulação

Os papéis de vários elementos reguladores do sistema imune foram recentemente elucidados, tendo promovido uma visão mais precisa do processo tumoral, abrindo novas perspectivas para transpor a tolerância do organismo ao tumor.

Durante a fase de fuga tumoral ocorrem alterações na fisiologia e função das células tumorais que lhes permitem uma fuga eficaz ao sistema imune e o desenvolvimento de tumores clinicamente detectáveis, com potencial de crescimento infindável. Como exemplo destes mecanismos de fuga, podem referir-se a inibição das células apresentadoras de antígenos (APC), a inibição da expressão de moléculas co-estimuladoras necessárias à activação dos linfócitos T (B7 das APC, por exemplo), inibição da expressão das moléculas MHC 1 (o que torna as células neoplásicas “invisíveis” aos linfócitos T citotóxicos

antitumorais) e a produção de interleucinas imunossupressoras (IL-10 e TGF- β). As células T tornam-se tolerantes e, apesar de proliferarem, não produzem citocinas nem respondem aos antígenos, sendo funcionalmente inativas.

Como possibilidades terapêuticas potenciais, sugere-se o aumento da expressão de moléculas co-estimuladoras na superfície das células dendríticas (estimulação dos receptores das APC – CD40, CD 80, CD86 e TLR 9), o aumento ou o prolongar da activação das células T bloqueando receptores de sinalização negativa (CTLA 4) ou a potenciação de moléculas co-estimuladoras presentes na superfície do linfócito T (CD28) (Kirkwood, 2008).

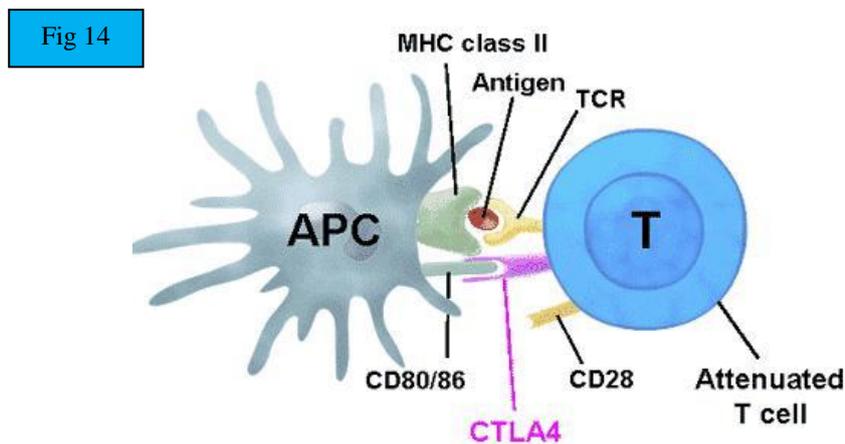


Fig. 14 - Interação entre as APC e linfócitos T - a ligação das moléculas de superfície das APC ao CTLA-4 promove a regulação negativa do linfócito T, pelo que este fica atenuado <www.medscape.com>

As **células T reguladoras** (Tregs) são uma subpopulação de células T que suprimem respostas imunes. Entre os marcadores de superfície celular destas células destacam-se o CD4, o CD25 e o Fox P3¹⁰ (mais específico) que permitem a quantificação sérica das Tregs. A possibilidade de estas células poderem ser responsáveis por falhas nas respostas imunes

¹⁰ Fox P3: Forkhead box P3 (Gene envolvido em respostas do sistema imune, que parece ser o regulador principal do desenvolvimento e da função das Tregs).

coloca-as como potenciais alvos terapêuticos no âmbito da imunoterapia (Lejeune et al., 2007). As células Tregs são essenciais para manter a autotolerância e para suprimir as respostas antitumorais, tendo sido apenas recentemente explorada a sua capacidade imunossupressora no tratamento das neoplasias. As Tregs, que estão hiper-representadas em lesões tumorais de doentes com melanoma e neoplasia pulmonar, podem inibir a função das células T infiltrativas utilizadas na transferência de células T, técnica já referida anteriormente.

