

Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia



**Mecanismos de Resistência do Melanoma
Metastático à Quimioterapia
e Abordagem de Novos Alvos Terapêuticos**

Carolina Marques Pinto

Monografia Orientada pela Professora Doutora Maria Eduarda
Mendes, Professora Auxiliar

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2022

Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia



**Mecanismos de Resistência do Melanoma
Metastático à Quimioterapia
e Abordagem de Novos Alvos Terapêuticos**

Carolina Marques Pinto

Trabalho Final de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentado à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia

Monografia Orientada pela Professora Doutora Maria Eduarda
Mendes, Professora Auxiliar

2022

Resumo

O cancro da pele viu a sua incidência aumentar a passos largos no decorrer dos últimos anos. O melanoma cutâneo, em particular, tornou-se objeto de especial atenção por parte da Comunidade Médica, dada a sua extraordinária capacidade de proliferação e invasão locais e à distância, responsáveis por consequências dramáticas na Saúde mundial.

Além do reforço das medidas de prevenção e deteção precoces, os recentes números obrigaram a uma mudança de paradigma na abordagem terapêutica da doença.

Ultrapassada a oportunidade de remoção cirúrgica localizada, a utilização da Dacarbazina, isolada ou em regime de combinação com a IL-2, constituiu o padrão de tratamento do melanoma metastático durante mais de 30 anos. A rápida adaptação tumoral aos seus efeitos, no entanto, originou apenas soluções paliativas para a grande maioria dos doentes, já fragilizados pela substancial toxicidade destes agentes.

A melhor compreensão dos fundamentos genéticos implicados na origem e progressão do melanoma foram a chave para o início de uma nova era na sua gestão. Na passada década, foram desenvolvidas terapias direcionadas para os produtos das mutações mais frequentemente presentes nas células displásicas. Entre os fármacos inibidores BRAF (Vemurafenib e Dabrafenib) e os inibidores MEK (Trametinib e Cobimetinib), foram conseguidas respostas clínicas impressionantes, com resultados revolucionários na sobrevivência dos doentes avançados.

Em paralelo, a valorização do Sistema Imunitário no combate ao cancro mostrou-se essencial no fortalecimento do papel da imunoterapia no seu tratamento. Com sucesso, o bloqueio dos pontos de atenuação da imunidade expressos à superfície das células T através de anticorpos monoclonais anti-CTLA-4 (como o Ipilimumab) e anti-PD-1 (Nivolumab e Pembrolizumab) abriu caminho a respostas excecionalmente duradouras.

O recurso à viroterapia com Talimogene Laherparepvec revelou-se ainda uma estratégia útil em situações de doença localmente avançada e/ou metastática não visceral que não satisfazem os critérios de elegibilidade necessários para a atuação sistémica.

Entretanto, a plasticidade do microambiente tumoral foi apontada como a possível próxima grande ameaça ao tratamento do cancro. Em conjunto com a vasta experiência adquirida no caminho percorrido até à entrada das mais recentes opções no mercado farmacoterapêutico, esta poderá constituir uma oportunidade de intensificar o armamento antineoplásico atual, e proporcionar novas ferramentas para uma eficaz atuação contra malignidades como o melanoma metastático.

Palavras-Chave: Melanoma Metastático, Genética, Quimioterapia, Resistência, Terapias Moleculares Direcionadas, Imunoterapia

Abstract

Skin cancer has seen its incidence drastically increase over the last few years. Cutaneous melanoma, in particular, has become a subject of special attention by the Medical Community, given its extraordinary capacity for local and distant proliferation and invasion, responsible for dramatic consequences on global Health.

In addition to strengthening prevention and early detection measures, recent figures have forced a paradigm shift in the therapeutic approach to the disease.

Once lost the opportunity for localized surgical removal, the use of Dacarbazine, alone or in combination with IL-2, has been the standard of treatment for metastatic melanoma for more than 30 years. The rapid tumor adaptation to its effects, however, resulted in only palliative solutions for the majority of patients, already weakened by the substantial toxicity of these agents.

A better understanding of the genetic foundations involved in the origin and progression of melanoma was the key to the beginning of a new era in its management. In the past decade, therapies that target the products of the mutations most frequently present in dysplastic cells have been successfully developed. Between both BRAF inhibitor drugs (Vemurafenib and Dabrafenib) and MEK inhibitors (Trametinib and Cobimetinib), impressive clinical responses have been achieved, with revolutionary results in the survival of advanced patients.

In parallel, the enhancement of the Immune System in the fight against cancer has proved to be essential in reinforcing the role of immunotherapy in its treatment. The blockade of the immune attenuation points expressed on the surface of T cells by anti-CTLA-4 (such as Ipilimumab) and anti-PD-1 (Nivolumab and Pembrolizumab) monoclonal antibodies paved the way for exceptionally long-lasting responses.

The use of Talimogene Laherparepvec virotherapy has also proved to be a useful strategy in situations of locally advanced and/or non-visceral metastatic disease that do not meet the eligibility criteria for systemic action.

Nonetheless, the plasticity of the tumor microenvironment has been pointed as the next possible threat to cancer treatment. Together with the experience acquired along the path to the entry of the most recent options in the pharmacotherapeutic market, this could be an opportunity to intensify the current antineoplastic armament, and provide new tools for an effective action against malignancies such as metastatic melanoma.

Keywords: Metastatic Melanoma, Genetics, Chemotherapy, Resistance, Targeted Therapies, Immunotherapy

Dedicatória

Aos meus pais, a quem devo os meus valores e Educação.

Ao Gabriel, por estar presente em todos os momentos, e por acreditar em mim mesmo quando eu falho em consegui-lo.

Aos meus avós, pelas palavras de carinho ao fim de cada conquista.

Ao meu padrinho, pelo exemplo.

À Carolina, à Mariana e à Adriana, pela presença nesta jornada.

À Ana, pelo companheirismo.

