

CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE PACIENTES PORTADORES DE MELANOMA COM SÍNDROME DO MELANOMA FAMILIAL

LUCIANA FACURE MOREDO

**Dissertação apresentada à Fundação Antônio
Prudente para obtenção do título de Mestre em
Ciências**

Área de Concentração: Oncologia

Orientador: Dr. João Pedreira Duprat Neto

Co-Orientador: Dr. Gilles Landman

São Paulo

2012

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da Fundação Antônio Prudente

Moredo, Luciana Facure

Caracterização fenotípica de famílias brasileiras portadoras da síndrome do melanoma familiar / Luciana Facure Moredo – São Paulo, 2012.
69p.

Dissertação (Mestrado)-Fundação Antônio Prudente. Curso de Pós-Graduação em Ciências - Área de concentração: oncologia.
Orientador: João Pedreira Duprat Neto

Descritores: 1. MELANOMA. 2. FENÓTIPO. 3. GENÉTICA. 4. HEREDITARIEDADE.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Jorge e Elizabeth

Aos meus filhos, Rafael, Gustavo e Tiago

Ao meu marido Eduardo

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Dr. João Pedreira Duprat Neto, pela oportunidade, paciência, serenidade nos momentos que pareciam difíceis e principalmente por ter me acolhido tão bem, sempre. Obrigada por tornar tudo isso possível;

Ao meu Co-Orientador, Dr. Gilles Landman, que me proporcionou o primeiro contato com o tema desse trabalho e me fez acreditar nele. Obrigada pela confiança e pela oportunidade que me deu de trabalhar num projeto tão especial como o GenoMEL;

Ao meu pai que tantas coisas me proporcionou ao longo da minha vida...

À minha mãe que estava sempre pronta para vir a São Paulo me ajudar com os meninos;

Aos meus filhos Rafael, Gustavo e Tiago, que mesmo sem saberem, me ajudaram a esquecer dos momentos mais difíceis pelos quais estava passando e também dos que viriam pela frente. Só eles mesmo...

Ao meu marido, Eduardo, que se esforçou muito para compreender o motivo de tanto estudo, tanta leitura e da minha ausência em alguns sábados;

À Dra Bianca Costa Soares de Sá, que além de amiga foi uma tutora. Obrigada por tantos ensinamentos, pelo apoio, pela colaboração e disponibilidade de me ajudar sempre;

À Dra Gisele Gargantini Rezze pela colaboração e pelo incentivo;

A todos do Núcleo de Câncer de Pele e Dermatologia pela colaboração e também pelos momentos de descontração;

Ao Dr. Alexandre Leon Ribeiro de Ávila, por me apresentar ao Dr. Gilles, por todas as conversas que tivemos e pelo incentivo;

Ao Departamento de Oncogenética Molecular, especialmente à Dra Maria Isabel Achatz e à enfermeira Amanda, pela colaboração e disponibilidade;

Ao Laboratório de Genômica e Biologia Molecular;

Ao corpo docente da Pós Graduação da Fundação Antônio Prudente pela competência e dedicação às disciplinas;

À Dra Erika Maria Monteiro dos Santos, um exemplo de competência e dedicação, pelas correções do trabalho durante a qualificação;

À Ana Maria Kuninari, Vanuza Barros Rodrigues e Luciana C. Pitombeira pelo carinho e compreensão;

Aos colaboradores do Centro Internacional de Pesquisa e Ensino (CIPE) e do Banco de Macromoléculas que colaboraram imensamente com este projeto;

Aos funcionários da Biblioteca do Hospital A C Camargo;

À querida Suely Francisco pela paciência e carinho de sempre e pela formatação do trabalho;

À Gilmara Silva e Carla Furlani;

À Aline Damasceno pela análise estatística;

À FAPESP pelo auxílio financeiro;

A todos os pacientes que contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Facure L. **Caracterização fenotípica de pacientes portadores de melanoma com síndrome do melanoma familiar.** São Paulo; 2012. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antônio Prudente].

INTRODUÇÃO: A Síndrome do Melanoma Familiar (SMF) pode ser caracterizada por: famílias com múltiplos membros afetados e/ou indivíduo com melanoma múltiplo primário (MMP). **OBJETIVOS:** Caracterizar e comparar o fenótipo dos pacientes portadores de MC com a SMF, com e sem mutação no gene *CDKN2A*; comparando-os com pacientes portadores de melanoma esporádico (ME) e pacientes sem doença oncológica. **PACIENTES E MÉTODOS:** Neste estudo foram analisados três grupos: grupo A (SMF), grupo B (ME) e grupo C (indivíduos saudáveis). Incluídos 59 pacientes com a SMF, 54 com ME e 74 pessoas saudáveis. As características fenotípicas avaliadas foram: cor dos olhos e dos cabelos, pigmentação na íris, gradação das efélides, fototipo, história de queimadura solar, número de nevos comuns e atípicos, síndrome do nevo atípico (SNA); além do *status* de mutação germinativa do gene *CDKN2A*, determinada por sequenciamento direto, para os pacientes do grupo A. **RESULTADOS:** Os dados foram coletados no período de Setembro de 2008 à Novembro de 2010 (grupo A) e Janeiro de 2010 à Novembro de 2011 (grupos B e C). No grupo com a SMF 61% dos indivíduos apresentaram alta densidade de efélides em tronco, 58% < 50 nevos comuns, 83% fototipo I ou II e 66% história de queimadura solar. Na avaliação quanto à presença ou ausência de mutação germinativa em *CDKN2A*, não evidenciou-se significância estatística para as variáveis analisadas. Na comparação entre os três grupos de estudo obteve-se significância estatística, com predomínio no grupo A das seguintes variáveis: efélides em antebraço ($p=0,026$), efélides em tronco ($p<0,001$), maior número de nevos comuns ($p<0,001$), presença do fenótipo de SNA ($p<0,001$), fototipo I e II ($p<0,001$) e pigmentação na íris ($p=0,008$).

Em relação à queimadura solar, observou-se predomínio entre os portadores de ME ($p=0,050$). **CONCLUSÕES:** Fenótipo dos pacientes com SMF: olhos e cabelos escuros, alta densidade de efélides no tronco, menos de 50 nevos, fototipo I ou II e história de queimadura solar. Não foi possível definir um fenótipo prevalente entre aqueles com a mutação. As características fenotípicas relacionadas ao alto risco para o desenvolvimento do melanoma foram prevalentes nos pacientes com a SMF (número elevado de nevos comuns, NA e a SNA, fototipo I e II, muitas efélides e pigmentação na íris).

SUMMARY

Facure L. **[Phenotypic characterization of melanoma patients with familial melanoma syndrome]**. São Paulo; 2012. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antônio Prudente].

INTRODUCTION: The Familial Melanoma Syndrome (FMS) may be characterized by: multiple members affected (at the same branch) and/or multiple primary melanomas (MPM) (2 or more). **OBJECTIVES:** Characterize and compare the phenotype characteristics (PCs) of patients with the FMS, carriers and non-carriers of *CDKN2A* mutation; and compare to the other two groups, sporadic melanoma (SM) and healthy patients. **PATIENTS AND METHODS:** In this study we analyzed the PCs of three groups: group A (FMS), group B (SM) and group C (healthy people). We included 59 individuals with the FMS, 54 with SM and 74 healthy people. The PCs evaluated were: eye color and pigmented lesions on the iris, hair color, skin type (Fitzpatrick), freckles density, melanocytic and atypical mole count, history of sunburn, atypical mole syndrome (AMS); and also the mutation status on *CDKN2A* gene, determinate by sequencing, for group A. **RESULTS:** The data were collected between September 2008 and November 2010 (group A) and from January 2010 to November 2011 (groups B and C). At the FMS group 61% had high density freckles on the trunk, 58% < 50 melanocytic naevi, 83% skin type I or II and 66% history of sunburn. Concerning the germline mutation status on the *CDKN2A* gene association was not observed with in the analyzed features. The comparison between the three groups (A, B and C) showed prevalence of some PCs on group A: freckles in the lower arm ($p=0,026$), freckles in trunk ($p<0,001$), great number of naevi ($p<0,001$), AMS ($p<0,001$), skin type I and II ($p<0,001$) and pigmented lesions on the iris ($p=0,008$). History of sunburn was more frequently seen in the SM patients ($p=0,050$). Most patients had dark eyes and hair. **CONCLUSIONS:** The FMS patients phenotype: dark eyes and hair,

high-density freckles, less than 50 moles, phototype I or II and sunburn. It was not possible to determine a prevalent phenotype for the carriers and non-carriers of the mutation on group A. The PCs related to a higher risk for the development of melanoma were more frequently observed on FMS group (high number of common and atypical moles and AMS, phototype I and II, high density freckles and pigmentation on the iris).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Dorso de paciente com múltiplas efélides. Hospital A. C. Camargo, São Paulo.....	9
Figura 2	Dorso de paciente com SNA apresentando múltiplas lesões, incluindo nevos clinicamente atípicos. Hospital A. C. Camargo, São Paulo.....	12
Figura 3	O <i>CDKN2A</i> e o controle do ciclo celular.....	20

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Fatores de risco para o desenvolvimento do MC.....	6
Quadro 2	Classificação de Fitzpatrick.....	10
Quadro 3	Riscos e benefícios potenciais associados ao teste genético.....	27
Quadro 4	Fenótipo dos pacientes com mutação detectada em <i>CDKN2A</i> (Grupo A).....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características associadas a pelo menos 10% de probabilidade de ser portador da mutação em <i>CDKN2A</i>	29
Tabela 2	Características clínicas dos pacientes do Grupo A (n=59).....	40
Tabela 3	Características fenotípicas de pigmentação dos indivíduos do grupo A (n=59).....	41
Tabela 4	Variáveis clínicas e fenotípicas relacionadas com a presença ou ausência da mutação em <i>CDKN2A</i> do Grupo A (n=59).....	42
Tabela 5	Número de melanomas e de familiares afetados dos 50 pacientes do grupo A que tiveram resultado negativo para mutação em <i>CDKN2A</i>	44
Tabela 6	Número de melanomas dos pacientes do grupo A (SMF) relacionado à presença de nevos comuns, SNA e história de queimadura solar.....	44
Tabela 7	Distribuição dos pacientes dos três grupos de estudo (SMF, ME, controle) quanto ao gênero e média de idade ao diagnóstico.....	45
Tabela 8	Comparação das características fenotípicas dos indivíduos dos grupos A, B e C.....	46
Tabela 9	Distribuição dos pacientes dos três grupos (SMF, ME, saudáveis) quanto aos nevos atípicos.....	47

Tabela 10	Comparação dos fenótipos dos pacientes do grupo A e grupo B.....	48
Tabela 11	Comparação dos fenótipos dos pacientes do grupo A e grupo C.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS

ARF	<i>Alternative Reading Frame</i>
Arg	<i>arginine</i>
ASCO	<i>American Society of Clinical Oncology</i>
BRAF	<i>Serine/threonine-protein kinase</i>
CDK4	<i>Ciclin- Dependent Kinase 4</i>
CDKN2A	<i>Ciclin- Dependent Kinase Inhibitor 2A</i>
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
INCA	Instituto Nacional do Câncer
Ins	<i>insertion</i>
MC	Melanoma Cutâneo
MC1R	<i>Melanocortin 1 Receptor</i>
ME	Melanoma Esporádico
MMP	Melanoma Múltiplo Primário
NA	Nevo Atípico
NCI	<i>National Cancer Institute</i>
PTEN	<i>phosphatase and tensin homolog</i>
RUV	Radiação ultra-violeta
Ser	<i>serine</i>
SEER	Surveillance, Epidemiology, and End Results
SMF	Síndrome do Melanoma Familiar
SNA	Síndrome do Nevo Atípico
SNC	Sistema Nervoso Central
UVA	Ultra Violeta A

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Melanoma Cutâneo	1
1.2	Epidemiologia do Melanoma	4
1.3	Fatores de Risco para o Desenvolvimento do Melanoma	5
1.3.1	Exposição solar	6
1.3.2	Fenótipo de pigmentação	9
1.3.3	Fenótipo do nevo atípico	11
1.4	Melanoma Familiar	14
1.4.1	O câncer de pâncreas e o melanoma familiar.....	17
1.4.2	Genética do melanoma familiar	18
1.4.3	Manejo dos pacientes e famílias de alto risco para SMF	23
1.4.4	O Projeto GenoMEL	25
1.4.5	Aconselhamento Genético no Melanoma Familiar.....	26
2	JUSTIFICATIVA.....	32
3	OBJETIVOS	33
4	PACIENTES E MÉTODOS.....	34
4.1	Análise Estatística	39
5	RESULTADOS.....	40
5.1	Caracterização do fenótipo: Grupo A	40
5.2	Comparação do fenótipo: Grupo A, Grupo B e Grupo C	45
6	DISCUSSÃO	50
6.1	Mutação em CDKN2A e fenótipo: grupo A	50
6.2	Fenótipo: grupo A, grupo B, grupo C	52
6.3	Fenótipo: grupo A e grupo B.....	55

6.4	Fenótipo: grupo A e grupo C	56
7	CONCLUSÃO	58
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	61

ANEXOS

Anexo 1 Avaliação de fenotipagem (olhos, cabelos, nevos e efélides)

Anexo 2 Avaliação do geral

Anexo 3 Classificação de Newton para a Síndrome do Nevo Atípico

Anexo 4 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Anexo 5 Mutação em *CDKN2A* dos 9 pacientes do grupo A.

1 INTRODUÇÃO

1.1 MELANOMA CUTÂNEO

O melanoma cutâneo (MC) pode ser considerado uma doença espectral, onde em um extremo encontram-se os melanomas finos primários, com altas taxas de cura; de outro, os melanomas metastáticos caracterizados por sua baixa taxa de resposta e prognóstico ruim. Baseando-se no fato de que o tratamento eficaz e adequado para o melanoma avançado esteja muito aquém do desejado, muitas pesquisas têm sido feitas em relação aos conceitos de biologia do melanócito, genética do melanoma e imunologia tumoral. Embora mais de 95% dos tumores encontrem-se na pele, o melanoma não é exclusivamente um câncer de pele. Outros sítios de melanoma primário incluem: aparelho ocular, mucosa, trato gastrointestinal, trato geniturinário e leptomeninges (MARKOVIC et al. 2007).

Atuar na prevenção e detecção precoce são medidas essenciais para diminuir os risco do desenvolvimento do MC e melhorar as taxas de resposta ao tratamento e sobrevida. Estas podem ser classificadas em prevenção primária, secundária e terciária (MARKOVIC et al. 2007).

A prevenção primária consiste em prevenir a ocorrência da doença, minimizando os fatores de risco conhecidos na população alvo. No caso do MC, inclui educação sobre a forma correta de exposição solar: uso de

roupas para proteção, chapéus, protetor solar tópico e evitar os horários de maior radiação. É importante que esta orientação seja iniciada na infância pois os efeitos do sol são cumulativos e a história de queimadura nesta fase é um importante fator de risco para o desenvolvimento de MC.