Outro mecanismo de inibição imune é o antígeno CTL-associado 4 (CTLA-4), que está expresso na superfície de células T activadas e cujo papel é regular (negativamente) a função das células T antitumorais. O CTLA 4 é um mecanismo natural de corte da resposta imune, ao permitir um regresso à homeostase, limitando uma linfoproliferação descontrolada. Este antígeno tem, pois, um papel importante na prevenção da hiperestimulação e na protecção contra a auto-imunidade (Lejeune et al., 2007; Katipamula e Markovic, 2008). Postulou-se que o bloqueio do CTLA-4 poderia culminar numa melhor imunidade antitumoral e tolerância reduzida.

O bloqueio com anticorpos monoclonais (mAbs) *in vitro* e *in vivo* (isolado ou em combinação com outras terapias) produziu uma activação contínua de células T com respostas imunes antitumorais e regressão de tumores já estabelecidos, bem como a inibição das recorrências tumorais (Kirkwood et al., 2008).

Existem três tipos de anticorpos anti-CTLA-4 disponíveis: ***Ipilimumab*** - anticorpo do tipo IgG1, ***Ticilimumab*** e ***Tremelimumab*** – anticorpo do tipo IgG2.

Foram testados, em doentes em estágio avançado, isoladamente ou associados a outros tipos de terapias: QT, vacinas de peptídeos (gp 100) ou IL-2 (no caso do ipilimumab), tendo-se observado respostas clínicas objectivas superiores nas associações (Lejeune et al., 2007). O Tremelimumab não demonstrou qualquer melhoria significativa na sobrevivência global, comparando com a QT padrão.

Os principais efeitos secundários detectados são diarreia, colite, hipofisite, uveíte, hepatite, nefrite, toxicidade tiroideia e dermatites com ou sem prurido. As complicações gastro-intestinais variam desde a diarreia secretora leve à perfuração do cólon. A hipofisite ocorreu em 5% dos doentes tratados com ipilimumab e é acompanhada de baixos níveis de ACTH, TSH e cortisol. Os casos de colite registados cederam à corticoterapia, mas a hipofisite pode tornar-se permanente (Lejeune et al., 2007; Katipamula e Markovic, 2008). Supõe-se que estes efeitos estejam relacionados com o dano tecidual associado aos infiltrados de células T.

Tal como ocorre com o IFN- α -2b e a IL-2, a eficácia da rejeição/regressão tumoral associa-se a alterações auto-imunes que parecem estar associadas a um benefício clínico, com respostas mais duradouras ao tratamento, mas sem implicações a nível da sobrevivência global.

O bloqueio do CTLA-4 tem eficácia limitada quando usado isoladamente, embora se possa demonstrar útil como adjuvante terapêutico no tratamento do melanoma metastático.

Os Toll-like receptors (TLRs) são receptores intracelulares que reconhecem padrões moleculares conservados de patogénios (DNA bacterianos e virais). A sua estimulação promove uma resposta do sistema imune que pode culminar em apresentação antigénica e libertação de citocinas pró-inflamatórias, como o IFN α . O TLR 9 está expresso em células dendríticas plasmocitóides e células B e reconhece padrões moleculares presentes no DNA bacteriano e viral, induzindo a activação das células dendríticas e aumentando a expressão de moléculas co-estimuladoras. O PF-3512676 é um agonista sintético do TLR 9 que induz a maturação das células dendríticas e aumenta a apresentação de antigénios. Foi investigado no tratamento de doentes com melanoma, tendo-se verificado respostas parciais em 9% dos doentes e estabilização em 13,6% (Mansfield e Markovic, 2009). Como reacções adversas registaram-se sintomas gripais e reacções no local da injeção (Kirkwood et al., 2008). O

Imiquimod estimula o TLR-7, promovendo a síntese e a libertação de IFN- α . Obtiveram-se respostas objectivas com o uso tópico de imiquimod.