Por último, mas não menos importante, à professora Eduarda, por toda a disponibilidade e orientação prestadas no decorrer do nosso percurso.

Abreviaturas

ABC – *ATP-Binding Cassette*

AJCC – *American Joint Committee on Cancer*

Bcl-xL – *B-cell Lymphoma Extralarge*

BRAF – *V-Raf Murine Sarcoma Viral Oncogene Homolog B1*

CD28, 80 e 86 – *Cluster of Differentiation 28, 80 e 86*

CDKN2A – *Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A*

CRAF – *V-Raf-1 Murine Leukemia Viral Oncogene Homolog 1*

CTLA-4 – *Cytotoxic T Lymphocyte-Associated Protein 4*

DTIC – 5-[3,3-dimetil-1-triazenil]-imidazol-4-carboxamida ou Dacarbazina

FDA – *Food and Drug Administration*

GM-CSF – *Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor*

GWAS – *Genome-Wide Association Study*

HGF – *Hepatocyte Growth Factor*

ICI – *Immune Checkpoint Inhibitor*

IFN- α – Interferão α

IL-2, 6 e 8 – Interleucinas 2, 6 e 8

iMAPK – Inibição MAPK

irAEs – *Immune-Related Adverse Events*

JARID1B – *Lysine-Specific Demethylase 5B*

mAB – Anticorpo Monoclonal Humano

MAPK – *Mitogen-Activated Protein Kinase*

MC1R – *Melanocortin-1 Receptor*

Mcl-1 – *Myeloid Cell Leukemia-1*

MEK – *Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase*

MGMT – O6-Metilguanina-ADN Metiltransferase

MHC – *Major Histocompatibility Complex*

miRNA – Micro RNA

MITF – *Microphthalmia-Associated Transcription Factor*

MSH – *Melanocyte-Stimulating Hormones*
NRAS – *Neuroblastoma RAS Viral Oncogene Homolog*
Nrf2 – *Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2*
PD-1 – *Programmed Cell Death Protein 1*
PTEN – *Phosphatase and Tensin Homolog*
RNS – *Reactive Nitrogen Species*
ROS – *Reactive Oxygen Species*
RTK – *Receptor Tyrosine Kinases*
SCC – *Scamous Cell Carcinoma*
SIA – *Spectrophotometric Intracutaneous Analysis*
SNC – *Sistema Nervoso Central*
TCR – *T Cell Receptor*
TGF β – *Transforming Growth Factor β*
TMZ – *Temozolomida*
T-VEC – *Talimogene Laherparepvec*
TWAS – *Transcriptome-Wide Association Studies*
UV – *Ultravioleta*
UVR – *Ultraviolet Radiation*

Índice

1. Introdução.....	12
2. Objetivo.....	14
3. Métodos.....	15
4. Do Melanócito ao Melanoma.....	16
4.1. A Pele.....	16
4.2. Melanócitos, Melanossomas e Melanina.....	17
4.3. Principais Fatores de Risco para o Desenvolvimento de Melanoma Cutâneo.....	17
5. O Papel da Genética.....	19
5.1. Componente Hereditária.....	19
5.2. Componente Somática.....	20
6. Processo de Diagnóstico.....	21
6.1. Tecnologias Diagnósticas.....	22
6.2. Biópsia e Estadiamento como Meio de Avaliação do Prognóstico.....	22
6.3. Imunohistoquímica.....	23
7. Tratamentos Convencionais.....	23
7.1. Cirurgia.....	23
7.2. Radioterapia.....	24
7.3. Quimioterapia.....	24
7.2.1. Agentes Alquilantes.....	24
7.2.2. Outras Classes Quimioterapêuticas.....	25
7.2.3. Regimes de Combinação.....	26
8. Mecanismos de Resistência à Quimioterapia.....	26
8.1. Bombas de Efluxo.....	26
8.2. Reparação do ADN.....	27
8.3. Stress Oxidativo e Modulação Enzimática.....	28
8.4. Alteração das Vias Apoptóticas.....	29
9. Novas Abordagens Terapêuticas.....	30
9.1. Terapias Moleculares Direcionadas.....	30
9.1.1. Terapias Direcionadas para as Mutações BRAF.....	30
9.1.2. Inibição BRAF e MEK.....	32
9.2. Imunoterapia.....	33

9.3. Combinação Terapias Direcionadas-Imunoterapia	36
9.4. Talimogene Laherparepvec	37
10. Perspetivas Futuras.....	37
11. Conclusão	39
Referências Bibliográficas	40
Anexos.....	48

Índice de Figuras

Figura 1 - Representação Esquemática da Pele.....	16
Figura 2 - Efeitos das Radiações UVA e UVB na Pele	18
Figura 3 - Vias Hereditárias e Somáticas e Mutações que Mais Frequentemente Causam a Sua Ativação em Doentes com Melanoma Cutâneo	21
Figura 4 - Elementos da Avaliação ABCDE.....	21
Figura 5 - Estruturas Químicas dos Fármacos Dacarbazina, Temozolomida e Fotemustina... 25	
Figura 6 - Lesões Induzidas no ADN por Ação do Ião Metildiazónio	28
Figura 7 - Estruturas Químicas do Vemurafenib e do Dabrafenib.....	31
Figura 8 - Linha Temporal da Aprovação das Terapias Direcionadas entre 2011 e 2015	32
Figura 9 – Interações entre os Recetores PD-1 e as Células T.....	34
Figura 10 - Linha Temporal da Aprovação das Imunoterapias entre 2011 e 2015.....	35

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Principais Características das Cinco Classes-Base de Melanoma Cutâneo.....	12
---	----

1. Introdução

De acordo com a Sociedade Americana do Cancro, foi atingida, na última década, uma taxa global de aumento de casos de melanoma nunca antes vista. (1) Inquietante, esta observação foi corroborada pela mais recente divulgação *GLOBOCAN*, do Observatório Global do Cancro, na qual se mostraram contabilizados, no decorrer do ano de 2020, cerca de 324 635 novos casos e 57 043 mortes pela doença em todo o mundo. Aliados aos números especialmente alarmantes na região Norte da Europa (2), estes dados vieram revigorar a sua relevância na emergente área da Oncologia, marcando uma posição de destaque na Saúde Pública.