A prevenção secundária envolve o rastreamento e seguimento dos pacientes de risco para o diagnóstico precoce. Para o MC inclui exame completo da pele por médico especializado na população geral e principalmente na população de risco, com avaliação das lesões pigmentadas e também o auto-exame. A utilização de folhetos explicativos para o diagnóstico, como o ABCDE do melanoma, podem auxiliar médicos e pacientes na prevenção secundária. Contempla as seguintes características: Assimetria (A), Borda irregular (B), variação de Cor (C), Diâmetro (>6mm) (D) e E (do inglês *Evolving*) para o item mudança de aspecto (GROB et al. 1993).

E embora o trabalho de ARGENZIANO et al. (2012) tenha concluído que o exame completo da pele seja eficiente para a detecção do câncer de pele (melanoma ou não-melanoma), a eficácia dos programas de rastreamento bem como a definição da população-alvo para este tipo de abordagem ainda são questões bastante discutidas entre os especialistas já que não foi possível ainda avaliar o impacto deste tipo de programa na morbi-mortalidade.

O grupo de risco para o desenvolvimento da doença inclui indivíduos com xeroderma pigmentoso, nevo congênito gigante, síndrome do melanoma familiar e do nevo atípico, surgimento de novos nevos, quantidade

excessiva de nevus (>50), nevus que sofreram transformação, homens > 50 anos, história pessoal de MC e imunodeficientes. O conhecimento destes fatores de risco permite a seleção correta dos pacientes que devem ter um acompanhamento mais efetivo (FREEDBERG et al. 1999, DIFRONZO et al. 2001; GELLER et al. 2002, 2003).

Estas ações, além de terem uma boa relação custo-benefício, estão associadas à melhor sobrevida (FREEDBERG et al. 1999; DIFRONZO et al. 2001; GELLER et al. 2002, 2003).

Segundo DIFRONZO et al. (2001), pacientes com história prévia de MC, têm de 10-25 vezes mais riscos para o desenvolvimento de um segundo primário do que a população que não tem história da doença, sendo a frequência entre 0,5% à 5,5%. Neste estudo o autor mostra que pacientes que receberam orientações sobre a prevenção da doença e foram acompanhados rotineiramente após excisão do primeiro melanoma, foram beneficiados com um diagnóstico precoce. De 51 pacientes que tiveram o segundo tumor primário e foram avaliados quanto à espessura de Breslow, 41 (78,4%) foram diagnosticados com espessura menor. A espessura variou de 1,02mm - 1,32mm para o primeiro melanoma e de 0,52mm – 0,63mm para o segundo.

A prevenção terciária engloba o controle de morbididades e a melhoria da sobrevida nos pacientes com doença avançada (MARKOVIC et al. 2007).

1.2 EPIDEMIOLOGIA DO MELANOMA

A incidência do melanoma vem aumentando nas últimas décadas, e entre os cânceres, é o quinto mais comum nos homens e o sexto nas mulheres (JEMAL et al. 2006).

A maior parte dos melanomas é diagnosticada em estágios iniciais (espessura de Breslow <1 mm) e, portanto, apresentam altas taxas de cura (cerca de 70%). No entanto, aqueles diagnosticados mais tardiamente (espessura de Breslow >1 mm) têm menor sobrevida e prognóstico reservado (BERWICK et al. 2009).

Segundo JEMAL et al. (2006) estima-se que tenham sido diagnosticados aproximadamente 62.000 novos casos de melanoma nos Estados Unidos. De acordo com o *Surveillance, Epidemiology, and End Results-SEER* (2011) em 2000, aproximadamente 629.800 pessoas tinham história de melanoma. A incidência anual ajustada pela idade era de 18,3 por 100.000 pessoas por ano e a mortalidade, de 2,7/100.000. Sabe-se que a incidência varia muito de acordo com a população e a localização geográfica. Em Queensland, Austrália, a frequência cumulativa na população acima de 50 anos é de 1/ 19 nos homens e de 1/ 25 nas mulheres. Nos Estados Unidos a incidência do MC aumentou em 270% entre 1973 e 2002. Isto significa que 1 a cada 63 americanos desenvolverão a doença ao longo da vida. No ano de 1935 falava-se em um risco de 1/ 1500, já em 1980, de 1/ 250.

De acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA), estima-se para 2012, 6230 casos novos de MC, sendo 3170 em homens e 3060 em mulheres. A maior incidência encontra-se na região Sul do país, onde 1820 novos casos foram estimados para 2012 (Ministério da Saúde 2011).

Ao contrário da maioria dos tumores sólidos, o melanoma afeta pessoas em idade jovem e adulta, sendo a média de idade ao diagnóstico de 57 anos, e ao óbito, de 67. A incidência da doença aumenta dos 15 aos 50 anos, depois sofre uma queda. E quando comparados com as mulheres, os homens têm 1,5 vezes mais chances de desenvolverem o melanoma. Em relação à localização da doença, nos homens, manifesta-se mais frequentemente no dorso, enquanto que nas mulheres, nos braços e pernas (MARKOVIC et al. 2007).

1.3 FATORES DE RISCO PARA O DESENVOLVIMENTO DO MELANOMA

Os fatores de risco para o desenvolvimento do melanoma podem ser divididos basicamente em ambientais e genéticos (Quadro 1). A compreensão da interação entre estes dois fatores têm sido beneficiada a partir dos avanços na genômica (BERWICK et al. 2009).

Quadro 1 - Fatores de risco para o desenvolvimento do MC

FATOR	RISCO RELATIVO APROXIMADO
Membro de uma família propensa a SMF*	35-70
História pessoal de melanoma	8,5
História familiar de melanoma [#]	2 - 3
Pele tipo I (Fitzpatrick)	1,4
Efélides	2 - 3
Olhos azuis	1,6
Cabelos ruivos	2,4 - 4
História de queimadura solar com bolhas	2 - 3
Múltiplos nevos e nevos atípicos	2 - 12

Fonte: adaptado de KEFFORD et al. (1999).

* Vários parentes afetados na mesma ramificação

[#] Um ou mais parentes de primeiro grau afetados

Muitos fatores, como nevos atípicos e comuns, exposição solar, história familiar, dano actínico e fenótipo são hipoteticamente responsáveis pelo aumento da incidência do melanoma. Destes, talvez um dos mais discutido seja o excesso de exposição à radiação ultravioleta (RUV), devido tanto aos fatores relacionados à camada de ozônio como a mudanças comportamentais tais como o uso de câmaras de bronzeamento artificial (MARKOVIC et al. 2007).

1.3.1 Exposição solar

De acordo com VEIEROD et al. (2003) e MARKOVIC et al. (2007), muitos estudos mostraram que exposição solar intermitente associada à história de queimadura solar, aumenta o risco de desenvolvimento do

melanoma. Um fator importante é a idade em que ocorreu a queimadura; nas crianças, associa-se a um risco extremamente alto.

Além disso, em estudo realizado por KRAEMER et al. (1994), com 132 pacientes com xeroderma pigmentoso (desordem genética caracterizada pela deficiência dos mecanismos de reparo do DNA e, portanto, hipersensibilidade aos danos causados pela exposição aos raios ultravioleta - RUV), 22% tinham MC, mostrando um aumento na frequência da doença superior a mil vezes nos pacientes menores de 20 anos, principalmente em locais previamente expostos ao sol.

A relação entre exposição solar e o risco de melanoma supõe que o uso de protetor solar possa reduzir o risco de desenvolvimento da doença (MARKOVIC et al. 2007). Estudo conduzido por GALLAGHER et al. (2000) mostrou que o uso de fator de proteção solar maior que 30 pode reduzir em 30% a 40% o número de nevos adquiridos em crianças. Considerando que nevos adquiridos por exposição solar excessiva aumentam o risco de MC, o protetor solar provavelmente tem papel importante na prevenção. Por outro lado, AUTIER et al. (1999) e DUPUY et al. (2005) mostraram que por prevenir contra queimaduras, o uso do protetor acaba prolongando o tempo de exposição solar, aumentando o tempo total de exposição aos RUV. Portanto, recomenda-se que outros métodos sejam usados (camisa de mangas compridas, chapéu e calças compridas) concomitantemente com o protetor solar.

Segundo PHO et al. (2006), o fato de que a exposição à radiação ultravioleta aumenta o risco de desenvolvimento do melanoma é algo bem

aceito, no entanto, definir o risco ambiental de tal exposição em relação à susceptibilidade individual é um problema, já que vários fatores estão envolvidos.

Alguns estudos mostraram que a exposição solar na infância e adolescência aumenta o risco do desenvolvimento do melanoma no adulto, principalmente quando houve queimadura. No entanto, este risco é modificado de acordo com o tipo de pele e com a capacidade de se bronzear (SISKIND et al. 2002).

Em contrapartida, estudos coletivos para comparar exposição solar intermitente e crônica (ocupacional), sugerem que a crônica poderia ter efeito protetor por aumentar a espessura da pele e a produção de melanina (ELWOOD 1992; BERWICK et al. 2005).

Poucos estudos relacionaram diretamente a exposição aos raios ultravioleta com o risco familiar na patogênese do melanoma e mesmo assim, seus resultados eram conflitantes.

Estudo de HEMMINK et al. (2003) que investigou famílias de alto risco para o desenvolvimento do melanoma, verificou que partes do corpo que eram protegidas da exposição solar apresentaram risco elevado para o desenvolvimento da doença quando comparadas com partes expostas. Já SISKIND et al. (2002) não observou diferenças quanto ao dano relacionado à exposição solar cumulativa durante a infância ou adolescência entre as famílias de risco baixo, intermediário e alto.

Estudo realizado com 528 pacientes nos Estados Unidos no período de 1987 a 1989 que tinha como objetivo analisar as mortes por melanoma,

sugeriu que fatores associados à exposição solar excessiva como o dano actínico e queimaduras, além de exposição solar intermitente poderiam estar diretamente relacionados com melhor sobrevida no melanoma. E ainda, os autores sugeriram que o dano actínico poderia atuar no aumento de melanina, vitamina D ou no auxílio à reparação de DNA danificado por RUV (BERWICK et al. 2005).

1.3.2 Fenótipo de pigmentação

Vários estudos epidemiológicos já identificaram fatores fenotípicos relacionados com um risco aumentado para o desenvolvimento do MC. Estes fatores incluem fototipo I e II (sensibilidade ao sol: maior tendência à queimadura do que capacidade de se bronzear), alta densidade de efélides, cor dos olhos (azul, verde ou cinza) e cor dos cabelos (loiro ou ruivo) (GANDINI et al. 2005a, b e c).



Figura 1 - Dorso de paciente com múltiplas efélides. Hospital A C Camargo, São Paulo.

O conceito de classificação do tipo de pele quanto à reação à exposição solar foi criado em 1975 por Thomas B. Fitzpatrick a partir de uma necessidade específica: classificar as pessoas de pele clara para escolher a dose inicial correta de UVA na aplicação da, então nova técnica desenvolvida para o tratamento da psoríase- fotoquimioterapia oral metoxsalen. Esta classificação foi proposta baseada na resposta dos indivíduos a duas questões, após exposição solar inicial de 45 a 60 minutos: (1) Quanto de dor você sente devido à queimadura após 24 horas da exposição? E (2) Quanto de bronzeado você adquiriria em uma semana? (FITZPATRICK 1988; ROBERTS 2009).

A partir disto, dois grupos ficaram bem distintos: o primeiro que teria queimadura dolorosa após 24 horas da exposição e não bronzearia após uma semana (seria chamado de fototipo I). E o segundo, que não teria queimadura e conseguiria bom bronzeado (seria chamado de fototipo IV). Um subgrupo do fototipo I respondeu que teria queimadura dolorosa e um bronzeado leve (seria chamado fototipo II). E ainda, um subgrupo do fototipo IV respondeu que teria queimadura leve e bronzeado moderado (seria chamado fototipo III) (Quadro 2).

Quadro 2 - Classificação de Fitzpatrick.

Tipo I	Muito clara, sempre se queima, nunca se bronzeia.
Tipo II	Clara, sempre se queima, algumas vezes se bronzeia.
Tipo III	Menos clara, algumas vezes se queima e sempre se bronzeia.
Tipo IV	Morena clara, raramente se queima e sempre se bronzeia.
Tipo V	Morena escura, nunca se queima sempre se bronzeia.
Tipo VI	Negra, nunca se queima sempre se bronzeia.

Fonte: FITZPATRICK (1988).

A combinação de fatores como: cabelos ruivos, pele clara e pouca capacidade em se bronzear são fatores de risco conhecidos para o surgimento do melanoma, e estão geneticamente ligados aos polimorfismos do MC1R - gene do receptor de melanocortina, que tem papel fundamental na regulação da melanogênese durante a exposição à RUV (PHO et al. 2006). Já é sabido que a variação no MC1R pode resultar no desenvolvimento de melanoma esporádico, bem como aumentar o risco do aparecimento da doença entre aqueles predispostos à SMF (MARKOVIC et al. 2007).

1.3.3 Fenótipo do nevo atípico

Além dos fatores acima, a presença de nevo atípico também se destaca como um forte fator de risco. Eles são normalmente descritos como: assimétricos, de bordas irregulares, com pigmentação variada e diâmetros maiores de 5 mm.



Figura 2 - Dorso de paciente com SNA apresentando múltiplas lesões, incluindo nevos clinicamente atípicos. Hospital A C Camargo, São Paulo.

Estudos de base populacional estimam que 15% - 20% dos indivíduos saudáveis têm pelo menos um nevo atípico, enquanto que para os pacientes com melanoma esta taxa sobe para 40-50% (BATAILLE et al. 1996). Muitas famílias consideradas de risco apresentam a síndrome do nevo atípico (SNA) caracterizada por: nevos atípicos, aumento do número de nevos comuns e distribuição atípica dos nevos (orelha, couro cabeludo, glúteo, dorso do pé e íris) (PHO et al. 2006).

Muitos estudos relacionando genótipo-fenótipo de famílias portadoras de mutações em p16INK4 e p14ARF já foram feitos. PUIG et al. (1997), estudou 24 membros de uma família com a SMF, quanto aos nevos (quantidade e atipia) e quanto ao DNA. De oito (8) indivíduos com nevo atípico (NA), dois (25%) apresentaram mutação em *CDKN2A* (358delG), mostrando uma incidência de NA nos portadores da mutação similar ao

esperado na população em geral. Concluindo que nesta família o NA e MC parecem heranças de genes distintos, o que sugere que estas duas entidades façam parte de uma desordem complexa a partir da interação de vários genes que interferem no desenvolvimento destas alterações. No entanto, a relação entre mutações neste gene (*CDKN2A*) e o NA não estão bem claras.