3.3.2 Vascularização tumoral

A angiogénese tem um papel crucial no desenvolvimento não só do melanoma mas também de outros tumores. Os melanócitos malignos têm a capacidade de libertar factores angiogénicos (como o factor de crescimento vascular endotelial – VEGF 2 e 3 – e o factor de crescimento de fibroblastos – FGF) bem como o VEGF-C que promove a linfangiogénese e a metastização. A neovascularização tumoral e os níveis elevados de LDH, VEGF e VEGFR estão associados a mau prognóstico.

Como tal, a inibição da neoangiogénese, a vasoconstricção dos vasos sanguíneos tumorais já estabelecidos, a indução da apoptose das células endoteliais e a redução da pressão intersticial poderá restringir o crescimento do tumor primário e o das metástases.

Um dos maiores obstáculos assenta na estrutura anormal dos vasos sanguíneos tumorais, bem como na alteração da permeabilidade vascular.

3.3.2.1. Factor de necrose tumoral (TNF)

O TNF é uma citocina com actividade pró-inflamatória e pró-apoptótica. Esta tem a capacidade de induzir apoptose selectiva de células endoteliais angiogénicas tumorais.

O TNF pode ser administrado juntamente com o melfalan e IFN através de perfusão regional hipertérmica. Altas doses de TNF induzem um aumento da permeabilidade da vasculatura tumoral, permitindo um acesso facilitado e selectivo dos agentes de quimioterapia ao tecido tumoral.

O aumento da permeabilidade tumoral envolve a remodelação do citoesqueleto bem como a redistribuição das moléculas de adesão intercelular.

As células endoteliais sofrem posteriormente apoptose, com destruição da vascularização tumoral, conduzindo à necrose tumoral maciça numa fase mais tardia (Lejeune et al, 2007).

3.3.2.2. Factor de crescimento vascular endotelial (VEGF)

O VEGF é um dos mais potentes indutores da angiogénese, interferindo na proliferação celular endotelial e permeabilidade vascular. As células do melanoma têm a capacidade de segregar diversos tipos de VEGF.

O bloqueio da angiogénese, tendo como alvo o VEGF-A, tornou-se objecto de estudo e culminou no desenvolvimento do **Bevacizumab** (anticorpo anti-VEGF).

A combinação de bevacizumab com quimioterapia (carboplatina e paclitaxel) teve resultados positivos no melanoma maligno e noutros tumores sólidos. A sua combinação com baixas doses de INF α -2b resultou em doença estável, embora não se tenham verificado respostas objectivas (Katipamula e Markovic, 2008).

Um dos maiores obstáculos para a acção farmacológica é a dificuldade de penetração tumoral. Com o intuito de subverter esta dificuldade, está em estudo a combinação bevacizumab/TNF e quimioterapia, que poderá permitir a optimização do grau de dano vascular e, assim, obter uma melhor penetração farmacológica (Lejeune et al., 2007).

O **Axitinib** é um agente oral potente inibidor selectivo dos receptores do VEGF 1, 2 e 3 e também dos PDGFR, com evidências preliminares de actividade clínica como monoterapia em neoplasias malignas angiogénicas (como o tumor de células renais). Foi também testado em 32 doentes com melanoma. Os efeitos secundários mais comuns foram astenia, hipertensão, disfonia e diarreia. O tratamento com axitinib, apesar da pequena amostra de doentes em que foi testada, poderá ter uma actividade clínica interessante no melanoma.

Supõe-se que a presença de tensão arterial diastólica > 90 mmHg poderá estar associada a sobrevivência mais longa.

O *Vatalanib* é um agente oral em investigação, inibidor da tirosina cinase dos VEGFR-1 e 2. Como efeitos secundários, podem referir-se hipertensão, vômitos, desorientação, diarreia e neutropenia. Nos doentes testados, a taxa de controlo da doença atingiu os 43%.