Mesmo representando apenas cerca de 1% de todos os cancros da pele, o melanoma cutâneo é universalmente considerado a sua forma mais agressiva. Fundamentalmente associado a exposições UVR intensas no decorrer da vida daqueles por ele afetados, este subtipo de melanoma tende a surgir, à semelhança de outros tumores sólidos, em idades superiores aos 50 anos, embora se revele cada vez mais comum em jovens adultos. (1) Desde o fototipo I da escala de Fitzpatrick, compatível com peles claras que sofrem de queimadura solar com uma considerável facilidade e raramente bronzeiam, ao fototipo VI, com o comportamento oposto, é concedida particular atenção à população Caucasiana, sujeita a um maior risco de desenvolver a doença quando comparada com as restantes demografias. (3,4)

O melanoma cutâneo pode manifestar-se sob uma multiplicidade de formas, associadas a distintos padrões clínicos e patológicos (**Tabela 1**). (5)

Tabela 1 - Principais Características das Cinco Classes-Base de Melanoma Cutâneo
[Adaptado de (5)]

Classe	Características	Frequência
M. de Extensão Superficial	Inicia-se com uma mácula ou placa profundamente pigmentada (de muito escura a rosada) na pele dos braços e pernas, antes de evoluir lentamente até metastizar.	70%
M. Nodular	É a forma mais agressiva, podendo surgir rapidamente a partir de locais sem lesão prévia, com relevo e uma pigmentação tipicamente muito escura.	15%
M. Lentigo Maligno	Frequentemente confundido com marcas associadas à idade, tende a surgir na cabeça e pescoço de indivíduos mais velhos expostos a danos solares. Apresenta-se como pequenos sinais assimétricos com bordas irregulares e diversas cores.	10%
M. Acral Lentiginoso	Surge como uma marca ou hematoma na pele das mãos, pés e abaixo das unhas, independentemente do grau de exposição à radiação UV.	5%

M. Mucoso	Os melanócitos das mucosas sofrem uma transformação maligna pouco habitual, unindo-se numa massa lesional que sangra frequentemente.	1%
-----------	--	----

Os avanços no diagnóstico e tratamento desta forma de melanoma resultam de mais de 200 anos de investigação, marcados por frequentes abordagens de tentativa e erro e, até há pouco tempo, por escassos conhecimentos no que respeita a sua biologia. (6)

Nos primórdios da atuação localizada, foram fundamentais as contribuições de figuras como John Hunter, a quem foi atribuída a primeira excisão de um tumor de melanoma, e William Norris, cuja concretização de uma revisão sistemática de vários casos da doença permitiu a compreensão da sua etiologia e progressão, além da proposta de aperfeiçoamento das técnicas de remoção cirúrgica utilizadas até à sua época, posteriormente complementadas por Herbert Snow. (6,7)

Mais tarde, personalidades como Wallace Clark e Alexander Breslow deixaram também o seu contributo, marcando a história do tratamento do melanoma até aos dias de hoje. (6,7)

Durante a Segunda Guerra Mundial, a observação de que a exposição ao gás mostarda resultaria na depleção marcada da medula óssea e nódulos linfáticos suscitou os primeiros sucessos com os agentes alquilantes. Ao estudarem as possíveis utilizações terapêuticas destes químicos, os farmacologistas Alfred Guilman e Louis Goodman concluíram que os mesmos poderiam ter um papel no tratamento de malignidades como o linfoma, lançando uma onda de esperança na comunidade, e incentivando o desenvolvimento de mais agentes quimioterapêuticos. [17, 48]

A ulterior aprovação da Dacarbazina enquanto primeiro citotóxico alquilante para o tratamento do melanoma irressecável e os avanços iniciais na área da imunoterapia abriram enfim portas ao tratamento sistémico da doença. Ainda que associadas a eficácias reduzidas e a perfis de toxicidade consideráveis, a quimioterapia e a bioquimioterapia viram-se, durante largos anos, as únicas opções terapêuticas para os doentes com melanoma avançado. (6)

Após um longo período de estagnação científica, a descoberta de novos alvos terapêuticos passou a ser o principal foco da investigação. Com o reconhecimento da importância das atuações precoces e individualizadas (8) e a melhor compreensão dos mecanismos moleculares por detrás da doença (6), surgiram, na última década, terapias que permitiram não só melhorar a sobrevivência destes doentes, como também a sua qualidade de vida. (6,9)

2. Objetivo

O objetivo desta Monografia prende-se na concretização de uma revisão sistemática da evolução do tratamento do melanoma metastático. Desde a biologia molecular da doença ao respetivo diagnóstico e atual gestão, pretende-se que sejam exploradas as mais convencionais abordagens terapêuticas e correspondentes mecanismos de dessensibilização tumoral, assim como os extraordinários avanços que se seguiram com a descoberta de novos alvos moleculares, e algumas das futuras perspectivas subordinadas à área da Oncologia.

3. Métodos

Para a redação da presente Monografia, foi feita uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados *Pubmed* e *Elsevier*, complementada pela consulta dos sítios da *Internet* vinculados à *Food and Drug Administration* e à *European Medines Agency*. Para tal, foram utilizadas expressões anglo-saxónicas como “metastatic melanoma”, “chemotherapy of metastatic melanoma”, “resistance to chemotherapy” e “new targets for the treatment of metastatic melanoma”, tendo sido efetuada uma análise, seleção e síntese integradas dos vários artigos científicos lidos.