No ano de 2005 foi publicado trabalho conduzido por CELEBI et al. para avaliar o perfil mutagênico dos genes associados ao melanoma esporádico e familiar em relação a sua contribuição potencial na SNA. Os genes avaliados a partir de sequenciamento foram: *CDKN2A* exon 1 β , *CDK4*, *PTEN* e *BRAF* exons 11 e 15. Foram recrutados 50 indivíduos com a SNA clássica, ou seja, com a tríade de 100 ou mais nevos, pelo menos um nevo ≥ 8 mm de diâmetro e pelo menos um nevo clinicamente atípico (NAEYAERT e BROCHEZ 2003), independentemente da história oncológica pessoal e familiar. Cada um apresentava, em média, 194 nevos melanocíticos. Nenhuma mutação foi encontrada nos genes estudados, o que sugere a existência de outros genes ainda desconhecidos que possam estar associados à SNA.

Em estudo de DE SNOO et al. (2007) que tinha como objetivo principal estimar o risco para o desenvolvimento de melanoma em pacientes portadores de nevo atípico esporádico, foram avaliados também, através de seqüenciamento direto, os genes *CDKN2A* (exons 1 α , 1 β , 2 e 3) e *CDK4* (exon 2) quanto às mutações germinativas. Para serem recrutados, os indivíduos deveriam ter ao menos 5 nevos atípicos e não fazer parte de

famílias com a SMF. Foi considerado membro de família com a SMF aquele que fosse parente de primeiro grau de uma família com a SMF (família com pelo menos dois parentes de primeiro grau com melanoma invasivo) ou aquele que fosse o próprio portador da doença e tivesse pelo menos um parente de primeiro grau com melanoma. Das 167 amostras sequenciadas, 06 apresentaram mutação em *CDKN2A*, e nenhuma em *CDK4*. E ao final do período de seguimento foi possível obter informação de 136 pacientes sobre a ocorrência de melanoma na família ao longo do estudo. Destes 136, 10 passaram a fazer parte de família com a SMF e entre os 10, 4 eram portadores de mutação em *CDKN2A*. Isto sugere que casos de melanoma esporádico podem se tornar melanoma familiar no futuro e que uma investigação minuciosa sobre a história oncológica dos familiares deva ser rotina durante a avaliação dermatológica dos pacientes em acompanhamento clínico dos nevos atípicos.

1.4 MELANOMA FAMILIAL

O melanoma familiar foi primeiramente descrito por Willian Norris no século XIX, mas foi detalhadamente explorado em 1978 por CLARK et al. Em seus dois primeiros trabalhos publicados, Clark descreveu famílias com melanoma múltiplo, nas quais os portadores de melanoma apresentavam múltiplos nevos melanocíticos. No início ele chamou esta síndrome de síndrome do nevo B-K (devido aos sobrenomes das famílias), depois a denominou de síndrome do nevo displásico. Em seguida outros nomes

foram usados, síndrome do melanoma múltiplo e do nevo atípico familiar e síndrome do nevo atípico (SNA) (BISHOP et al. 2000).

CLARK (1991), então, introduziu o conceito de que com esta predisposição familiar genética, o nevo seria tanto um marcador para avaliar riscos, como precursor do melanoma. Posteriormente a progressão de um nevo benigno passando para nevo displásico e se transformando em um melanoma pôde ser vista como um modelo da gênese do melanoma.

A relação entre a SNA e os genes relacionados ao Melanoma Familiar passou a ser menos conhecida porém melhor estudada quando esta síndrome foi reconhecida como um marcador de risco moderado para o melanoma na população em geral. Ou seja, a SNA não estaria ligada apenas às síndromes hereditárias mais raras (BISHOP et al. 2000).

Como em outras síndromes hereditárias de predisposição ao câncer, o melanoma familiar deve ser caracterizado por alguns fatores, são eles: múltiplos membros afetados (na mesma ramificação), melanomas múltiplos primários (dois ou mais) no mesmo indivíduo ou idade jovem ao diagnóstico. Os membros das famílias acometidas pela síndrome podem apresentar outras neoplasias associadas, como: câncer de pâncreas, tumor de SNC ou melanoma ocular (VASEN et al. 2000; KANNENGIESSER et al. 2003).

Sabe-se que aproximadamente 5 a 10% dos casos de melanoma estão inseridos em um contexto familiar (LEACHMAN et al. 2009; NIELSEN et al. 2010).

Segundo KEFFORD et al. (1999) e MASBACK et al. (2002), em pacientes com história familiar de melanoma o risco de desenvolvimento da

doença aumenta de 30 a 70 vezes quando comparado com a população em geral. Embora o melanoma esporádico (ME) seja muito mais freqüente (mais de 90%) que a SMF, estudá-la é uma oportunidade para investigar as bases genéticas do melanoma. Permite ainda, entender a correlação genótipo-fenótipo destes pacientes possibilitando a detecção precoce da doença e abordagens terapêuticas específicas.

É sabido que tanto os fatores genéticos como os de meio ambiente influenciam no desenvolvimento do melanoma cutâneo. Exposição solar, pigmentação (nevo atípico, quantidade excessiva de nevos, dificuldade de se bronzear, susceptibilidade a queimadura solar, cabelos ruivos e pele clara) e história familiar de melanoma são os fatores de risco mais descritos em estudos epidemiológicos (GROB et al. 1990; GARBE et al. 1994; HOLLY et al. 1995; BLISS et al. 1995).

As características pessoais (fenótipo) e as regiões geográficas se relacionam de maneira bastante diversa em relação à SMF, às mutações de *CDKN2A* e polimorfismos de *MC1R*.

Em estudo com a população Sueca, realizado por NIELSEN et al. (2010), foram avaliados e comparados os fenótipos de pacientes e familiares portadores ou não de mutação fundadora em *CDKN2A* (113insArg/128ins/Ser), com ou sem melanoma visando correlacionar fenótipos específicos com o *status* de mutação. Procuraram ainda encontrar características cutâneas (gradação de efélides e contagem de nevos comuns e atípicos) que permitissem identificar pacientes com maior probabilidade de apresentarem a mutação. Foram avaliados o fenótipo e

genótipo de 93 indivíduos, dos quais 38 apresentaram mutação em *CDKN2A*. Dos 38, 16 (42%) tinham melanoma, e 11 (29%) apresentavam nevo atípico, mas nenhum com critérios para a SNA. Já no grupo sem mutação em *CDKN2A* (55) não encontrou-se melanoma e apenas em 3 (5%) houve nevo atípico. Em relação aos nevos comuns, os portadores da mutação apresentavam um número significativamente maior (média de 31) quando comparados com os não mutados (média de 16), no entanto, 79% dos pacientes com mutação tinham menos de 50 nevos. Em análise multivariada para associação dos fatores fenotípicos e o diagnóstico do melanoma viu-se que o fator mais importante foi a presença de cabelos ruivos e de um ou mais nevos clinicamente atípicos. No entanto, cabelos ruivos, muitas efélides, contagem total de nevos >50 e olhos azuis não foram associados ao *status* positivo da mutação em *CDKN2A*.

Em estudo conduzido no Rio Grande do Sul, por ASHTON-PROLLA et al. (2008), para caracterizar clínica e molecularmente os pacientes de alto risco para o desenvolvimento do melanoma hereditário, trinta pacientes foram recrutados. Destes, 20 possuíam fototipo I, e de 49 melanomas, 45 localizaram-se em áreas expostas à radiação solar, com história de queimadura solar, nenhum com SNA. Dois pacientes tiveram mutações deletérias em *CDKN2A*.

1.4.1 O câncer de pâncreas e o melanoma familiar

Estudos a partir do banco de dados do GenoMEL sugerem que a combinação entre o câncer de pâncreas e o melanoma aumentam a

probabilidade de detecção de mutação em CDKN2A. As análises demonstraram que cerca de 28% das famílias que apresentavam a mutação eram também acometidas por um ou mais casos de câncer de pâncreas (LEACHMAN et al. 2009).

Segundo SANTILLAN et al. (2009), os casos de SMF com mutação germinativa detectada em CDKN2A devem ser investigados quanto ao câncer de pâncreas. No entanto, de acordo com os autores, não há uma padronização quanto aos métodos de rastreamento, e sugerem que este seja iniciado aos 35 anos ou em idade 10 anos mais jovem do que o indivíduo acometido na família. Devem ser realizados: ultrassonografia abdominal e marcador tumoral sérico (CA 19-9) anualmente e Tomografia Computadorizada ou Ressonância Nuclear Magnética a cada 3 anos ou antes se necessário.

1.4.2 Genética do melanoma familiar

Progressos na área da genética do melanoma cutâneo levaram a identificação de dois genes de alta penetrância e um de baixa penetrância, os quais predisõem o desenvolvimento da doença. Dos dois genes de alta penetrância, um está localizado no cromossomo 9p21 - o gene supressor de tumor *CDKN2A* (*cyclin-dependent kinase inhibitor 2A*) o qual codifica duas proteínas: a p16INK que compreende os exons 1 α , 2 e 3, e a p14ARF, produto de um transcrito alternativo que codifica regiões compostas pelos exons 1 β e 2. O segundo, denominado *CDK4* (*cyclin-dependent kinase 4*),

está localizado no cromossomo 12q13. Mutações neste gene são autossômicas dominantes e conferem alto risco à doença (PHO et al. 2006).

O gene de baixa penetrância é denominado *MC1R* (gene do receptor de melanocortina) e está localizado no cromossomo 16q24.3 (PALMER et al. 2000).

Mutações germinativas de *CDKN2A* têm penetrância variável, diferindo quanto à probabilidade de desenvolver melanoma ao longo da vida (PHO et al. 2006).

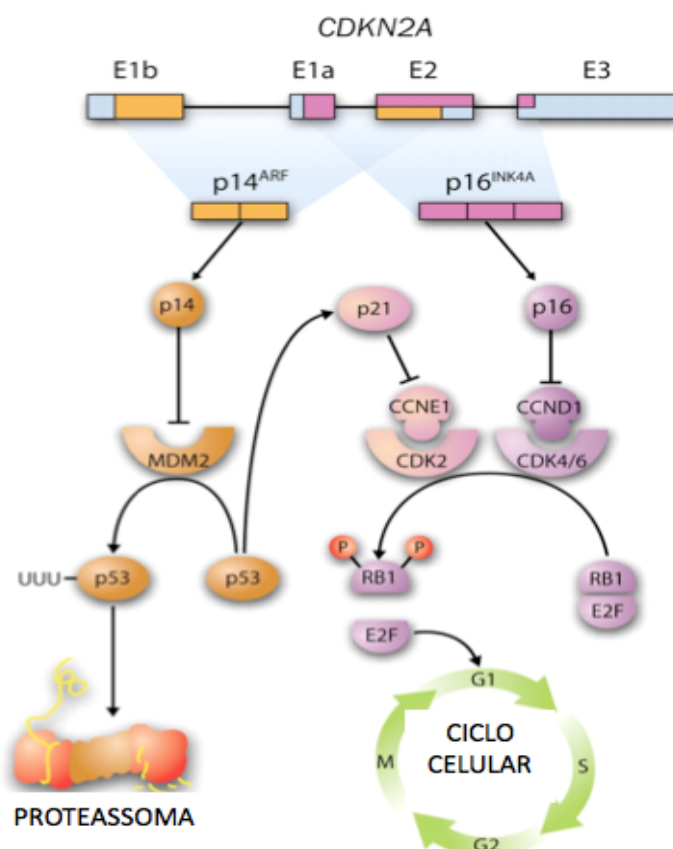
A penetrância significa o risco de desenvolvimento da doença ao longo da vida entre aqueles que são portadores da mutação. No caso do *CDKN2A* mutado ela foi estimada em 30% e 67% aos 50 e 80 anos respectivamente (HANSSON 2008).

Os dois genes de alta penetrância que predispõe ao melanoma (*CDKN2A* - p16INK, p14ARF e *CDK4*) estão envolvidos no controle do ciclo celular (PHO et al. 2006).

A proteína p16INK é fundamental para a fase G1, pois inibe a ciclina D1 no complexo *CDK4*, impedindo a fosforilação da proteína do retinoblastoma (Rb) e a progressão do ciclo celular pela fase G1 e síntese. Portanto, atua como um supressor tumoral e mutações neste gene podem resultar em crescimento celular desregulado e progressão da neoplasia (RULYAK et al. 2003).

A proteína p14ARF regula uma via relacionada ao controle do ciclo celular que induz à parada das fases G1 e G2 através da via do p53. Tanto p16INK quanto p14ARF são, portanto, genes supressores de tumor,

enquanto o *CDK4* se torna um oncogene quando não regulado corretamente pelo *CDKN2A*. Mutações germinativas no sítio de ligação do *CDKN2A* com o *CDK4* levam a produção de uma proteína que não é inibida pelo p16INK, resultando em um defeito molecular na via, similar ao que ocorre na vigência de mutação de *CDKN2A* (PHO et al. 2006).



Fonte: MARKOVIC et al. (2008)

Figura 3 - O *CDKN2A* e o controle do ciclo celular. O *CDKN2A* codifica duas proteínas diferentes que atuam como reguladores negativos do ciclo celular. O p16 inibe a ativação das CDK 4 e 6, impedindo a fosforilação da proteína do retinoblastoma, e, então sequestra o fator de transcrição E2F e inibe a progressão do ciclo celular (fase G1 para fase S). O p14 é responsável pela regulação da atividade de p53, inibindo MDM2 (ubiquitina ligase) que teria como alvo o p53, o qual será, então ubiquitinado e degradado pelo proteassoma. Portanto altos níveis de p14 estabilizam p53 permitindo a inibição do ciclo celular via p21 (inibidor de CDK2).

Na população com diagnóstico clínico da síndrome do melanoma familiar, a prevalência de mutação no *CDKN2A* é de 20-40% e de apenas 1-2% no *CDK4* (PHO et al. 2006; NIELSEN et al. 2010).

Trabalho de GOLDSTEIN et al. (2007), conduzido pelos grupos do GenoMEL, avaliou: número de pacientes acometidos por família, idade ao diagnóstico, ocorrência de câncer de pâncreas e Melanoma Múltiplo Primário como fatores de risco independentes para a detecção de mutação germinativa em *CDKN2A*. Foram incluídas e rastreadas para a mutação em *CDKN2A* famílias com ao menos 3 casos de melanoma, na América do Norte, Austrália e Europa. Encontrou-se mutação em 20%, 45% e 57% das famílias Australianas, Norte Americanas e Européias, respectivamente. Como esperado, a frequência de detecção de mutação foi maior conforme aumentou o número de casos de melanoma ou de indivíduos com MPM por família. De 43 famílias com um caso de câncer de pâncreas, 31 apresentaram mutação (72%) e quando este número aumentou para 2 ou mais casos, observou-se 81% de detecção de mutação. Este dado foi significativo para a América do Norte e Europa, uma vez que na Austrália 33% das famílias com casos de câncer de pâncreas tinham a mutação. Todos os grupos apresentaram diminuição na detecção de mutação de acordo com o aumento da média de idade ao diagnóstico. Para as famílias australianas observou-se que para maior frequência de detecção de mutação era necessário uma média de idade ao diagnóstico ainda mais baixa (<40 anos) do que para as famílias dos outros grupos (<50 anos). Para todos os grupos (total, América do Norte, Austrália e Europa) os quatro

fatores analisados conjuntamente - média de idade ao diagnóstico ≤ 50 anos, ≥ 1 paciente com MMP e ≥ 1 paciente com câncer de pâncreas na família, foram considerados importantes preditores da detecção de mutação. No entanto, para as famílias australianas, na análise univariada dos fatores, observou-se como fatores preditivos para a detecção de mutação: ≥ 6 pacientes com melanoma/ família, ≥ 2 pacientes com MMP e média de idade ao diagnóstico de ≤ 40 anos.