3.3.2.3. Talidomida

Apesar de não induzir qualquer resposta objectiva quando usada isoladamente, a talidomida tem a propriedade de inibir a expressão do VEGF. Está em estudo a sua associação com a temozolomida no tratamento do melanoma maligno.

3.3.2.4. Trombospondina

A trombospondina é um inibidor da angiogénese que é segregado pelas células endoteliais. O análogo sintético (ABR-510) até agora produzido não mostrou, contudo, eficácia clínica.

3.4. Terapia génica

A terapia génica do melanoma tem como base 3 objectivos:

- Aumento da imunidade antitumoral, transferindo genes de citocinas imuno-estimulantes;
- Interferência com vias de sinalização intracelular;
- Indução da destruição tumoral através da incorporação de genes suicidas.

Este tipo de terapia foi explorado através da injeção de vírus que codificam genes humanos ou de células alogénicas modificadas geneticamente.

Apesar dos efeitos benéficos teóricos obtidos em estudos pré-clínicos, não há provas de benefícios clínicos, o que provavelmente se relaciona com a dificuldade em obter um sistema de “entrega” eficaz e uma distribuição homogênea dos genes administrados.

A utilização de pequenas sequências de RNA não codificante poderá ter um papel na regulação génica (silenciadores génicos) (Lejeune et al., 2007).

3.5. Novos candidatos

3.5.1. Células-tronco

Os tratamentos actualmente disponíveis para o melanoma maligno induzem regressão tumoral objectiva numa pequena percentagem de doentes. A resistência do melanoma à terapêutica disponível e a sua recorrência estão relacionados com a heterogeneidade genética e a instabilidade tumoral. Até há pouco tempo, acreditava-se que estas alterações genéticas estariam relacionadas com a acumulação de diversas mutações em células já diferenciadas que as transformariam em células malignas, com perda de capacidade de diferenciação e com aquisição de resistência farmacológica.

Recentemente, chegou-se à conclusão de que o melanoma (e outros tumores sólidos) contêm uma subpopulação celular que é considerada a fonte do tumor primário e de novos nódulos tumorais, e a grande responsável também pela resistência à terapêutica e recorrências tumorais (Sabatino e Stroncek, 2009). Foi sugerido que as recorrências após resposta primária a um tratamento eram devidas a este subgrupo de células com resistência intrínseca às terapêuticas.

As células-tronco tumorais (*cancer stem cells* – CSC) apresentam capacidade auto-regenerativa, proliferação lenta indefinida e diferenciação em múltiplos fenótipos celulares. Caracterizam-se também pela maior expressão de transportadores transmembranares, factores

de crescimento e elementos de sinalização antiapoptótica. Os tumores serão iniciados e mantidos por esta subpopulação celular.

As alterações genéticas presentes nas CSC (como défices da reparação de DNA e mutações) originam uma instabilidade genómica responsável pela presença de um grande número de células tumorais semidiferenciadas. Durante a progressão do tumor, as CSC representam apenas 1% da carga tumoral, estando maioritariamente em fase quiescente.

Pelo facto de serem indiferenciadas, não expressam na sua superfície celular proteínas associadas à diferenciação tecidual (biomarcadores) e, como tal, não são alvos da terapia imune (Sabatino et al., 2009).

Vários estudos sustentam a existência de células-tronco de melanoma (*melanoma stem cells* – MSC), com capacidade auto-regenerativa. Estas células podem exprimir múltiplos antígenos de superfície, como CD20, ABCB 5, CD 133, ABCG2 (estes 2 últimos associados a um maior potencial tumorigénico), e MDR1 (bomba de transporte activo na membrana plasmática).

Até ao momento não existe qualquer marcador fidedigno que permita a identificação e o isolamento das MSC (Sabatino et al., 2009).