4. Do Melanócito ao Melanoma

Para compreender as vias implicadas no aparecimento e progressão do melanoma cutâneo e, no âmbito desta Monografia, como as modular, é importante elucidar o nicho que os melanócitos integram, e os fenómenos que mais habitualmente estão na sua base.

4.1. A Pele

Considerada o maior órgão do corpo humano, a pele representa uma barreira protetora resultante de milhares de anos de evolução, constituindo uma crucial interface entre este e o ambiente que o envolve. De entre as suas diversas funções, destacam-se os papéis na termorregulação e controlo do balanço da água corporal, assim como a fundamental proteção contra a radiação solar (UV). (10,11)

São apreciadas na sua estrutura três camadas principais. A epiderme, enquanto camada mais periférica, mantém-se num constante equilíbrio dinâmico entre processos de remoção e renovação celulares. Na sua constituição, alberga maioritariamente queratinócitos (10,12), mas também melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel. Em articulação, a derme dispõe do tecido fibroadiposo e dos vasos sanguíneos, nervos e recetores sensoriais que a suportam, enquanto uma significativa quantidade de tecido adiposo compartimentado por numerosos septos fibrosos aloja, na hipoderme, os vasos de maior calibre que alimentam a vasculatura dérmica. (10)

Na **Figura 1** vê-se uma representação esquemática da pele.

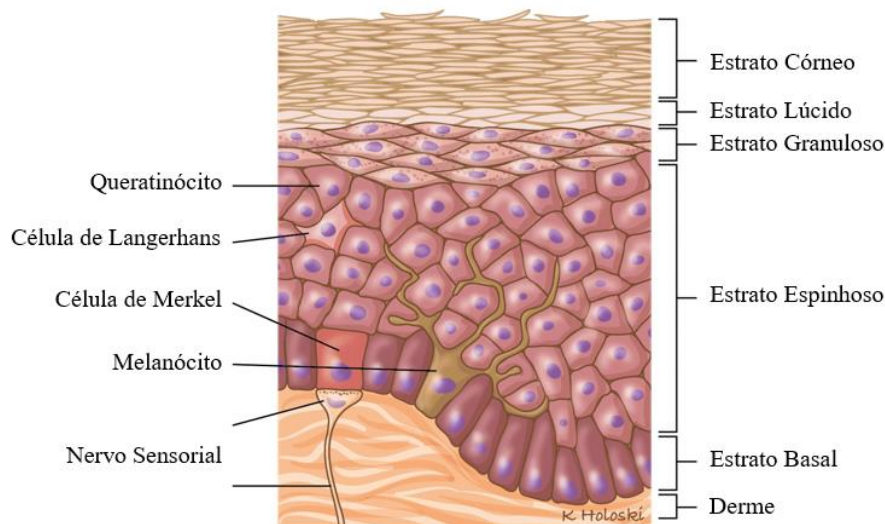


Figura 1 - Representação Esquemática da Pele [Adaptado de (13)]

4.2. Melanócitos, Melanossomas e Melanina

Além de ser o principal pigmento implicado na coloração da pele, mucosas e faneras, a melanina produzida pelos melanócitos epidérmicos assume uma posição central na sua proteção contra os danos induzidos pela exposição à radiação UV. (14)

O seu largo espetro de absorção e capacidade de neutralização de espécies radicais, porquanto, comportam a formação de moléculas intermédias com uma considerável toxicidade celular. (14) Por esta razão, os melanócitos beneficiam de estruturas endocíticas especializadas para melhor suportar os impactos colaterais da melanogénese. Nos melanossomas, é levada a cabo a síntese e inicial deposição granular da melanina, na etapa que antecede o seu transporte para os queratinócitos vizinhos. (15) Juntas, estas células trabalham em sintonia para produzir e distribuir melanina, estimando-se que cada unidade epidérmico-melânica seja composta por aproximadamente um melanócito e 36 queratinócitos vizinhos. (16)

Hoje sabe-se que a melanogénese se vê primeiramente estimulada pela intervenção hormonal MSH (*Melanocyte-Stimulating Hormones*), oriunda da normal atividade queratínica, sobre os recetores de melanocortina localizados à superfície dos melanócitos. A partir deste ponto, é desencadeada uma complexa comunicação intracelular, que culmina na ativação de diversos elementos essenciais à sua regulação. (17,18) Desde as proteínas que mantêm a estrutura dos melanossomas e das enzimas necessárias à síntese da melanina às proteínas envolvidas nos processos de tráfego e distribuição pelos queratinócitos, fatores nucleares como o MITF (*Microftalmia-Associated Transcription Factor*) alinham-se para mobilizar os materiais indispensáveis à produção do pigmento, e assegurar a função elementar dos melanócitos. (18)

Ténues particularidades neste processo podem, pela sua parte, traduzir-se em diferentes pigmentos. A interação da hormona α -MSH com o recetor MC1R (*Melanocortin-1 Receptor*), por exemplo, conduz à obtenção maioritária de eumelanina, um pigmento castanho/preto e, portanto, mais abundante em indivíduos de pele escura. Polimorfismos associados a perda de função MC1R, porém, aumentam a produção de feomelanina, um pigmento amarelo/vermelho, comum em indivíduos ruivos, de pele clara. (17–20) Além das nítidas diferenças na tez dos indivíduos com diferentes proporções relativas dos dois pigmentos, podem também ser bastante distintos os impactos na Saúde. Neste caso, enquanto a primeira fornece um melhor efeito de escudo contra a radiação UV, a feomelanina, além de ser menos protetora, pode também promover o stress oxidativo, e favorecer a carcinogénese. (17,20)

4.3. Principais Fatores de Risco para o Desenvolvimento de Melanoma Cutâneo

Alterações nos mecanismos por detrás da manutenção das células da pele podem, efetivamente, estar na base da transformação maligna. De todos os fatores que constituem um risco para a sua ocorrência, a radiação UV é, decerto, o que acarreta a maior importância. (21,22)