O gene *MC1R* ativa a via de sinalização adenosina monofosfato intracelular cíclica e regula a produção de eumelanina e feomelanina. Este gene é um receptor transmembrana expresso nos melanócitos, células endoteliais e queratinócitos de humanos. A melanogênese é regulada a partir do *MC1R* que estimula o hormônio estimulante de melanócitos durante a exposição à radiação ultravioleta. Um dos mecanismos moleculares que contribui para o aumento do risco no desenvolvimento do melanoma é o mau funcionamento deste gene, que reduziria a capacidade de reparo de DNA dos melanócitos nos danos causados pela radiação e também a perda de função deste gene associada à mutações inibe a produção de eumelanina, responsável pela pigmentação escura, favorecendo o fenótipo ruivo (PALMER et al. 2000; PHO et al. 2006).

Em relação ao *MC1R*, que apresenta mais polimorfismos e é mais comum na população, fica difícil avaliar a prevalência, já que isto depende da população e da habilidade de distinguir as variantes reais que causam a doença dos polimorfismos. No entanto, estima-se que 60-80% das variantes de *MC1R* estão associadas com fenótipo ruivo. Mais de 65 variantes de

MC1R foram identificadas, o que confere um aumento no risco de desenvolvimento do melanoma. Se estas variantes estiverem associadas à mutação de p16/p14 a penetrância aumenta de 50% para 84% e a média de idade do aparecimento do melanoma cai de 58,1 para 37,8 anos (PHO et al. 2006).

1.4.3 Manejo dos pacientes e famílias de alto risco para SMF

É de extrema importância uma anamnese criteriosa para a identificação de famílias portadoras da SMF. Ou seja, questões relacionadas a história pessoal e familiar de melanoma e outros tipos de câncer, idade ao diagnóstico e exames comprobatórios dos cânceres, já que é comum os pacientes confundirem outros tipos de câncer de pele com o melanoma.

Segundo PSATY et al. (2010) membros de famílias de alto risco (especialmente parentes de primeiro grau dos portadores de melanoma) devem ser examinados por dermatologista a cada 3-12 meses, da adolescência até que os nevos estejam estáveis, e a partir daí, anualmente. Recomenda-se, inclusive o seguimento daqueles que façam parte de famílias sem mutação identificada em *CDKN2A* (portanto, com resultado do teste considerado inconclusivo) e com melanoma múltiplo primário, já presumindo que possa haver outro gene de alta penetrância envolvido no processo desta doença. Foto e dermatoscopia digital tem contribuição significativa neste processo, tanto para a indicação mais precisa de exérese, quanto para o diagnóstico precoce de um melanoma. Além disso, os pacientes devem ser orientados quanto ao auto-exame da pele, onde partes

do corpo como o couro cabeludo e dorso devem ser examinados por outra pessoa. Os portadores de melanoma devem ser avaliados num intervalo menor que doze meses nos primeiros cinco anos e, depois, anualmente (BISHOP et al. 2007; HANSSON 2008; PSATY et al. 2010).

Recomenda-se, inclusive o seguimento daqueles que façam parte de famílias com resultado negativo para mutação em *CDKN2A* e com melanoma múltiplo primário, já presumindo que possa haver outro gene de alta penetrância envolvido no processo desta doença (BISHOP et al. 2007; HANSSON 2008).

Confecciona-se um heredograma da família, o qual deverá ser revisado anualmente e conter o sitio de origem do câncer, idade de diagnóstico e a presença de múltiplos tumores.

Os pais devem dar o exemplo para os seus filhos através dos bons hábitos relacionados a proteção solar e enfatizar a importância do uso de protetor solar, o qual deve ter ao menos fator 15 de proteção e ser reaplicado a cada 2 horas. Lembrando, no entanto, que estes produtos não devem ser usados com o intuito de aumentar o tempo de exposição solar e que a exposição solar exagerada e a queimadura devem ser evitadas. Nesta população de alto risco estas medidas têm como objetivo a exérese de lesões clinicamente suspeitas de malignidade ou que estejam apresentando mudanças preocupantes (GREENE 1999).

1.4.4 O Projeto GenoMEL

O GenoMEL é um consórcio internacional que estuda o melanoma familiar, e reúne os principais grupos de pesquisa nesta área, envolvendo países da América do Norte, Europa e Austrália. Estuda a distribuição do melanoma familiar, a penetrância de mutações germinativas no gene *CDKN2A*, mutações em *CDK4*, polimorfismos de *MC1R* e a influência do meio ambiente nestas famílias, bem como a influência da etnia nesta síndrome.

Sua missão é desenvolver, apoiar e incentivar colaborações entre os membros dos diversos grupos, a fim de identificar genes suscetíveis ao melanoma, avaliar a interação gene/meio-ambiente, e ainda pesquisar o risco do MC e outros cânceres relacionados a estes genes (www.genomel.org).

Recentemente, o GenoMEL interessou-se em avaliar a distribuição e frequência de mutações do melanoma familiar na América Latina, tendo desenvolvido um projeto exclusivo para esta localização geográfica. O projeto foi inicialmente implantado no México, Colômbia, Chile e Uruguai. Há pouco tempo, foram incorporados no projeto, Argentina e Brasil (2007).

O projeto envolve questionários pessoais e ambientais, avaliação clínica, determinação de heredograma, avaliação molecular e de anatomia patológica.

Os objetivos gerais são:

- 1 Definição do perfil de mutações germinativas nos genes associados ao melanoma familiar em pacientes tratados no Hospital A. C. Camargo.
- 2 Contribuir com o banco de dados clínicos e moleculares do GenoMEL para o estabelecimento da penetrância dos genes estudados no estudo do melanoma familiar na América Latina.

Este estudo recrutou, no Hospital A. C. Camargo, 159 pacientes, entre probandos e seus familiares, no período de 2008 a 2010.

1.4.5 Aconselhamento Genético no Melanoma Familiar

Existe um consenso de que membros de famílias de alto risco para o desenvolvimento do melanoma sejam acompanhados em programas preventivos e educacionais, com consultas de rotina (questionários de investigação clínica, exame físico) e aconselhamento genético. No entanto, a indicação do teste genético para o melanoma familiar ainda é controverso.

Segundo o trabalho publicado por KEFFORD et al. em 1999, os autores acreditavam que a expressão de genes susceptíveis ao melanoma não estivesse bem estabelecida, e que portanto, o teste de DNA não devesse ser usado como um guia para a prática clínica. E relataram, ainda, existir uma procura pelo teste por parte das famílias que apresentavam as características da SMF, provavelmente, devido a ansiedade dos pacientes e suas expectativas em relação ao teste e as respostas que ele supostamente poderia fornecer; e, ao mesmo tempo, um receio por parte dos médicos sobre o papel do teste genético.

Então, sugeriam que os membros de famílias com alto risco para o desenvolvimento do MC fossem alocados em programas de vigilância e prevenção, independentemente de seu *status* de DNA (KEFFORD et al. 1999).

E ainda, neste trabalho, acreditavam que um aconselhamento pré-teste devesse incluir algumas informações, como:

- A existência de algumas incertezas relacionadas à penetrância e à correlação entre genótipo/fenótipo e as mutações em *CDKN2A*;
- A falta de eficácia comprovada para estratégias de prevenção e vigilância baseadas no resultado do teste;
- A necessidade de acompanhamento de rotina mesmo nos casos onde o teste se mostrar negativo;
- E ainda, deve-se ponderar os riscos e os benefícios dos resultados, positivos ou negativos (KEFFORD et al. 1999) (Quadro 3).

Quadro 3 - Riscos e benefícios potenciais associados ao teste genético.

Resultado	Benefícios	Riscos
Positivo	Motivação para a prevenção e vigilância	Discriminação social
	Limiar mais baixo para a indicação de biópsia nos casos de lesões suspeitas	Rompimento de relações familiares
	Deteção precoce de novos melanomas primários	Aumento no número de biópsias
Negativo *	Redução da ansiedade	Sentimento de culpa
		Rompimento de relações familiares
		“Falsa segurança”- abandono do programa de acompanhamento

Fonte: Adaptado de KEFFORD et al. (1999).

*mutação descartada nos casos de famílias sabidamente positivas para a mutação.

Embora a referência supracitada seja de 13 anos atrás, o teste genético hoje é ainda bastante discutido e um tanto quanto controverso em relação aos seus benefícios reais na prática clínica.

Segundo consenso da Sociedade Americana de Oncologia Clínica (ASCO) de 2003, para que um teste genético seja oferecido fora de um contexto de pesquisa, alguns critérios devem ser seguidos, são eles:

1. O indivíduo ou seu familiar deve apresentar características que sugiram uma condição genética/ hereditária de predisposição ao câncer;
2. O teste deve ser interpretado adequadamente (método, dados disponíveis para avaliar a patogenicidade de mutação, resultados avaliando risco pessoal e familiar);
3. O resultado do teste deve interferir no manejo do paciente e/ou familiar e conduta clínica. Influenciando na orientação e educação do paciente/ família, a fim de mudar comportamentos de risco e possibilitar e estimular a aderência em programas de prevenção e detecção precoce daqueles que carreguem a mutação.

Tabela 1 - Características associadas a pelo menos 10% de probabilidade de ser portador da mutação em *CDKN2A*

CARACTERÍSTICAS	PROBABILIDADE DE MUTAÇÃO
Paciente com melanoma e com dois ou mais parentes afetados pela doença	20 – 40%
Paciente com melanoma e pelo menos um familiar com melanoma múltiplo primário (MMP)	45%
Paciente com melanoma e história familiar de melanoma e câncer de pâncreas.	45%
Indivíduos com MMP independentemente da história na família	10 – 15%
Parentes de primeiro grau de indivíduo portador da mutação em <i>CDKN2A</i>	~ 50%

Fonte: Adaptado de HANSEN et al. (2004).

A partir da análise de alguns dados do Consórcio Internacional de estudo da Genética do Melanoma, HANSEN et al. (2004), concluíram que o teste genético para avaliar a mutação em *CDKN2A* preenche os critérios sugeridos pela ASCO. No entanto, este deve ter indicação bastante criteriosa e ser conduzido em centros capacitados científica e estruturalmente no que se refere à metodologia, aconselhamento genético pré e pós teste e acompanhamento do paciente e seus familiares.

HANSSON (2008), também compartilha a opinião de que o teste deva ser conduzido em centros especializados com profissionais qualificados para o aconselhamento e que deva ser considerado apenas mediante a probabilidade de um resultado positivo ser encontrado. E no momento, o autor pondera que seja mais difícil determinar os casos que justifiquem o teste do que o contrário (Tabela 1).

Então **não** se justificaria o teste em:

- ✓ pacientes com um único melanoma sem história familiar da doença (mesmo que este tenha ocorrido em idade jovem);
- ✓ pacientes com MMP sem história na família, devido a baixa frequência de mutação.

E que talvez as famílias **com indicação** fossem aquelas com:

- ✓ 3 ou mais afetados por melanoma (particularmente com idade jovem ao diagnóstico, e num padrão de herança vertical);
- ✓ indivíduos portadores de MMP e câncer de pâncreas.

Embora idade jovem ao diagnóstico seja um critério para o acompanhamento de um indivíduo no contexto de síndrome hereditária, este fator sozinho não determina alta probabilidade de detecção de mutação em *CDKN2A* (menos de 1%) e portanto estes pacientes não teriam indicação para o teste (LEACHMAN et al. 2009).

Segundo LEACHMAN et al. (2009), os indivíduos ou famílias de localizações onde haja incidência moderada ou alta de melanoma que devem ser considerados para o teste genético são:

- ✓ Indivíduos com 3 ou mais melanomas;
- ✓ Famílias com ao menos 1 melanoma invasivo e 2 ou mais casos de melanoma e/ou câncer de pâncreas entre os parentes de primeiro ou segundo grau (no mesmo lado da família).

O aconselhamento genético pode ser considerado um processo educacional contínuo que visa informar os pacientes e seus familiares sobre os riscos quanto à susceptibilidade para o desenvolvimento da doença

benefícios e limitações do teste genético. Além disso deve-se levar em conta a finalidade e a viabilidade do teste genético, bem como a interpretação correta dos possíveis resultados e às implicações psicossociais (HANSEN et al. 2004).

Para o GenoMEL, realizar o teste genético fora do contexto de pesquisa é prematuro. Isto porque muitas famílias que apresentam heredograma sugestivo de alta susceptibilidade a mutação não tem o teste positivo, ou seja, é provável que outros genes estejam envolvidos e um resultado negativo daria ao paciente uma “falsa segurança”, podendo dificultar seu acompanhamento; além disso, o risco real do paciente que carrega a mutação ainda não está bem definido. E ainda, um resultado *CDKN2A*-positivo não mudaria o manejo das famílias com a SMF (NEWTON BISHOP e GRUIS 2007).

2 JUSTIFICATIVA

Há poucos estudos de melanoma familiar na população brasileira.

O melanoma cutâneo é resultante de uma interação complexa entre fatores genéticos, constitucionais e ambientais e sua incidência vem aumentando ao longo dos anos. O risco de desenvolvimento do melanoma se difere de acordo com as regiões geográficas, o que justifica estudos de populações específicas.

Desta forma, ressalta-se a importância de entender a síndrome do melanoma familiar (SMF) e relacioná-la aos diferentes fenótipos encontrados. Esta investigação permitirá identificar e caracterizar a população de maior risco para o desenvolvimento do melanoma, dentro de um contexto familiar, proporcionando um seguimento mais eficiente tanto para os portadores da doença quanto para seus familiares saudáveis.

3 OBJETIVOS

1. Caracterizar o fenótipo dos pacientes portadores de melanoma em famílias com a SMF, na população estudada.
2. Comparar o fenótipo de portadores de MC com diagnóstico clínico da SMF, com e sem mutação no gene *CDKN2A*, conforme resultados prévios do projeto Genomel (Grupo A).
3. Comparar o fenótipo dos portadores de MC nas famílias com a SMF (grupo A) com o fenótipo dos portadores de melanoma esporádico (ME – grupo B), e dos indivíduos saudáveis (grupo C).