O objectivo, no que diz respeito ao melanoma e no âmbito da terapia imune, consiste em obter antígenos-alvo alternativos, cuja expressão seja mais provável nas CSC. A utilização do rituximab (anti-CD 20) mostrou provocar regressão destas células (Lejeune et al., 2007). Os agentes de QT, tradicionalmente, afectam células em divisão rápida. Uma vez que as CSC se encontram em regra quiescentes, não são atingidas por este tipo de tratamento. Novos agentes a desenvolver deverão focar outros processos que não a divisão celular (metabolismo celular, por exemplo).

3.5.2. Quimiocinas

As quimiocinas têm um papel primordial na resposta inflamatória, bem como na atracção e migração celular. Actualmente ocorre investigação intensa no âmbito dos inibidores das quimiocinas.

Novos alvos terapêuticos e novos agentes no tratamento do melanoma maligno

Inibidores da via MAPK → sorafenib, sunitinib

Inibidor da proteína antiapoptótica Bcl-2 → oblimersen

Inibidores do CTLA-4 → ipilimumab, tremelimumab

Agentes antiangiogénese → TNF, bevacizumab, axitinib

Conclusões

A incidência do melanoma maligno está a aumentar mais rapidamente do que qualquer outra neoplasia, sendo o MM, à excepção da leucemia do adulto, o tumor responsável pela perda de maior número de anos de esperança de vida potencial.

A excisão cirúrgica é o tratamento primário do melanoma, independentemente do estágio da doença. Em estádios iniciais, a cirurgia pode ser curativa (com ou sem terapia adjuvante). No entanto, nos doentes que desenvolvem doença disseminada (o que acontece ainda numa percentagem significativa), as opções terapêuticas são limitadas, reflectindo-se numa acentuada morbimortalidade.

A QT padrão (dacarbazina, temozolomida) tem eficácia limitada no tratamento do melanoma, com taxas de resposta bastante baixas.

A imunoterapia com IFN- α -2b e IL-2 tornou-se comum no tratamento do melanoma. Contudo, as terapêuticas correntes têm baixas taxas de resposta, e muitas delas estão

associadas a efeitos secundários significativos. O IFN- α -2b é usado como terapia adjuvante nos doentes com melanoma de alto risco. No entanto, o seu impacto na sobrevivência permanece controverso. A IL-2 apresenta taxas de resposta semelhantes à QT convencional, com um número limitado de respostas duradouras.

A identificação de novos agentes activos é, por esta razão, crucial nesta patologia. Devido à melhor compreensão da biologia do melanoma, novos agentes potenciais têm vindo a ser desenvolvidos. Todavia, a terapia no melanoma avançado permanece e permanecerá um desafio clínico constante.

Terapias inovadoras baseadas na imunomodulação, como os inibidores de tirosina cinases (vias MAPK), a inibição das vias inibitórias (CTLA-4), a estimulação das moléculas co-estimuladoras e os inibidores da angiogénese têm demonstrado actividade promissora.

A transferência de células T com linfodepleção e altas doses de IL-2 atingiram respostas muito animadoras.

Nenhum dos agentes mencionados demonstrou ainda benefício na sobrevivência global comparativamente aos tratamentos já disponíveis.

Os tratamentos actuais do melanoma maligno abrem janelas para novas terapias mais eficazes. Avanços nas áreas da genómica, imunologia e biologia molecular não-de tornar possível a selecção de doentes que responderão a uma dada terapia; num futuro que se deseja breve, estas novas técnicas podem mesmo vir a modificar os mecanismos de resistência e permitir que doentes actualmente considerados incuráveis passem a ter não só uma esperança mas uma real possibilidade de cura.