A exposição à radiação solar na infância de forma intermitente e em doses suficientes para atingir a queimadura é um fator determinante para o desenvolvimento de melanoma

cutâneo mais tarde na vida. A este padrão, acrescenta-se ainda o fácil acesso a outras fontes de radiação, como os solários, e a decrescente utilização de proteção solar ao longo de todo o ano. (19,21,23)

Uma vez que a radiação UVC é eficientemente bloqueada pela camada de ozono e praticamente não penetra na pele, as radiações UVA e UVB são apontadas como as mais relevantes para a Saúde humana. Apesar de menos abundante na luz solar e mais fracamente penetrante quando comparada com a radiação UVA, a radiação UVB considera-se substancialmente mais carcinogénica, dada a sua capacidade de interagir diretamente com o ADN genómico para formar fotoprodutos entre alguns dos seus nucleótidos. (19,21,22) Não é excluído na totalidade, contudo, o envolvimento da radiação do tipo A, a principal radiação emitida nas câmaras de bronzamento, na formação destes fotoprodutos nas horas subsequentes à exposição solar. (14) Na prática, a sua interação indireta com o ADN por via dos diversos fotossensibilizadores presentes na epiderme (como a própria melanina e/ou a flavina e a riboflavina) proporciona quadros de desequilíbrio oxidativo, que, ainda que tipicamente associados ao processo de envelhecimento da pele, contribuem também para a instalação de um ambiente favorável à origem do cancro. (21,22)

Na **Figura 2** encontram-se resumidas as principais implicações da exposição às radiações UVA e UVB na pele.

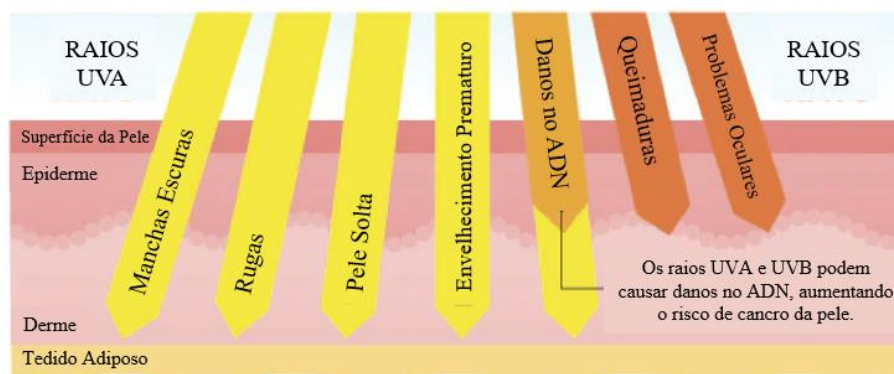


Figura 2 - Efeitos das Radiações UVA e UVB na Pele [Adaptado de (24)]

Frisa-se que, embora a elevada exposição à radiação UV seja o principal fator de risco para o desenvolvimento de melanoma cutâneo, poderão estar na origem da doença outros fatores. Entre eles, encontram-se o tipo de pele e a cor do cabelo do indivíduo, a região onde vive e a respetiva relação com a depleção da camada de ozono, os seus hábitos e historial de bronzamento e, não menos importante, o seu alicerce genético. (19,21)

As estratégias desenhadas para limitar o risco de ocorrência desta malignidade devem, portanto, ter em consideração o conjunto das questões ambientais e individuais que, coletivamente, podem despoletar a carcinogénese cutânea. (21)

5. O Papel da Genética

A importância da Genética na gênese do melanoma é cada vez mais reconhecida. (25) Para todos os efeitos, grande parte das questões relativas a este domínio permanecem ainda por ser esclarecidas. O caso dos polimorfismos no gene MC1R, responsáveis pelo aumento da concentração de feomelanina, é apenas um dos inúmeros exemplos de fenômenos genéticos que elevam o risco de surgimento da doença. (21)

Têm sido vários os esforços feitos até ao momento no sentido de contrariar esta realidade. Por exemplo, num recente estudo GWAS (*Genome-Wide Association Study*) de grande escala, associado a estudos TWAS (*Transcriptome-Wide Associated Studies*), foram identificados 85 *loci* relacionados com a suscetibilidade ao melanoma cutâneo, um acréscimo substancial face aos 21 previamente identificados por estudos GWAS isolados. Verificou-se que os principais polimorfismos destes *loci* estavam associados à pigmentação, resposta ao bronzamento e contagem de nevos, assim como à manutenção de telómeros e reparação do ADN. Alguns deles, por sua vez, estavam associados a mais do que uma característica. (26)

5.1. Componente Hereditária

Os melanomas hereditários tendem a ter perfis mutacionais diferentes dos dos melanomas não-hereditários, e a inicial compreensão das suas causas permitiu a descoberta de vários genes considerados chave para a melanomagénes. (17,27)

De entre os vários genes estudados, foi dado especial destaque ao gene CDKN2A (*Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A*). Tratando-se de um gene supressor de tumor, codifica para duas proteínas críticas nas vias do ciclo celular, vulgarmente designadas p16 e p14. (27) Ao mesmo tempo que a primeira impede a transição da fase de crescimento físico da célula (G1) para a etapa da replicação do ADN necessária à sua multiplicação (S), a proteína p14 intervém nas vias apoptóticas dependentes do p53. (17,27–30) A inativação do *locus* CDKN2A pode, desta forma, induzir um aumento da proliferação celular e, em paralelo a uma redução da apoptose, desencadear a formação tumoral maligna. (29)

Dos 7 a 15% casos de melanoma hereditário, cerca de 22% das famílias afetadas possuem uma mutação no gene CDKN2A. Nos seus membros, é frequente a presença de numerosos nevos melanocíticos clinicamente atípicos e com apresentações bastante oscilantes entre si, numa gama que varia de banal a atípica, com grandes dimensões, bordas irregulares e cores diversas. (17,27,29) Verifica-se ainda uma tendência para desenvolver melanoma até cerca de 15 anos mais cedo do que a população geral, numa idade que habitualmente ronda os 33 a 45 anos, ou, inclusivamente, a adolescência ou idade adulta precoce. (27)