4 PACIENTES E MÉTODOS

Este estudo faz parte do projeto GenoMEL, (projeto de pesquisa nº 934/07, registro CONEP: 14098). Realizado no Hospital A. C. Camargo no período de 2008 a 2010.

O estudo molecular para pesquisa de mutação no gene *CDKN2A* foi realizado conforme padronização do projeto supracitado, no Laboratório de Genômica e Biologia Molecular do Hospital A. C. Camargo, orientado pela Prof^a. Dra Dirce Maria Carraro e Co-Orientado pelo Prof. Dr. Gilles Landman, no período de Março de 2008 à Outubro de 2010, e seus resultados apresentados na tese de doutorado de Alexandre Leon Ribeiro de Ávila.

Todos os pacientes passaram por consulta médica no Departamento de Oncogenética do Hospital A. C. Camargo, sob supervisão da Dra Maria Isabel Achatz.

Coleta de sangue

1. De cada paciente e familiar de primeiro grau foi coletado de 10-20 cc. de sangue periférico e usado EDTA como anticoagulante.

Extração de DNA

1. O DNA genômico foi isolado a partir de leucócitos de sangue periférico mediante métodos de rotina.

Avaliação clínica dos pacientes

No presente estudo serão avaliados três grupos:

- **Grupo A:** pacientes portadores de melanoma com o diagnóstico clínico da SMF;
- **Grupo B:** pacientes portadores de melanoma esporádico (ME), subtipos extensivo superficial, nodular e lentigo maligno melanoma, e que, portanto, não tenham história de MC na família, que estejam em acompanhamento no Hospital A C Camargo – Núcleo de Câncer de Pele e Dermatologia;
- **Grupo C:** pacientes portadores de outras doenças não oncológicas e/ou indivíduos saudáveis, que não tenham história familiar de melanoma, câncer de pâncreas e tumor de Sistema Nervoso Central.

Quando identificados, em consulta de rotina, no ambulatório de Oncologia Cutânea, os pacientes portadores da SMF (grupo A) e de ME (grupo B) eram encaminhados para conversa com a pesquisadora. Assim como os indivíduos do grupo C.

Neste momento explicava-se os objetivos e a justificativa do estudo bem como apresentava-se o consentimento livre e esclarecido, convidando o indivíduo a participar e esclarecendo dúvidas quando necessário.

A partir daí realizava-se o exame físico com a utilização dos instrumentos de coleta de dados.

Alguns participantes foram avaliados em dia previamente agendado. Sendo que todos eles foram examinados no Núcleo de Câncer de Pele e

Dermatologia do Hospital A.C. Camargo.

Foram utilizados dois instrumentos de coleta de dados:

- 1) Avaliação de fenotipagem (olhos, cabelos, nevos e efélides, tipo de pele) – Anexo 1.
- 2) Avaliação geral (queimadura solar, sensibilidade ao sol, SNA, história pessoal e familiar oncológica) – Anexo 2.

E ainda, foram descritas as características sócio-demográficas (gênero, idade e idade ao diagnóstico) e clínicas (numero de melanomas, melanoma múltiplo ou familiar e familiar)

Para cada paciente as características fenotípicas analisadas foram (Anexo 1):

- Olho: cor dos olhos e pigmentação na íris
- Cabelos: cor dos cabelos
- Quantidade de nevos maiores que 2 mm
- Quantidade de nevos maiores que 5 mm
- Quantidade de nevos com características de atipia
- Tipo de pele: segundo classificação de Fitzpatrick
- Graduação de efélides: segundo graduação de Vancouver
- Presença da Síndrome do Nevo Atípico, segundo critérios de classificação de Newton (NEWTON et al. 1993; SLADE et al. 1995; BISHOP et al. 2000; SILVA et al. 2011) (Anexo 3).

Para ser considerado atípico, as cinco características do ABCDE devem ser consideradas:

Duas são necessárias:

- A- ASSIMETRIA (nevo não-ovóide, não-circular)
- B- BORDA (sem bordas distintas ou bordas difusas ou "borradas")
- C- COR (nevo colorido; múltiplas cores ou apenas duas como marrom e vermelho)

Tanto D quanto E são necessárias

- D- DIÂMETRO (deve ter 5 mm ou mais em todos os diâmetros)
- E- ELEVAÇÃO (se for elevado, deve ter um componente plano)

A população foi caracterizada segundo os dados clínicos e foi avaliado o fenótipo na população em estudo.

Estes dados foram, ainda, relacionados com os achados referentes às mutações estudadas no projeto GenoMEL.

Critérios de inclusão:

Grupo A:

- Pacientes com melanoma múltiplo (mais de 1 melanoma primário)
- Famílias com melanoma familiar:
 - Dois familiares de *primeiro grau ou segundo grau com melanoma cutâneo
 - Famílias com um ou mais casos de melanoma ocular e um ou mais casos de melanoma cutâneo em familiares de *primeiro ou segundo grau

- Famílias com um ou mais casos de melanoma e um caso de câncer de pâncreas ou de sistema nervoso central em parente de *primeiro ou segundo grau

***Nota:** Os familiares de 1º grau são: pai, mãe, irmãos e filhos; e os de 2º grau, avós, sobrinhos e tios.

- Pacientes com laudo anatomopatológico e/ou preparados histológicos confirmatórios de melanoma. Foram também aceitos como documentos comprobatórios, o relatório médico e/ou o atestado de óbito.

Grupo B:

- Pacientes portadores de melanoma esporádico, ou seja, sem história familiar da doença, de câncer de pâncreas ou de tumor de sistema nervoso central e com apenas um melanoma no momento da assinatura do consentimento. E que apresentem histologia de melanoma extensivo superficial, nodular ou lentigo maligno melanoma.
- Pacientes com laudo anatomopatológico e/ou preparados histológicos confirmatórios de melanoma.

Grupo C:

- Pacientes em acompanhamento no Núcleo de Câncer de Pele e Dermatologia do Hospital A C Camargo que tratem de outras doenças não oncológicas ou pessoas saudáveis.

Todos os pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 4).

4.1 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As características do fenótipo foram descritas por meio das principais medidas resumo ou respectivas distribuições de frequências.

O teste qui-quadrado foi utilizado para avaliar a associação entre as características do fenótipo e os grupos em estudo além da associação entre a presença/ ausência de mutação no gene *CDKN2A* com as principais características do fenótipo. Quando necessário foi utilizada a correção de YATES (1934).

O nível de significância adotado foi o de 5% e o software R versão 2.13.1 (www.r-project.org.br) foi utilizado nas análises.

5 RESULTADOS

Foram analisados os dados de 59 probandos (grupo A), 54 pacientes portadores de ME (grupo B) e 74 indivíduos saudáveis (grupo C), avaliados no Núcleo de Câncer de Pele e Dermatologia do Hospital A. C. Camargo.

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO FENÓTIPO: GRUPO A

Descreveremos a seguir as características fenotípicas dos pacientes do grupo A. Para este grupo o *status* de mutação germinativa no gene *CDKN2A* foi analisado previamente através de seqüenciamento direto.

Dos 59 pacientes, 33 são do sexo feminino e 26, masculino; 37 (65%) deles tinham parente afetado por melanoma e 9 (15%) apresentaram mutação germinativa no gene *CDKN2A* (Tabela 2).

Tabela 2 - Características clínicas dos pacientes do Grupo A (n=59).

Características		n	%
mutação	não	50	85
	sim	9	15
gênero	feminino	33	56
	masculino	26	44
múltiplo/familiar	múltiplo	20	35
	familiar	39	65

Quanto ao fenótipo de pigmentação dos pacientes com a SMF, 61% tinham alta densidade de efélides em tronco, 83% fototipo I ou II, 42% mais

de 50 nevos, olhos e cabelos escuros estavam presentes em 53% dos pacientes e 66% tinham história de queimadura solar (Tabela 3).

Tabela 3 - Características fenotípicas de pigmentação dos indivíduos do grupo A (n=59).

Características		n	%
efélides no antebraço	0	5	8
	20	25	42
	40	18	31
	60	6	10
	80	4	7
	100	1	2
efélides no tronco	0	2	3
	20	13	22
	40	8	14
	60	10	17
	80	25	42
	100	1	2
fototipo	I	33	56
	II	16	27
	III	8	14
	IV	2	3
escala nevos comuns	0	1	2
	< 50	33	56
	50 a100	12	20
	> 100	13	22
pigmentação na íris	não	39	66
	sim	20	34
cor dos olhos	azul	11	19
	outros	17	29
	castanho/ preto	31	53
cor dos cabelos	ruivo	1	2
	loiro	27	46
	castanho	31	53
queimadura	não	20	34
	sim	39	66

Não houve associação estatisticamente significativa entre a mutação e: fototipo ($p=0,32$), SNA ($0,26$), cor dos olhos e dos cabelos, escala de nevos ($p=0,33$), nevo na íris ($0,73$) e queimadura solar ($p=0,06$) – de 39 pacientes com história de queimadura solar, 36 não eram portadores de mutação e 3 tiveram resultado positivo (Tabela 4).

Tabela 4 - Variáveis clínicas e fenotípicas relacionadas com a presença ou ausência da mutação em *CDKN2A* do Grupo A ($n=59$).

Variável		Mutação					
		Não		Sim		Total	P
		n	%	n	%		
Gênero	feminino	26	79	7	21	33	0,42
	masculino	24	92	2	8	26	
múltiplo/familiar	familiar	31	79	8	21	39	0,09
	múltiplo	19	95	1	5	20	
Fototipo	I e II	40	82	9	15	49	0,32
	III e IV	10	100	0	0	10	
SNA	não	29	81	7	19	36	0,26
	sim	21	91	2	9	23	
cor dos olhos	azul	9	82	2	18	11	0,88
	outros	15	88	2	12	17	
	castanho/preto	26	84	5	16	31	
cor dos cabelos ¹	ruivo	0	0	1	100	1	0,35
	loiro	25	93	2	7	27	
	castanho	25	81	6	19	31	
Escala de nevo	0 - 50	27	79	7	21	34	0,33
	≥50	23	92	2	8	25	
Pigmentação na íris	não	34	87	5	13	39	0,73
	sim	16	80	4	20	20	
queimadura	não	14	70	6	30	20	0,06
	sim	36	92	3	8	39	

² o paciente ruivo foi excluído nessa análise

Dos 59 indivíduos incluídos para o grupo A, 9 (15%) apresentaram mutação em *CDKN2A*, mais frequente nas mulheres (7) e entre os sujeitos com história familiar da doença (8). Dos 9 pacientes com mutação, 8 tinham fototipo I, e 2 apresentavam a SNA e 7 tem menos de 50 nevus. Cabelos ruivos, loiros e castanhos apareceram em 1, 2 e 6 pacientes respectivamente; enquanto olhos azuis, outros (verdes, cinzas) e castanhos ou pretos, em 2, 2, 5 indivíduos respectivamente (Quadro 4).

Quadro 4 - Fenótipo dos pacientes com mutação detectada em *CDKN2A* (Grupo A).

id	múltiplo/ familiar	escala de nevus	SNA	cor dos olhos	cor dos cabelos	fototipo
1	F	< 50	não	castanho/preto	castanho	I
2	F	< 50	não	azul	loiro	II
3	F	< 50	não	outros	castanho	I
4	F	< 50	não	outros	castanho	I
5	M	50 - 100	sim	castanho/preto	castanho	I
6	F	< 50	não	castanho/preto	castanho	I
7	F	> 100	sim	azul	loiro	I
8	F	< 50	não	castanho/preto	ruivo	I
9	F	< 50	não	castanho/preto	castanho	I

De acordo com os dados da Tabela 5, dos 50 casos do grupo A sem a mutação, 31 apresentaram história familiar da doença e 19, apenas MMP. Dos 31, 28 (90%) tinham apenas 1 parente afetado e 25 (81%) desenvolveu somente 1 melanoma. Já dos 19 casos de MMP, observamos 2, 3 e 4 melanomas em 12, 5 e 2 pacientes respectivamente.

Tabela 5 - Número de melanomas e de familiares afetados dos 50 pacientes do grupo A que tiveram resultado **negativo** para mutação em *CDKN2A*.

categorias		história familiar (n=31)		MMP sem HF (n=19)	
		n	%	n	%
Número de melanomas	1	25	81	0	
	2	5	16	12	
	3	1	3	5	
	4		0	2	
Número de afetados	1	28	90	0	
	2	3	10	0	

MMP=Melanoma Múltiplo Primário

HF=história familiar

Em relação ao número de melanomas primários, notamos que 1 melanoma foi mais frequente entre os pacientes com até 50 nevus, sem o fenótipo da SNA e com história de queimadura solar na infância ou adolescência. Não houve associação estatisticamente significativa em relação ao número de melanomas e a escala de nevus ($p=0,85$), SNA ($p=0,78$) ou queimadura solar ($p=0,42$) (Tabela 6).

Tabela 6 - Número de melanomas dos pacientes do grupo A (SMF) relacionado à presença de nevus comuns, SNA e história de queimadura solar.

		1	%	2	%	3	%	4	%
Escala de Nevos	0 - 50	18	53	10	29	4	12	2	6
	>50	10	40	10	40	3	12	2	8
SNA	não	17	47	11	31	6	17	2	5
	sim	11	48	9	39	1	4	2	9
Queimadura	não	9	45	6	30	2	10	3	15
	sim	19	48	14	36	5	13	1	3

SMF= Síndrome do Melanoma Familiar

SNA= Síndrome do Nevo Atípico

5.2 COMPARAÇÃO DO FENÓTIPO: GRUPO A, GRUPO B E GRUPO C

Como evidenciado na Tabela 7, pacientes do sexo feminino foram maioria nos três grupos avaliados, sendo 56% nos grupos com a SMF e ME e 55% no grupo controle. Já a média de idade ao diagnóstico foi ligeiramente menor nos pacientes com a SMF, 46 anos, variando de 16 a 76. A média de idade dos indivíduos dos grupos A, B e C foi de 53, 54 e 41 anos, respectivamente.

Tabela 7 - Distribuição dos pacientes dos três grupos de estudo (SMF, ME, controle) quanto ao gênero e média de idade ao diagnóstico.

Característica	categoria	SMF (n=59)		ME (n=54)		Controle (n=74)	
		n	%	n	%	n	%
gênero	feminino	33	56	30	56	41	55
	masculino	26	44	24	44	33	45
Idade ao diagnóstico	média	46		51			
	mínimo- máximo	16-76		25-82		NA	

NA= não se aplica

As características que mostraram-se estatisticamente significantes nos grupos estudados foram as efélides no antebraço (0,02) e no tronco (<0,001), quantidade de nevus comuns (<0,001), fototipo I e II (<0,001), prevalentes nos indivíduos do grupo A e queimadura solar (0,05) prevalente no grupo B. A pigmentação na íris foi prevalente no grupo A (34%), seguido do C (18%) e B (11%) (Tabela 8).

Tabela 8 - Comparação das características fenotípicas dos indivíduos dos grupos A, B e C.