Bibliografia

- BRAUN P. B., Oliviero M., Kolm I. et al. (2009) Dermoscopy: what's new?. *Clinics in Dermatology*, 27: 26-34.
- CHUSTECKA Z. (2008) Promising new agents and treatment failures in melanoma. <www.medscape.com>.
- CUNHA, Daniela et al. (2009) Vitiligo: a good prognostic factor in melanoma?. *Dermatology Online Journal*, 15 (2): 15
- DE SIMONE M. e Vaira M.(2006) Hyperthermic Isolated Limb Perfusion. In *Hyperthermia in Cancer Treatment: a Primer* (Springer, Landes Bioscience), capítulo 16 s. 1.
- DEMIERRE Marie-France et al. (2008) State of the Science 60th Anniversary Review. 60 Years of Advances in Cutaneous Melanoma. *Epidemiology, Diagnosis and Treatment, as Reported in the Journal Cancer; Cancer Supplement*, volume 113, number 7: 1728 – 1743.
- FITZPATRICK T. B., Johnson R. A., Wolff K., Suurmond D. (2002) Melanoma cutâneo. In: *Dermatologia Atlas e Texto*, pp. 282 – 311. Rio de Janeiro: The McGraw-Hill Companies.
- FUJITA M. et al. (2009) Development of vitiligo during melanoma treatment with a novel survivin inhibitor: a case report and review of the literature. *International Journal of Dermatology*, 48, 426 – 430.
- GATTININI Luca et al. (2006) Adoptative immunotherapy for cancer: building on success. *Nature Reviews Immunology*, 6, 383-393.
- GUADAGNOLO B. A., Zagars G. K. (2009) Adjuvant radiation therapy for high-risk nodal metastases from cutaneous melanoma. *Lancet Oncol* 10: 409-416.
- KATIPAMULA R., Markovic S. (2008) Emerging therapies for melanoma. *Expert Rev. Anticancer Ther.* 8 (4): 553-560.
- KIRKWOOD J. M., Tarhini A. A., Panelli M. et al. (2008) Next generation of immunotherapy for melanoma. *Journal of Clinical Oncology*, 28, Number 20: 3345-3455.
- KOON H. B., Atkins M. B. (2007) Update on therapy for melanoma: opportunities for patient selection and overcoming tumor resistance. *Expert Rev. Anticancer Ther* 7 (1): 79-88.
- KROON H. M., Lin D-Y et al. (2009) Major amputation for irresectable extremity melanoma after failure of isolated limb infusion. *Ann Surg Oncol* 16: 1543-1547.
- LAWSON D. H. (2004) Update on the Systemic Treatment of Malignant Melanoma. *Seminars in Oncology*, 31, Number 2, Supplement 4: 33-37.

- LEJEUNE Ferdy J., Rimoldi D., Speiser D. (2007) New approaches in metastatic melanoma: biological and molecular targeted therapies. *Expert Rev. Anticancer Ther.* 7 (5) : 701-713.
- MANSFIELD A. S.; Markovic S. N. (2009) Novel Therapeutics for the treatment of metastatic melanoma. From *Future Oncology* <<http://www.emedicine.medscape.com>>.
- MARKOVIC S. N., Erickson L. A., Rao D. R. et al. (2007) Malignant melanoma in the 21st Century, Part 2: Staging, Prognosis, and Treatment. *Mayo Clinic Proc.*, 82 (4): 490-513.
- NORRIS, L. B. (2008) New Therapeutic Approaches to Metastatic Melanoma; Updates from ASCO 2008 – Multidisciplinary Cancer Care.
- RAGER E. L., Bridgeford E. P., Ollila D. W. (2008) Cutaneous melanoma: update on Prevention, Screening, Diagnosis, and Treatment. *American Family Physician*, 72, Number 2: 269-276.
- SABATINO Marianna, Stroncek D. F. et al. (2009) Stem Cells in melanoma development. *Cancer Letters* 279: 119-125.
- SEETHARAMU N., Ott P. A., Pavlick A. C. (2009) Novel Therapeutics for melanoma. <www.medscape.com> (from Expert Review of Anticancer Therapy).
- SOBER Arthur et al. (2008) Cancer of the Skin. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine* 17th Edition (Fauci et al), chapter 83, pp 541-545. USA: McGraw Hill
- SWETTER Susan (2008); Malignant Melanoma. <<http://www.emedicine.medscape.com>>.
- TSAO Hensin, Sober J. A. (2005) Melanoma Treatment Update. *Dermatologic Clinics*, 23: 323-333.
- WARGO J.A., Tanabe K. (2009) Surgical management of melanoma. *Hematol Oncol Clin N Am*, 23: 565-581.
- YAO Katherine, Balch G., Winchester D. J. (2009) Multidisciplinary Treatment of Primary Melanoma. *Surg Clin N Am* 89: 267-281.