São, no entanto, muito raras as famílias que possuem características de melanoma hereditário propriamente dito. De forma geral, veem-se, ao invés, afetadas pelo desenvolvimento de padrões de malignidade em vários órgãos, enquadrando-se em síndromes. (29) Das várias síndromes até hoje identificadas, a Síndrome de Nevo-Melanoma Familiar Atípico (FAMMM) foi a que mais ressaltou neste contexto. (28,30) Nesta, além de se verificarem contagens de nevos considerados benignos elevadas e múltiplos nevos displásicos

pré-cancerosos como manifestações comuns, é também bem conhecida a associação com o cancro pancreático, a segunda malignidade mais observada nos doentes com mutações no CDKN2A. (29–31)

5.2. Componente Somática

Cancros como o melanoma surgem habitualmente da acumulação de mutações adquiridas em genes envolvidos na proliferação, diferenciação e morte celulares, assim como das capacidades de invasão de tecidos, metastização, e iniciação e manutenção da angiogénese adquiridas pelas células tumorais. (32) Foram, por conseguinte, caracterizados alguns dos genes mais frequentemente afetados por estes e outros fenómenos.

A via MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*), em especial, foi alvo de uma ampla atenção nos últimos anos. Aqui, a interação de sinais extracelulares com os recetores membranares RTK (*Receptor Tyrosine Kinases*) começa por conduzir à ativação das proteínas Ras. Neste caso, as últimas podem rumar à ligação às proteínas efetoras Raf, e, após uma série de fosforilações, induzir a interação de diversas enzimas cinases com os seus substratos. Entre eles, sublinha-se o MEK (*Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase*), responsável por viabilizar a regulação da expressão génica para as funções essenciais ao crescimento e manutenção tumorais. (32,33)

As mutações no gene BRAF (*V-Raf Murine Sarcoma Viral Oncogene Homolog B1*), codificante para a proteína B-Raf, foram, neste âmbito, tidas como francamente relevantes nas formas de doença mais avançadas. A mutação BRAFV600E, em particular, é encontrada em cerca de 50% dos melanomas cutâneos (5,33–35) e 80% dos nevos benignos (5), onde as linhagens de melanócitos por ela afetadas se dizem hiperativadas. (34) Como surgem numa elevada percentagem de nevos melanocíticos, porém, acredita-se não terem a capacidade de, isoladamente, induzir a progressão para melanoma, mas sim depender da coexistência de alterações noutros elementos, como eventuais deleções somáticas no gene CDKN2A ou, comumente, no gene PTEN (*Phosphatase and Tensin Homolog*), regulador de uma via paralela e frequentemente alvo de deleções. (5,32,36) Menos frequentes, mas também expressivas, as mutações no oncogene NRAS (*Neuroblastoma RAS Viral Oncogene Homolog*), codificante para a proteína Ras homónima, mostram-se presentes em cerca de 20% dos casos de melanoma. (5,32–35)

Por serem mais encontradas em melanomas localizados em áreas da pele previamente expostas à luz solar, as alterações BRAF tendem a associar-se a uma exposição à radiação UV intermitente nos primeiros anos de vida do indivíduo. (34,35) Por outro lado, as mutações NRAS são mais comuns em indivíduos expostos à radiação de forma crónica e em idades mais tardias. (5,34,35)

Na **Figura 3** apresentam-se as várias alterações genéticas passíveis de estarem presentes nos tumores melanocíticos. É importante clarificar que, além destas, estão implicadas muitas outras modificações patológicas no desenvolvimento e progressão do melanoma, que se cruzam, por vezes, de forma imprevisível para atribuir a cada caso da doença uma “impressão digital” única, responsável pela sua excecional complexidade. (36)

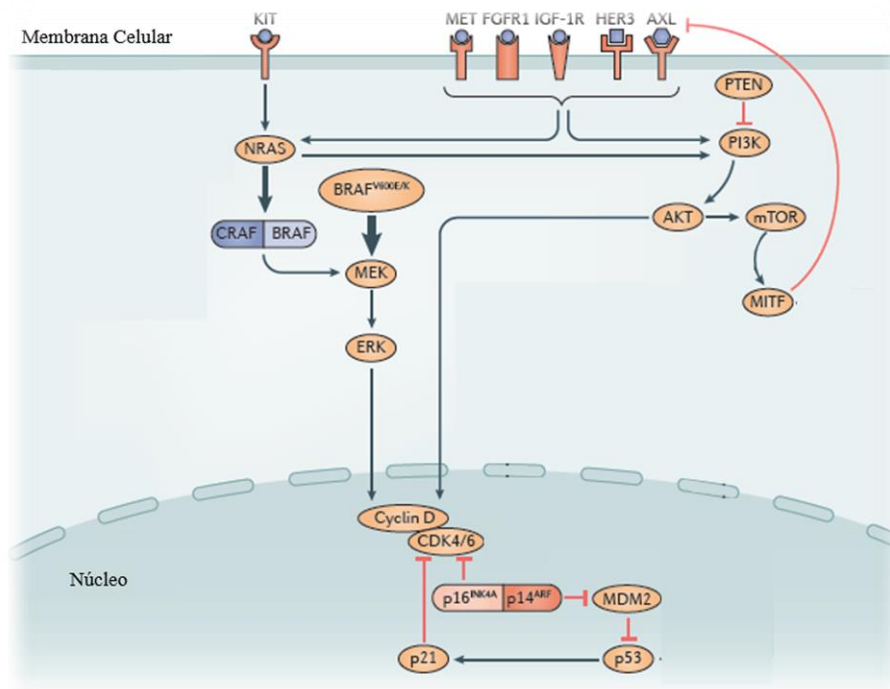


Figura 3 - Vias Hereditárias e Somáticas e Mutações que Mais Frequentemente Causam a Sua Ativação em Doentes com Melanoma Cutâneo [Adaptado de (75)]