Característica	Categoria	Grupo A (SMF)		Grupo B (ME)		Grupo C (saudáveis)		p
		n	%	n	%	n	%	
cor dos olhos	Azul	11	19	06	11	13	18	0,236
	Outros	17	29	13	24	11	15	
	castanho/preto	31	53	35	65	50	68	
¹ cor dos cabelos	loiro	27	47	20	38	21	29	0,109
	castanho/preto	31	53	32	62	52	71	
efélides no antebraço	0-40	48	81	47	87	71	96	0,026
	60-100	11	19	07	13	03	04	
efélides no tronco	0-40	23	39	26	48	57	77	<0,001
	60-100	36	61	28	52	17	23	
Escala de nevos comuns	0 - 50	34	58	37	69	66	89	<0,001
	≥50	25	42	17	31	08	11	
Pigmentação na íris	Não	39	66	48	89	61	82	0,008
	Sim	20	34	06	11	13	18	
Fototipo	I/II	49	83	39	72	31	42	<0,001
	III/IV	10	17	15	28	43	58	
Queimadura	Não	20	34	09	17	26	35	0,050
	Sim	39	66	45	83	48	65	

SMF= Síndrome do Melanoma Familiar

ME= Melanoma Esporádico

¹ valor de p calculado excluindo os ruivos

Quando foram analisados os três grupos quanto à presença de nevo atípico e à SNA, obtivemos resultados estaticamente significativos, conforme mostra a Tabela 9. Sendo que apresentaram nevo atípico 37%, 28% e 14%

dos pacientes dos grupos SMF, ME e controle, respectivamente. E a SNA foi observada em 39%, 4% e 1% dos indivíduos com a SMF, ME e saudáveis, respectivamente.

Tabela 9 - Distribuição dos pacientes dos três grupos (SMF, ME, saudáveis) quanto aos nevos atípicos.

Característica	Categoria	SMF		ME		Saudáveis		p
		n	%	n	%	n	%	
Nevo Atípico	Não	37	63	39	72	64	86	0,006
	Sim	22	37	15	28	10	14	
SNA	Não	36	61	52	96	73	99	<0,001
	Sim	23	39	2	4	1	1	

SNA= síndrome do nevo atípico

Comparando os grupos A e B nota-se semelhança quanto a cor dos olhos, dos cabelos, presença de efélides, escala de nevos comuns, fototipo e presença de NA. No entanto, a presença de pigmentação na íris, assim como a SNA, foram prevalentes no grupo com a SMF. Não relataram história de queimadura solar 34% do grupo com a SMF e 17% do grupo com ME (Tabela 10).

Tabela 10 - Comparação dos fenótipos dos pacientes do **grupo A** e **grupo B**.

Característica	Categoria	Grupo A (n=59)		Grupo B (n=54)		p
		n	%	n	%	
cor dos olhos	azul	11	19	6	11	0,53
	outros	17	29	13	24	
	castanho/preto	31	53	35	65	
¹ cor dos cabelos	Loiro	27	46	20	37	0,39
	Castanho/ Preto	31	52	32	59	
Efélides em antebraço	0 - 40	48	81	47	87	0,34
	60 - 100	11	19	7	13	
Efélides em tronco	0 - 40	23	39	26	48	0,6
	60 - 100	36	61	28	52	
Escala de nevos comuns	0 - 50	34	58	37	69	0,12
	≥ 50	25	42	17	31	
Pigmentação na íris	não	39	66	48	89	0,003
	sim	20	34	6	11	
Fototipo	I e II	49	83	39	72	0,11
	III e IV	10	17	15	28	
Queimadura solar	não	20	34	9	17	0,03
	sim	39	66	45	83	
SNA		36		52		< 0,001
	não		61		96	
	sim	23	39	2	4	
Nevo atípico	não	37	63	39	72	0,281
	sim	22	37	15	28	

SMF= Síndrome do Melanoma Familiar

ME= Melanoma Esporádico

SNA= Síndrome do Nevo Atípico

¹ valor de p calculado excluindo os ruivos

Tabela 11 - Comparação dos fenótipos dos pacientes do **grupo A** e **grupo C**.

Característica	categoria	Grupo A (n=59)		Grupo C (n=74)		Total	P
		n	%	n	%		
cor dos olhos	azul	11	19	13	18	24	0,118
	outros	17	29	11	15	28	
	castanho/preto	31	53	50	68	81	
¹ cor dos cabelos	loiro	27	46	21	29	48	0,035
	castanho/preto	31	52	52	70	83	
efélides no antebraço	0-40	48	81	71	96	119	0,006
	60-100	11	19	3	4	14	
efélides no tronco	0-40	23	39	57	77	80	<0,001
	60-100	36	61	17	23	53	
Escala de nevos comuns	0 - 50	34	58	66	89	100	<0,001
	≥50	25	42	8	11	33	
Pigmentação na íris	não	39	66	61	82	100	0,030
	sim	20	34	13	18	33	
Fototipo	I/II	49	83	31	42	80	<0,001
	III/IV	10	17	43	58	53	
Queimadura	não	20	34	26	35	46	0,881
	sim	39	66	48	65	87	
SNA	não	36	61	73	99	109	<0,001
	sim	23	39	1	1	24	
Nevo Atípico	não	37	63	64	86	101	<0,001
	sim	22	37	10	14	32	

SMF= Síndrome do Melanoma Familiar

SNA= Síndrome do Nevo Atípico

¹ valor de p calculado excluindo os ruivos

6 DISCUSSÃO

Inúmeros estudos relacionados à SMF já foram conduzidos ao redor do mundo, principalmente em países da Europa e na Austrália. No entanto, a maioria deles discute a questão das mutações germinativas no gene *CDKN2A*, polimorfismos de *MC1R* e fatores de risco para o desenvolvimento do melanoma. Além disso, poucos abordam a caracterização do fenótipo dos pacientes.

Como descrito anteriormente, sabe-se que a SMF ocorre a partir de uma somatória de fatores, genéticos, ambientais e de comportamento; sendo, portanto, bastante pertinente estudo de populações específicas.

Este trabalho teve como objetivo principal caracterizar e comparar o fenótipo de pacientes com a Síndrome do Melanoma Familiar, Melanoma Esporádico e indivíduos saudáveis e sem história familiar de Melanoma Cutâneo, câncer de pâncreas ou tumor de Sistema Nervoso Central.

6.1 MUTAÇÃO EM *CDKN2A* E FENÓTIPO: GRUPO A

No presente estudo, onde caracterizamos o fenótipo de 59 indivíduos do grupo A (SMF), foi observado que a maior parte deles apresentava alta densidade de efélides em tronco (36), fototipo I e II (49) e história de queimadura solar (34); porém, olhos e cabelos escuros, o que pode representar uma peculiaridade da nossa população. Daqueles com fototipos

I e II, 9 (18%) apresentaram mutação em *CDKN2A*. Segundo PEDACE et al. (2011), em trabalho com 100 indivíduos para avaliar as características clínicas que pudessem prever a identificação de mutação em *CDKN2A*, observou-se 18 indivíduos mutados; sendo 12 apresentando fototipos I e II.

Ainda em relação ao grupo A (SMF), 65% apresentaram história da doença na família e 35% apenas MMP; dos 9 que tiveram mutação em *CDKN2A*, oito (8) tinham história familiar da doença, sendo que dos 8, cinco (5) com dois parentes afetados por melanomas. Estes dados são condizentes com a literatura que ressalta maior probabilidade de detecção de mutação conforme o número de melanomas na família (HANSEN et al. 2004; LEACHMAN et al. 2009).

Deve-se ressaltar que casos com história familiar importante e sem mutação sugerem a existência de mutações germinativas em outros genes que possam estar relacionados a maior risco para o desenvolvimento do melanoma.

Assim como discutido na literatura (CELEBI et al. 2005; NIELSEN et al. 2010), o fenótipo da SNA parece não ser significativamente expresso entre aqueles com mutação detectada em *CDKN2A*. No nosso grupo com a SMF, 23 indivíduos expressaram o fenótipo da SNA, sendo que 2 (9%) apresentaram a mutação.

A maior parte dos sujeitos com o *CDKN2A* mutado apresentou olhos e cabelos escuros, sendo 55% e 66% respectivamente e fototipo I ou II (100%). Dos 9 mutados, 4 tinham 2 ou mais nevos atípicos sendo 2 caracterizados como SNA. Observou-se menos de 50 nevos comuns em

78% dos pacientes mutados. NIELSEN et al. (2010), observaram menos de 50 nevos em 79% dos seus pacientes com mutação detectada, assim como no nosso estudo. PEDACE et al. (2011), evidenciou < 40 nevos em 8/18 pacientes com mutação; e em 46/82 indivíduos sem mutação.

Não obteve-se associações estatisticamente significativas quando comparados os fenótipos dos indivíduos com mutação detectada e sem mutação; fato que talvez possa ser explicado pelo tamanho da amostra, se comparado com grandes estudos da literatura mundial (GOLDSTEIN et al. 2008; DEMENNAIS et al. 2010).

Em relação aos 9 pacientes com a mutação em *CDKN2A*, a média de idade ao diagnóstico foi de 43 anos. Segundo BISHOP et al. (2002) que analisou os dados de oito grupos do Consórcio de Genética do Melanoma, pacientes com a mutação tiveram média de idade ao diagnóstico de 35 anos.

6.2 FENÓTIPO: GRUPO A, GRUPO B, GRUPO C

Grande parte dos trabalhos sobre melanoma e fenótipo aborda a questão do risco relativo para o desenvolvimento da doença, sendo minoria aqueles que comparam grupos diferentes de estudo.

Nas análises comparativas entre os três grupos viu-se que a alta densidade de efélides tanto em antebraço quanto no tronco, foi prevalente nos indivíduos com a SMF, seguidos daqueles com ME e por último pelos pacientes saudáveis. BAKOS et al. (2002) estudaram fatores de risco para o

desenvolvimento do MC no sul do Brasil e observaram a presença de efélides em 40,8% dos indivíduos com melanoma e em 21,3% dos controles sem câncer de pele ou qualquer outra doença de pele relacionada ao sol; no entanto, não foram estudados pacientes com a SMF. PSATY et al. (2010) relata que indivíduos com alta densidade de efélides, especialmente no tronco, têm o dobro do risco de desenvolvimento do melanoma.

Em relação aos nevos comuns, nota-se que um número maior de indivíduos do grupo A apresentou ≥ 50 nevos (42%) se compararmos com aqueles dos grupos B (31%) e C (11%).

Quanto ao fototipo, a maior parte dos pacientes dos grupos A e B apresentaram I ou II, já no grupo controle houve predomínio dos fototipos III e IV.

Tema bastante discutido em relação a sua influência no desenvolvimento do melanoma (ELWOOD 1992; VEIEROD et al. 2003; BERWICK et al. 2005; MARKOVIC et al. 2007), a exposição solar e a história de queimadura na infância e/ou adolescência são variáveis difíceis de serem categorizadas e mensuradas de maneira padronizada, podendo gerar um viés nos trabalhos clínicos, de revisão e meta-análise. Além disso, a qualidade das informações pode ser prejudicada já que os pacientes precisam se lembrar de algo que ocorreu no passado. Neste estudo a história positiva de queimadura solar foi prevalente nos três grupos, sendo mais frequente no grupo B (83%), seguido pelo A (66%) e C (65%). BAKOS et al. (2002), observaram frequência de 75,5% de queimadura solar nos casos de melanoma esporádico e 57,9% nos controles.

Acreditamos que a queimadura solar com frequência semelhante nos grupos A e C e prevalente no grupo do ME possa sugerir que este fator de risco esteja presente como causa e não apenas como um marcador de risco.

Estudo epidemiológico e genético, conduzido por CHAUDRU et al. (2004), para avaliar a interação do meio ambiente (sol), características de pigmentação, reação a exposição solar e fenótipo, analisou familiares de portadores de MC (independentemente da história familiar), familiares de portadores de MC em famílias de alto risco (1 portador de MC + 1 parente acometido, pelo menos) e os próprios pacientes com melanoma, onde evidenciou-se a importância de três fatores de risco – contagem total de nevos, exposição solar e queimadura solar - que em associação à mutação em *CDKN2A* levaria a um aumento do risco para o desenvolvimento do melanoma. Para esta análise, nas famílias de alto risco, foram excluídos os nevos displásicos.

Obeve-se significância estatística também na análise univariada quanto à presença de nevos atípicos nos três grupos, sendo estes prevalentes nos indivíduos com a SMF; assim como em relação ao fenótipo da SNA, que pode ser observado principalmente entre aqueles do grupo A.

A presença de NA não foi diferente na comparação entre os grupos A e B; porém, o NA foi prevalente nestes dois grupos quando comparados ao grupo C, confirmando a presença de NA como um marcador de risco para o MC.

Já a SNA pode não estar relacionada às mutações de *CDKN2A*, no entanto foi mais frequente no grupo A, mostrando a importância deste

fenótipo na determinação do risco de desenvolvimento do melanoma, talvez pela interação entre outros genes, polimorfismos ou mutações.

Neste estudo as mulheres foram maioria nos três grupos- SMF, ME e pacientes saudáveis. Além disso, evidenciou-se menor média de idade ao diagnóstico no grupo A quando comparado com o grupo B, sendo 46 e 51 anos respectivamente; como observado no trabalho de CHIARUGI et al. (2010) - 47 anos nos casos de melanoma familiar e 55 anos para aqueles com ME - que comparou o melanoma familiar e o esporádico quanto às características clínicas e histopatológicas na população italiana.

Em estudo de BATAILLE et al. (1996) para avaliar o número, o tipo e a distribuição dos nevos em pacientes com MC observou associação entre a pigmentação na íris e o MC.

No nosso estudo a pigmentação na íris foi mais frequente no grupo com a SMF; no entanto, seriam necessárias outras análises para a determinação da associação entre esta característica e o desenvolvimento do MC.

6.3 FENÓTIPO: GRUPO A E GRUPO B

Os pacientes dos grupos A e B apresentaram fenótipos semelhantes em relação a cor dos olhos, cor dos cabelos, gradação de efélides, número de nevos comuns e fototipo o que reforça a importância da anamnese e do questionamento quanto a história familiar oncológica dos pacientes portadores de ME em seguimento dermatológico. A presença NA foi

observada em 37% dos pacientes do grupo A e em 28% do grupo B. Greene (1998) relata que o NA pode estar presente em aproximadamente 30% dos pacientes com ME, número muito próximo do encontrado neste trabalho; e, afirma também que deve estar presente na maior parte dos pacientes com a SMF.

Na comparação entre estes dois grupos obteve-se significância estatística quanto à pigmentação na íris, SNA e queimadura solar. Sendo que dos 29 indivíduos que não relataram história de queimadura solar 20 (69%) eram do grupo com a SMF e 9 (31%) do grupo com ME. CHIARUGI et al. (2011) compararam pacientes com Melanoma Familiar e Esporádico quanto à cor dos olhos, fototipo (Fitzpatrick), contagem de nevos comuns e atípicos e número de queimaduras solares ao longo da vida; e assim como no nosso estudo, observaram predomínio de nevos comuns e atípicos nos indivíduos com melanoma familiar. Porém seus dados mostraram que dos 388 pacientes sem história de queimadura, 4% eram do grupo de melanoma familiar e 96% do esporádico.