Anexo 1 - Classificação TNM (AJCC 2002)¹¹

<u>Classificação T</u>	<u>Espessura</u>	<u>Ulceração</u>
T0	Sem evidência de lesão primária	
Tis	Melanoma <i>in situ</i>	
T1	≤ 1.0 mm	a: Sem ulceração. Clark II/III b: Com ulceração. Clark IV/V
T2	1.01 – 2.0 mm	a: Sem ulceração. b: Com ulceração.
T3	2.01 – 4.0 mm	a: Sem ulceração. b: Com ulceração.
T4	> 4 mm	a: Sem ulceração. b: Com ulceração.
<u>Classificação N</u>	<u>Nº metástases ganglionares</u>	<u>Massa metastática</u>
No	Sem evidência de metástases ganglionares	
N1	1 gânglio	a: micrometástases b: macrometástases
N2	2 – 3 gânglios	a: micrometástases b: macrometástases c: metástases em trânsito/satélite SEM gânglios metastáticos
N3	4 ou mais gânglios metastáticos, ou gânglios ligados, ou combinação de metástases em trânsito/satélites E gânglios metastáticos	
<u>Classificação M</u>	<u>Localização</u>	<u>LDH sérico</u>
M0	Sem evidência de metástases à distância	
M1 a	Metástases cutâneas, subcutâneas ou ganglionares distantes	Normal
M1 b	Metástases pulmonares	Normal
M1 c	Todas as outras metástases viscerais ou qualquer metástase distante	Normal Elevada

¹¹ Uma nova revisão ocorreu durante 2009 e entrará em vigor em 2010, a qual incluirá o índice mitótico.

Anexo 2 - Estadiamento clínico do melanoma cutâneo

Estadiamento clínico			
Estádio 0	Tis	N0	M0
Estádio IA	T1 a	N0	M0
Estádio IB	T1 b	N0	M0
	T2 a	N0	M0
Estádio II A	T2 b	N0	M0
	T3 a	N0	M0
Estádio II B	T3 b	N0	M0
	T4 a	N0	M0
Estádio II C	T4 b	N0	M0
Estádio III	Qualquer T	N1, N2, N3	M0
Estádio IV	Qualquer T	Qualquer N	M1

O estadiamento clínico inclui o microestadiamento do melanoma primário e a avaliação clínica/radiológica de metástases. Por convenção, é realizada após a excisão completa da lesão primária com avaliação clínica de metástases regionais ou distantes.

Anexo 3 - Estadiamento patológico do melanoma cutâneo

Estadiamento patológico			
Estádio 0	Tis	N0	M0
Estádio IA	T1 a	N0	M0
Estádio IB	T1 b	N0	M0
	T2 a	N0	M0
Estádio II A	T2 b	N0	M0
	T3 a	N0	M0
Estádio II B	T3 b	N0	M0
	T4 a	N0	M0
Estádio II C	T4 b	N0	M0
Estádio III A	T1-4 a	N1 a	M0
	T1-4 a	N2a	M0
Estádio III B	T1-4 b	N1 a	M0
	T1-4 b	N2a	M0
	T1-4 a	N1 b	M0
	T1-4 a	N2 b	M0
	T1-4 a/b	N2 c	M0
Estádio III C	T1-4 b	N1 b	M0
	T1-4 b	N2 b	M0
	Qualquer T	N3	M0
Estádio IV	Qualquer T	Qualquer N	M1

O estadiamento patológico inclui o microestadiamento da lesão primária e a informação patológica sobre as cadeias linfáticas regionais após linfadenectomia parcial ou completa.