6. Processo de Diagnóstico

Lesões pigmentadas consideradas suspeitas são tradicionalmente analisadas, numa primeira instância, recorrendo a abordagens como a regra “ABCDE” – Assimetria, Bordos Irregulares, Cor Heterogénea, Diâmetro > 6 mm e Evolução –, importantes por permitirem a identificação de potenciais casos da doença a olho nu através da comparação com os restantes nevos não-malignos do indivíduo, e por poderem ser postos em prática pelos próprios doentes (**Figura 4**). (37–39)

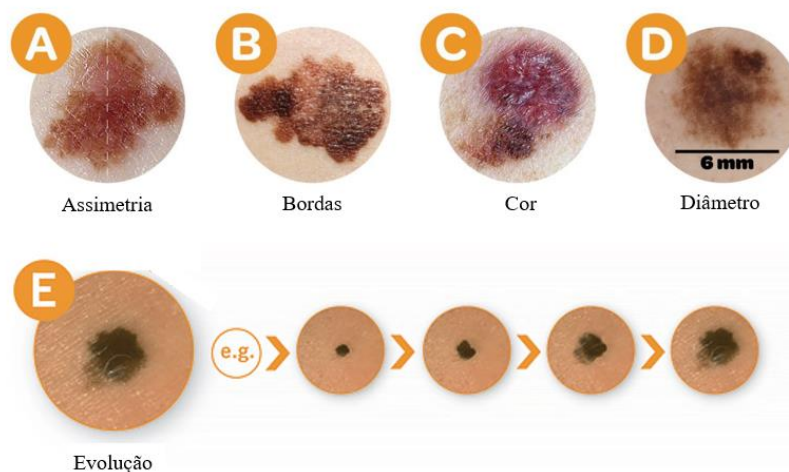


Figura 4 - Elementos da Avaliação ABCDE [Adaptado de (40)]

No entanto, ainda que estas ferramentas ajudem a detetar inúmeros casos de melanoma, muitos, ao não cumprirem os critérios por elas abrangidos, permanecem elusivos, mostrando-se crucial o recurso a outras tecnologias, geridas por profissionais experientes. (38)

6.1. Tecnologias Diagnósticas

Uma das primeiras tecnologias a ser utilizada em larga escala na prática clínica foi a da dermatoscopia. Ainda em prática na atualidade, esta técnica recorre ao dermatoscópio para fornecer ao examinador uma imagem ampliada da parte mais externa da pele, a favor da visualização das cores e estruturas localizadas abaixo do estrato córneo. (38)

Mais recentemente, a SIAscopia (*Spectrophotometric Intracutaneous Analysis*), uma técnica imagiológica multiespectral computarizada não invasiva, veio permitir caracterizar a estrutura interna da pele com base nas propriedades óticas dos seus componentes. Ao revelar aspetos histológicos essenciais ao processo de decisão (desde a concentração de melanina na epiderme à concentração do sangue dérmico, espessura da derme papilar e, em casos patológicos, presença de melanina na derme), esta tecnologia revelou-se essencial na deteção precoce do melanoma cutâneo. (39,41) Com base nas imagens obtidas, o clínico pode determinar se será ou não necessário progredir para biópsia, possibilitando uma redução no número de excisões efetuadas a lesões benignas até chegar ao diagnóstico de melanoma comparativamente à primeira. (39)

No sentido de uniformizar ainda mais o processo de decisão, técnicas como a MelaFind dispõem de *softwares* que, após processamento das imagens capturadas, sugerem a sua recomendação relativamente ao processo de biópsia, com base na avaliação dos bordos da lesão e análise da sua assimetria, variação de cor e mudanças no diâmetro e textura. (39)

6.2. Biópsia e Estadiamento como Meio de Avaliação do Prognóstico

Quando devidamente implementada, a biópsia pode, pela sua parte, contribuir grandemente para a avaliação inicial dos doentes e, após o diagnóstico, para a definição dos seus prognósticos e planos de tratamento. (7,37,42,43)

Nesta matéria, não podem deixar de ser decritos os trabalhos de Clark e Breslow, que, entre os anos 60 e 70, revolucionaram a maneira como o melanoma cutâneo viria a ser abordado. Em 1969, Clark começou por definir níveis de invasão das células tumorais através da pele, subdividida em compartimentos histologicamente distintos, que seriam progressivamente mais letais quanto maior a profundidade por elas atingida. De forma paralela, Breslow observou, em 1970, que o prognóstico do melanoma parecia depender não só do tamanho do tumor e do nível de invasão, mas também da sua espessura, permitindo uma melhoria significativa na precisão de classificação do estadio da doença. (6,7,17,44)

As descobertas de Clark e Breslow são, ainda hoje, tidas em conta no desenvolvimento de sistemas de estadiamento do melanoma cutâneo. (44)

De todos os sistemas desenvolvidos, o mais largamente aceite é o sistema de classificação TNM da *American Joint Committee on Cancer* (AJCC), atualmente na sua 8ª edição (17,42), e onde se combinam os atributos histológicos do tumor primário (T) com a presença e extensão da propagação nodular linfática (N) e metastática (M). Assim, na definição da categoria T, representam importantes fatores de prognóstico a espessura do tumor primário e a existência (ou inexistência) de ulceração na lesão; na categoria N, refletem-se o número e a extensão de eventuais tumores nos nódulos regionais, assim como de metástases regionais não-nodulares (microssatélites, satélites ou metástases em-trânsito); finalmente, na categoria M, o componente primário é o local de deteção de metástases distantes. A cada sigla, são ainda associados um número e/ou letra que melhor descrevem cada um dos parâmetros (**Anexo 1**), reunindo-se, no seu conjunto, em estadios correlacionados com prognósticos progressivamente mais pobres (de 0 a IV), que servem de guia para a tomada de decisão. (42,43,45)