6.4 FENÓTIPO: GRUPO A E GRUPO C

As características semelhantes entre estes dois grupos foram a cor dos olhos e a história de queimadura solar.

A pigmentação na íris, a presença da SNA, cabelos loiros, maior quantidade de nevos comuns e atípicos, alta densidade de efélides e fototipo I ou II foram prevalentes no grupo A. Portanto, os fatores relacionados à

pigmentação são os que talvez possam influenciar na avaliação dermatológica dos indivíduos sem melanoma.

7 CONCLUSÃO

- 1) O fenótipo dos pacientes com a SMF foi caracterizado. A maior parte dos pacientes (53%) apresentava olhos e cabelos escuros, baixa densidade de efélides em antebraço, alta densidade de efélides em tronco, menos de 50 nevos comuns, fototipos I ou II e história de queimadura solar na infância e/ou adolescência.
- 2) Comparamos os fenótipos dos pacientes portadores da SMF com e sem mutação germinativa no gene *CDKN2A*. Onde nenhuma das variáveis apresentou associação estatisticamente significativa. Portanto, com esta amostra (grupo A) não foi possível definir um fenótipo prevalente entre os indivíduos com a mutação.
- 3) Comparamos os fenótipos dos três grupos estudados, SMF, ME e saudáveis. Houve diferenças importantes entre as características fenotípicas nos três grupos. Com um predomínio no grupo A de número elevado de nevos comuns, NA e a SNA, fototipo I e II, a alta densidade de efélides.
- 4) História de queimadura solar foi prevalente nos indivíduos com ME.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- 1) É provável que existam outros genes relacionados a maior predisposição para o desenvolvimento do melanoma. Observamos que fica difícil suspeitar da presença de mutação apenas pelas características de fenótipo. Por isso acreditamos que, assim como os próprios portadores de MC com a SMF, seus parentes de primeiro grau (podendo se estender para os de segundo grau) devam ser examinados anualmente por equipe especializada e seus nevos mapeados e monitorados.
- 2) Encontramos diferenças fenotípicas entre os três grupos, as quais nos mostram quem são os pacientes de maior risco. A caracterização do fenótipo e a utilização de questionários que abordem a história oncológica pessoal e familiar é fundamental, independentemente da realização e do resultado da pesquisa de mutação germinativa em *CDKN2A*.
- 3) Pacientes com a SMF e com ME apresentaram fenótipos semelhantes, diferindo de maneira significativa apenas em relação à presença de pigmentação na íris e do fenótipo de SNA. Características que talvez mereçam mais atenção no momento do exame físico dos pacientes em acompanhamento clínico por MC.

- 4) Entre os indivíduos do grupo A e C houve ainda mais diferenças relacionados ao fenótipo, o que ressalta a importância da identificação e valorização dos fatores de risco no momento da avaliação do paciente.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Argenziano G, Zalaudek I, Hofmann-Wellenhof R, et al. Total body skin examination for skin câncer screening in patients with focused symptoms. **J Am Acad Dermatol** 2012; 66:212-9.

Ashton-Prolla P, Bakos L, Junqueira G Jr, Giugliani R, Azevedo SJ, Hogg D. Clinical and molecular characterization of patients at risk for hereditary melanoma in southern Brazil. **J Invest Dermatol** 2008; 128:421-5.

Autier P, Doré JF, Négrier S, et al. Sunscreen use and duration of sun exposure: a double-blind, randomized trial. **J Natl Cancer Inst** 1999; 91:1304-9.

Ávila ALR. **Caracterização do gene CDKN2A em pacientes com critérios clínicos para o diagnóstico da síndrome do melanoma familiar**. São Paulo; 2010. [Tese de Doutorado-Fundação Antônio Prudente].

Bakos L, Wagner M, Bakos RM, et al. Sunburn, sunscreens, and phenotypes: some risk factors for cutaneous melanoma in Southern Brazil. **Int J Dermatol** 2002; 41:557-62.

Bataille V, Bishop JA, Sasieni P, et al. Risk of cutaneous melanoma in relation to the numbers, types and sites of naevi: a case-control study. **Br J Cancer** 1996; 73:1605-11.

Berwick M, Armstrong BK, Ben-Porat L. Sun exposure and mortality from melanoma. **J Natl Cancer Inst** 2005; 97:195-9.

Berwick M, Erdei E, Hay J. Melanoma epidemiology and public health. **Dermatol Clin** 2009; 27:205-14.

Bishop DT, Demenais F, Goldstein AM, et al. Geographical variation in the penetrance of CDKN2A mutations for melanoma. **J Natl Cancer Inst** 2002; 94:894-903.

Bishop JA, Wachsmuth RC, Harland M, et al. Genotype/phenotype and penetrance studies in melanoma families with germline CDKN2A mutations. **J Invest Dermatol** 2000; 114:28-33.

Bishop JN, Harland M, Randerson-Moor J, Bishop DT. Management of familial melanoma. **Lancet Oncol** 2007; 8:46-54.

Bliss JM, Ford D, Swerdlow AJ, et al. Risk of cutaneous melanoma associated with pigmentation characteristics and freckling: systematic overview of 10 case-control studies. The International Melanoma Analysis Group (IMAGE). **Int J Cancer** 1995; 62:367-76.

Celebi JT, Ward KM, Wanner M, Polsky D, Kopf AW. Evaluation of germline CDKN2A, ARF, CDK4, PTEN, and BRAF alterations in atypical mole syndrome. **Clin Exp Dermatol** 2005; 30:68-70.

Chaudru V, Chompret A, Bressac-de Paillerets B, Spatz A, Avril MF, Demenais F. Influence of genes, nevi, and sun sensitivity on melanoma risk in a family sample unselected by family history and in melanoma-prone families. **J Natl Cancer Inst** 2004; 96:785-95.

Chiarugi A, Nardini P, Crocetti E, et al. Familial and sporadic melanoma: different clinical and histopathological features in the Italian population - a multicentre epidemiological study - by GIPMe (Italian Multidisciplinary Group on Melanoma). **J Eur Acad Dermatol Venereol** 2012; 26:194-9.

Clark WH Jr, Reimer RR, Greene M, Ainsworth AM, Mastrangelo MJ. Origin of familial malignant melanomas from heritable melanocytic lesions. 'The B-K mole syndrome'. **Arch Dermatol** 1978; 114:732-8.

Clark WH Jr. Human cutaneous malignant melanoma as a model for cancer. **Cancer Metastasis Rev** 1991; 10:83-8.

de Snoo FA, Kroon MW, Bergman W, et al. From sporadic atypical nevi to familial melanoma: risk analysis for melanoma in sporadic atypical nevus patients. **J Am Acad Dermatol** 2007; 56:748-52.

Demenaïs F, Mohamdi H, Chaudru V, et al. Association of MC1R variants and host phenotypes with melanoma risk in CDKN2A mutation carriers: a GenoMEL study. **J Natl Cancer Inst** 2010; 102:1568-83.

DiFronzo LA, Wanek LA, Morton DL. Earlier diagnosis of second primary melanoma confirms the benefits of patient education and routine postoperative follow-up. **Cancer** 2001; 91:1520-4.

Dupuy A, Shamsaldin A, Quiniou E, et al. Risk of melanoma following adulthood cancer: a case-control study. **Eur J Cancer** 2005; 41:2904-10.

Elwood JM. Melanoma and sun exposure: contrasts between intermittent and chronic exposure. **World J Surg** 1992; 16:157-65.

Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. **Arch Dermatol** 1988; 124:869-71.

Freedberg KA, Geller AC, Miller DR, Lew RA, Koh HK. Screening for malignant melanoma: a cost-effectiveness analysis. **J Am Acad Dermatol** 1999; 41(Pt 1):738-45.

Gallagher RP, Rivers JK, Lee TK, Bajdik CD, McLean DI, Coldman AJ. Broad-spectrum sunscreen use and the development of new nevi in white children: A randomized controlled trial. **JAMA** 2000; 283:2955-60.

Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: I. Common and atypical naevi. **Eur J Cancer** 2005a; 41:28-44.

Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. **Eur J Cancer** 2005b; 41:45-60.

Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: III. Family history, actinic damage and phenotypic factors. **Eur J Cancer** 2005c; 41:2040-59.

Garbe C, Büttner P, Weiss J, et al. Associated factors in the prevalence of more than 50 common melanocytic nevi, atypical melanocytic nevi, and actinic lentigines: multicenter case-control study of the Central Malignant Melanoma Registry of the German Dermatological Society. **J Invest Dermatol** 1994; 102:700-5.

Geller AC, Sober AJ, Zhang Z, et al. Strategies for improving melanoma education and screening for men age ≥ 50 years: findings from the American Academy of Dermatological National Skin Cancer Screening Program. **Cancer** 2002; 95:1554-61.

Geller AC, Emmons K, Brooks DR, et al. Skin cancer prevention and detection practices among siblings of patients with melanoma. **J Am Acad Dermatol** 2003; 49:631-8.

Goldstein AM, Chan M, Harland M, et al. Features associated with germline CDKN2A mutations: a GenoMEL study of melanoma-prone families from three continents. **J Med Genet** 2007; 44:99-106.

Goldstein AM, Stacey SN, Olafsson JH, et al. CDKN2A mutations and melanoma risk in the Icelandic population. **J Med Genet** 2008; 45:284-9.

Greene MH. The genetics of hereditary melanoma and nevi, 1998 update. **Cancer** 1999; 86(11 Suppl):2464-77.

Grob JJ, Gouvernet J, Aymar D, et al. Count of benign melanocytic nevi as a major indicator of risk for nonfamilial nodular and superficial spreading melanoma. **Cancer** 1990; 66:387-95.

Grob JJ, Guglielmina C, Gouvernet J, Zarour H, NoË C, Bonerandi JJ. Study of sunbathing habits in children and adolescents: application to the prevention of melanoma. **Dermatology** 1993; 186:94-8.

Hansen CB, Wadge LM, Lowstuter K, Boucher K, Leachman SA. Clinical germline genetic testing for melanoma. **Lancet Oncol** 2004; 5:314-9.

Hansson J. Familial melanoma. **Surg Clin North Am** 2008; 88:897-916,viii.

Hemminki K, Zhang H, Czene K. Incidence trends and familial risks in invasive and in situ cutaneous melanoma by sun-exposed body sites. **Int J Cancer** 2003; 104:764-71.

Holly EA, Aston DA, Cress RD, Ahn DK, Kristiansen JJ. Cutaneous melanoma in women. II. Phenotypic characteristics and other host-related factors. **Am J Epidemiol** 1995; 141:934-42.

Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2006. **CA Cancer J Clin** 2006; 56:106-30.

Kannengiesser C, Avril MF, Spatz A, Laud K, Lenoir GM, Bressac-de-Paillerets B. CDKN2A as a uveal and cutaneous melanoma susceptibility gene. **Genes Chromosomes Cancer** 2003; 38:265-8.

Kefford RF, Newton Bishop JA, Bergman W, Tucker MA. Counseling and DNA testing for individuals perceived to be genetically predisposed to melanoma - a consensus statement of the Melanoma Genetics Consortium. **J Clin Oncol** 1999; 17:3245-51.

Kraemer KH, Lee MM, Andrews AD, Lambert WC. The role of sunlight and DNA repair in melanoma and nonmelanoma skin cancer. The xeroderma pigmentosum paradigm. **Arch Dermatol** 1994; 130:1018-21.

Leachman SA, Carucci J, Kohlmann W, et al. Selection criteria for genetic assessment of patients with familial melanoma. **J Am Acad Dermatol** 2009; 61:677.e1-14.

Markovic SN, Erickson LA, Rao RD, et al. Malignant melanoma in the 21st century, part 1: epidemiology, risk factors, screening, prevention, and diagnosis. **Mayo Clin Proc** 2007; 82:364-80.

Masback A, Olsson H, Westerdahl J, et al. Clinical and histopathological features of malignant melanoma in germline CDKN2A mutation families. **Melanoma Res** 2002; 12:549-57.

Naeyaert JM, Brochez L. Clinical practice: dysplastic nevi. **N Engl J Med** 2003; 349:2233-40.

Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. **Estimativa/2012 Incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA; 2011.

Newton JA, Bataille V, Griffiths K, et al. How common is the atypical mole syndrome phenotype in apparently sporadic melanoma? **J Am Acad Dermatol** 1993; 29:989-96.

Newton Bishop JA, Gruis NA. Genetics: what advice for patients who present with a family history of melanoma? **Semin Oncol** 2007; 34:452-9.

Nielsen K, Harbst K, Masback A, et al. Swedish CDKN2A mutation carriers do not present the atypical mole syndrome phenotype. **Melanoma Res** 2010; 20:266-72.

Palmer JS, Duffy DL, Box NF, et al. Melanocortin-1 receptor polymorphisms and risk of melanoma: is the association explained solely by pigmentation phenotype? **Am J Hum Genet** 2000; 66:176-86.

Psaty EL, Scope A, Halpern AC, Marghoob AA. Defining the patient at high risk for melanoma. **Int J Dermatol** 2010; 49:362-76.

Pedace L, De Simone P, Castori M, et al. Clinical features predicting identification of CDKN2A mutations in Italian patients with familial cutaneous melanoma. **Cancer Epidemiol** 2011; 35:116-20.

Pho L, Grossman D, Leachman SA. Melanoma genetics: a review of genetic factors and clinical phenotypes in familial melanoma. **Curr Opin Oncol** 2006; 18:173-9.

Puig S, Ruiz A, Castel T, et al. Inherited susceptibility to several cancers but absence of linkage between dysplastic nevus syndrome and CDKN2A in a melanoma family with a mutation in the CDKN2A (P16INK4A) gene. **Hum Genet** 1997; 101:359-64.

Roberts WE. Skin type classification systems old and new. **Dermatol Clin** 2009; 27:529-33, viii.

Rulyak SJ, Brentnall TA, Lynch HT, Austin MA. Characterization of the neoplastic phenotype in the familial atypical multiple-mole melanoma pancreatic carcinoma syndrome. **Cancer** 2003; 98:798-804.

Santillan AA, Cherpelis BS, Glass LF, Sondak VK. Management of familial melanoma and nonmelanoma skin cancer syndromes. **Surg Oncol Clin N Am** 2009; 18:73-98, viii.

[SEER] Surveillance, Epidemiology, and End Results. **Cancer statistics**. Available from: <URL:<http://seer.cancer.gov/statistics/>>. [2011 nov 07].

Silva JH, Sá BC, Avila AL, Landman G, Duprat Neto JP. Atypical mole syndrome and dysplastic nevi: identification of populations at risk for developing melanoma - review article. **Clinics (São Paulo)** 2011; 66:493-9.

Siskind V, Aitken J, Green A, Martin N. Sun exposure and interaction with family history in risk of melanoma, Queensland, Australia. **Int J Cancer** 2002; 97:90-5.

Slade J, Marghoob AA, Salopek TG, Rigel DS, Kopf AW, Bart RS. Atypical mole syndrome: risk factor for cutaneous malignant melanoma and implications for management. **J Am Acad Dermatol** 1995; 32:479-94.

Vasen HF, Gruis NA, Frants RR, van Der Velden PA, Hille ET, Bergman W. Risk of developing pancreatic cancer in families with familial atypical multiple mole melanoma associated with a specific 19 deletion of p16 (p16-Leiden). **Int J Cancer** 2000; 87:809-11.

Veierod MB, Weiderpass E, Thörn M, et al. A prospective study of pigmentation, sun exposure, and risk of cutaneous malignant melanoma in women. **J Natl Cancer Inst** 2003; 95:1530-8.

Yates F. Contingency tables involving small numbers and the X^2 test. **J R Stat Soc** 1934; 1:217-35.

Anexo 1 - Avaliação de fenotipagem (olhos, cabelos, nevos e efélides)

I1 Cor dos olhos

Azul.....	1
Outros.....	2
Castanho.....	3

2 Cor dos cabelos

Ruivo.....	1
Loiro.....	2
Castanho.....	3
Preto.....	4

3. Graduação de efélides nos antebraços use a graduação de Vancouver

--	--

4. Graduação de efélides no dorso superior use a graduação de Vancouver

--	--

5. Você já removeu algum nevo no passado?

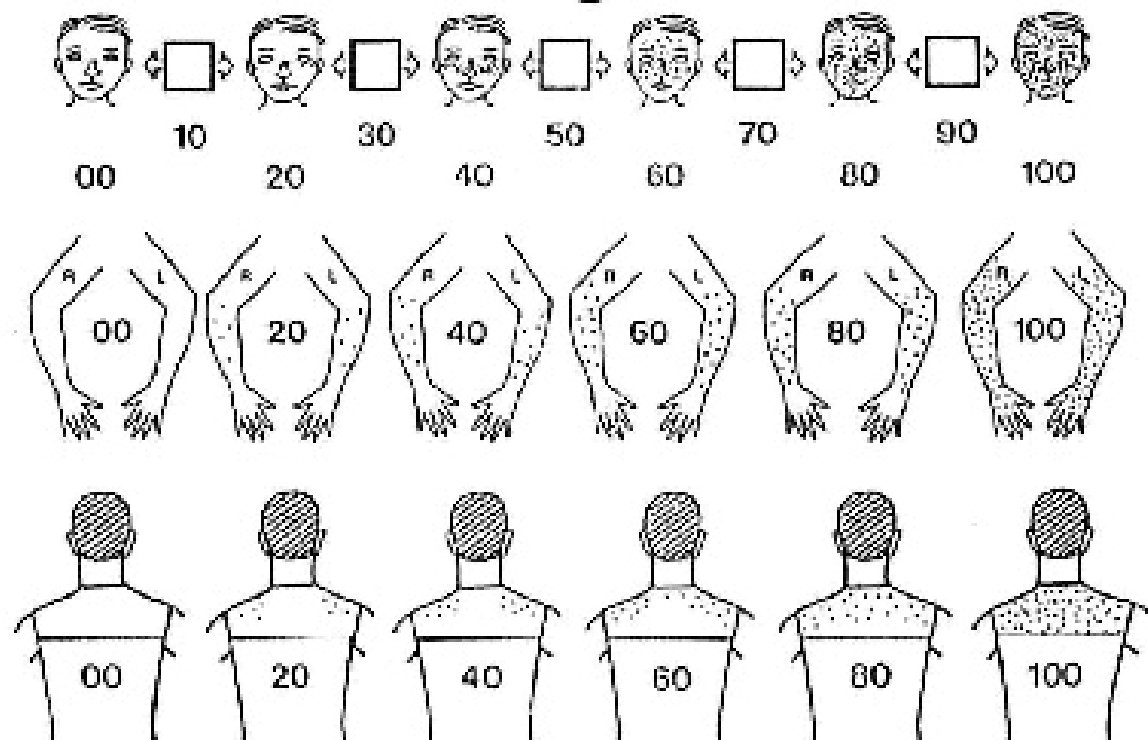
Sim	1
Não	2

6. Se sim

Quantas?

--	--

Freckling Chart



CONTAGEM DE NEVOS

1. Registre a contagem de nevos na tabela a seguir. Por favor, não utilize óleo ou lente para ajudar na identificação dos nevos.
2. Primeiro, conte todos os nevos ≥ 2 mm no seu menor diâmetro, usando a régua apropriada. Para ser considerado ≥ 2 mm, o nevo deve preencher completamente o círculo de 2mm.
3. Em seguida, conte todos os nevos ≥ 5 mm em seu menor diâmetro usando a régua. Para ser considerado ≥ 5 mm, o nevo deve preencher completamente o círculo de 5mm.
4. Finalmente, conte todos os nevos atípicos. Para ser considerado atípico, as quatro características do ABCDE abaixo devem ser consideradas:

Duas são necessárias:

- | | | |
|-----------|-------------------|---|
| a. | Assimetria | Nevo não ovóide, não redondo
Nevo pode ser quadrado, triangular, ou com forma irregular. |
| b. | Bordas | Nevos com limites indefinidos difuso ou borrado. |
| c. | Cor | Nevo multi colorido.
Nevo pode ter muitas cores ou somente duas, como castanho e vermelho. |

Tanto D quanto E são necessárias:

- | | | |
|-----------|-----------------|---|
| d. | Diâmetro | O nevo deve ter 5mm ou mais em todos os diâmetros. |
| e. | Elevação | O nevo deve ter um componente plano. |
-
5. **Nevos no couro cabeludo devem ser contados. A presença ou ausência de efélides/lesões pigmentares da íris devem ser anotadas.**
 6. **Quando estiver contando os nevos, tente memorizar os mais incomuns.**
 7. **Para os indivíduos com partes do corpo inacessíveis para contagem de nevos, como aqueles com membros engessados ou amputados, favor anotar a razão de não ter feito a contagem nesta parte do corpo no Módulo II do questionário na sessão “comentário e informações adicionais”.**
 8. **Se a contagem de nevos for 888 ou 999, inserir o número incorreto 887 ou 998. Isto é para garantir que a contagem não seja excluída da análise, porque 888 (em branco) e 999 (desconhecido) removem o registro antes que a análise seja feita.**

CONTAGEM DE NEVOS

	Parte do corpo	Número de nevus ≥ 2 mm	Número de nevus ≥ 5 mm	Número de nevus atípicos
7	Face			
8	Pescoço			
9	Braço esquerdo			
10	Antebraço esquerdo			
11	Mão esquerda			
12	Braço direito			
13	Antebraço direito			
14	Mão direita			
15	Tronco anterior			
16	Tronco posterior			
17	Glúteo			
18	Coxa esquerda			
19	Perna esquerda			
20	Pé esquerdo			
21	Coxa direita			
22	Perna direita			
23	Pé direito			
24	Couro cabeludo			
25	Íris <i>Anotar se presente</i>	Sim Não		

Anexo 2 - Avaliação do geral

Nome: _____ RGH: _____

ID: _____ Data de Nasc: _____ Grupo Controle: _____

Avaliado por: _____ Data: _____

1) Classificação de Fitzpatrick ()

Classificação de Fitzpatrick

Tipo I	Pele muito clara, sempre queima, nunca bronzeia
Tipo II	Pele clara, sempre queima e algumas vezes bronzeia
Tipo III	Pele menos clara, algumas vezes queima, sempre bronzeia
Tipo IV	Pele morena clara, raramente queima, sempre bronzeia
Tipo V	Pele morena escura, nunca queima, sempre bronzeia
Tipo VI	Pele negra, nunca queima, sempre bronzeia

2) Qual cor melhor descreve sua pele antes de se bronzear pela primeira vez? ()

Muito clara.....1

Clara.....2

Morena clara.....3

Morena escura.....4

Negra.....5

3) O que você acha que aconteceria se sua pele fosse exposta ao sol pela primeira vez, no verão por uma hora sem proteção solar? ()

Queimadura severa com bolhas.....1

Queimadura dolorosa seguida de descamação.....2

Queimadura discreta seguida de algum bronzeado..3

Bronzear sem queimadura.....4

4) Síndrome do nevo atípico (segundo classificação de Newton)? ()

Não.....0

Sim.....1

5) Antecedente de queimadura solar na infância ou adolescência? ()

Não.....0

Sim.....1

6) História oncológica pessoal

7) História oncológica familiar

Anexo 3 - Classificação de Newton para a Síndrome do Nevo Atípico
(NEWTON et al. 1993; SLADE et al. 1995; SILVA et al. 2011)

O indivíduo deve apresentar aos menos 3 das seguintes características:

- 1) dois ou mais nevos clinicamente atípicos;
- 2) mais de 100 nevos em pacientes com idade entre 20 e 50 anos;
- 3) mais de 50 nevos em pacientes com idade inferior a 20 anos ou superior a 50 anos;
- 4) mais de um nevo no glúteo ou dorso do pé;
- 5) nevo em couro cabeludo anterior;
- 6) uma ou mais lesões pigmentadas na íris

Deve-se atribuir 1 ponto a cada característica presente no indivíduo, aqueles que somarem 3 ou mais serão caracterizados com o fenótipo da Síndrome do Nevo Atípico (SNA)

Anexo 4 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

“Caracterização fenotípica de famílias brasileiras portadoras da
síndrome do melanoma familiar”

Termo de consentimento livre e esclarecido

Nome do pesquisador responsável:

País:

Nome do paciente:

Informação importante

Você está sendo convidado a participar do estudo intitulado: “Caracterização fenotípica de famílias brasileiras portadoras da síndrome do melanoma familiar”. A sua participação é voluntária e a recusa em participar do estudo em nada prejudicará o tratamento oferecido nesta instituição.

Também é importante saber que, mesmo após haver aceito você poderá deixar de participar a qualquer momento que desejar, sem qualquer prejuízo.

Justificativa para a pesquisa

O melanoma cutâneo é resultante de uma interação complexa entre fatores genéticos, constitucionais e ambientais e sua incidência vem aumentando ao longo dos anos.

Há poucos estudos de melanoma familiar na população brasileira, onde existe grande miscigenação e não foi possível ainda caracterizar e definir um perfil específico, se é que há, quanto ao fenótipo desta população.

E ainda, muitos trabalhos mostram as diferenças relacionadas entre as regiões geográficas e o risco do desenvolvimento do melanoma, o que justifica estudos de populações específicas.

Isto ressalta a importância de entender a síndrome do melanoma familiar (SMF) e relacioná-la com os fenótipos encontrados nos três grupos. O que, além de, possibilitar identificação e caracterização da população de maior risco e um seguimento mais eficiente, proporcionará a difusão do conhecimento, beneficiando outras populações.

Como será feita a pesquisa

Serão recrutados 150 pacientes, distribuídos em três grupos diferentes.

 **Grupo A:** pacientes portadores de Melanoma Cutâneo inseridos em famílias com a Síndrome do Melanoma Familiar (SMF)- múltiplos membros afetados (na mesma ramificação), melanomas múltiplos primários (dois ou mais) no mesmo indivíduo ou idade jovem ao diagnóstico.

 **Grupo B:** pacientes portadores de Melanoma Esporádico – indivíduos com apenas um melanoma e sem história familiar da doença.

 **Grupo C:** pacientes sem melanoma, sem história familiar da doença e sem doença oncológica.

Este estudo visa avaliar, caracterizar e comparar o fenótipo de indivíduos portadores da Síndrome do Melanoma Familiar (SMF), de Melanoma Esporádico (ME) e de pacientes com outros diagnósticos (exceto melanoma e outras doenças oncológicas), tratados e acompanhados no Ambulatório de Oncologia Cutânea do Hospital A C Camargo.

Riscos

De modo geral não há riscos à sua saúde neste projeto.

Confidencialidade

Todas as informações provenientes deste estudo serão confidenciais e identificadas por código apenas conhecido pelos pesquisadores envolvidos no estudo. Preserva-se assim o sigilo médico de informações sobre sua saúde.

Se estiver de acordo em participar deste estudo, e com cada um dos itens mencionados abaixo, por favor responda as questões assinalando um “X”:

1. Entendo que parte da informação de meu arquivo médico deverá ser revista por membros da equipe de investigação e fotocopiada se necessário. Dou permissão a estas pessoas a ter acesso a meus arquivos médicos. ☐
2. Estou de acordo que minha pele seja examinada por algum profissional da saúde, membro desta equipe de investigação. ☐
3. Estou de acordo que tirem fotografias de meus olhos para verificar sua cor, de minhas costas para averiguar a quantidade de pintas (nevos) e de alguns nevos que por suas características necessitem de documentação fotográfica. ☐
4. Entendo que estou no meu direito de solicitar qualquer esclarecimento e obter informação sobre a investigação a qualquer momento do desenvolvimento da mesma. ☐
5. Entendo que minha participação é voluntária e que tenho liberdade de desistir no momento que desejar, sem ter que dar nenhuma razão e que se tomo esta decisão, não afetará futuras consultas ou tratamentos necessários no Hospital A C Camargo. ☐
6. Entendo que a informação obtida da investigação será manipulada de forma confidencial e que em nenhum momento se violará minha privacidade. ☐

7. Confirmando que aceito participar desta investigação, que li e entendi as explicações fornecidas, assim com os quesitos de consentimento informado e que tive oportunidade de fazer todas as perguntas que considere pertinentes acerca deste estudo. 

Se necessitar de qualquer informação adicional ou surgir alguma dúvida no decorrer do estudo, por favor, entre em contato com o pesquisador responsável: Luciana Facure Moredo pelo telefone: 2189-5135.

Se o pesquisador responsável não fornecer as informações/esclarecimentos suficientes, por favor, entre em contato com o coordenador do Comitê de Ética do Hospital A C Camargo-SP pelo telefone (11) 2189-5020.

Nome do paciente:

Data:

Assinatura:

Endereço e telefone do paciente:

Nome do pesquisador responsável:

Data:

Assinatura:

Anexo 5 - Mutação em *CDKN2A* dos 9 pacientes do grupo A.

ID	número de melanomas	idade ao diagnóstico	mutação	proteína	polimorfismo de <i>CDKN2A</i>
1	2	49	G101W	P16	A148T
2	2	48	P48T	P16	X
3	2	23	34GT	P16	X
4	4	53	34GT	P16	X
5	4	33	P48T	P16	X
6	1	59	34GT	P16	X
7	1	39	P48T	P16	X
8	2	44	V84M*	P14	X
9	1	36	UTR-105A/T	P16	X

*alteração não descrita na literatura

Fonte: ÁVILA (2009)