6.3. Imunohistoquímica

Ainda que a rotina da dermatopatologia incida predominantemente no contexto clínico dos doentes e respetivas observações histológicas, refere-se que a imunohistoquímica pode também ser uma boa aliada no diagnóstico e estadiamento dos casos mais complexos da doença. Aqui, além da constante procura de marcadores sensíveis e/ou específicos para as lesões melanocíticas, os progressos na compreensão dos mecanismos genéticos envolvidos na génese do melanoma contribuíram igualmente para a descoberta de marcadores potencialmente importantes na deteção de mutações genéticas. Correspondentemente, o recurso a testes rápidos para a aferição do estado mutacional de cada doente é, cada vez mais, uma aposta a considerar. (46,47)

7. Tratamentos Convencionais

7.1. Cirurgia

Apesar dos recentes avanços na compreensão da doença, a remoção cirúrgica permanece, ainda, o pilar do tratamento do melanoma localizado e a única opção curativa. (6,17,48)

Ao longo dos anos, o desejo de aperfeiçoamento das técnicas cirúrgicas motivou a definição e harmonização formal das margens de excisão praticadas, e o esclarecimento relativamente à necessidade da dissecação dos nódulos linfáticos potencialmente afetados. (6)

Enquanto a biópsia excisional com margens clínicas mínimas é fundamental na avaliação do diagnóstico e prognóstico, as margens curativas, habitualmente superiores, variam consoante a invasão do tumor. (37,49,50) No caso dos tumores a partir do estadios T1b, e em doentes cuja palpação ou a ecografia sugerem a presença de metástases linfáticas, foi acrescentada a possibilidade de realização de uma biópsia (SNB) ou dissecação de nódulos sentinela, ainda que sem grandes benefícios na sobrevivência enquanto procedimento

terapêutico. No mesmo sentido, foi elucidado que a dissecação linfonodal total (CLND) deveria ser evitada e, sempre que possível, substituída pela observação contínua dos nódulos remanescentes nas áreas relevantes. (37,49,50)

7.2. Radioterapia

Por sua vez, a radioterapia pode ser uma abordagem particularmente útil em metástases do SNC. Adicionalmente, poderá ainda ser interessante em metástases ósseas, embora como abordagem paliativa em situações de dor, perda de estabilidade estrutural e compressão do canal espinhal, com ou sem sintomas neurológicos. (48,49)

7.3. Quimioterapia

A cirurgia e a radioterapia mostraram-se dominantes na terapêutica do cancro até cerca dos anos 60. Entretanto, a estabilização das taxas de cura após tratamentos locais cada vez mais radicais tornou claro que o investimento na quimioterapia poderia ter um impacto positivo na vida dos indivíduos com doença avançada. (51)

No melanoma metastático, a quimioterapia citotóxica é usada há mais de três décadas, e constituiu, durante largos anos, o esteio da terapia para muitos doentes. Dos inúmeros agentes avaliados, foram várias as classes de fármacos que mostraram uma atividade modesta no tratamento da doença. (44,49)

7.2.1. Agentes Alquilantes

Quimicamente denominada 5-[3,3-dimetil-1-triazenil]-imidazol-4-carboxamida, a **Dacarbazina** (ou **DTIC**) foi, em 1975, o primeiro agente quimioterapêutico a ser aprovado para o tratamento do melanoma metastático. (17,48,52,54) Enquanto agente alquilante, exerce a sua ação por intermédio do ião metildiazónio, uma espécie altamente reativa, que, após uma série de transformações hepáticas, interage prontamente com as bases de ADN para o danificar. (54)

Mesmo que associada, na maioria das vezes, a respostas parciais na ordem dos 10 a 20% e sobrevivências médias de apenas 5 a 11 meses, a utilização de DTIC na sua forma intravenosa é, ainda hoje, vista como o padrão comparativo de tratamento da doença. (17,53) O seu atual propósito primário recai, em todo o caso, sobre a utilização para fins paliativos (48), apresentando, como qualquer outro fármaco citotóxico, efeitos adversos marcados, de que servem de exemplo as náuseas e vômitos, mas também graves situações de mielosupressão. (48,54)

Numa tentativa de obter uma versão oral da DTIC, foi desenvolvida a **Temozolomida**, ou **TMZ**. Tal como o seu análogo, é quimicamente convertida no mesmo metabolito ativo, mas através de uma conversão espontânea a pH fisiológico nos tecidos para onde é distribuída, sem

necessidade de intervenção hepática. (48,53–55) Tendo demonstrado eficácia no tratamento de vários tumores sólidos, destaca-se a sua ação naqueles localizados no cérebro, dada a sua superior capacidade de penetração no SNC. (52,55)

Não obstante, a TMZ fracassou em demonstrar nas suas respostas uma diferença estatisticamente significativa face às respostas verificadas com a DTIC, e, portanto, em obter aprovação para a mesma indicação. Ainda assim, é um recurso frequente na prática clínica, vendo-se a escolha entre os dois fármacos dependente da via de administração desejada, das diferenças nos custos e na presença ou ausência de metástases cerebrais. (52–54,56) Acrescenta-se a esta decisão a gestão do perfil de toxicidade, dado que, enquanto as náuseas e vômitos decorrentes dos ciclos de tratamento com TMZ são geralmente mais atenuados com os regimes anti-eméticos atuais, a mielosupressão por ela provocada exibe um maior espectro de efeitos, com linfopenias adicionais às leucopenias e anemias despoletadas pela DTIC. (54)

Por sua vez, a **Fotemustina** conseguiu a aprovação de alguns Reguladores Europeus, ainda que a mesma decisão não tenha sido tomada pela FDA. Na base da escolha europeia, considera-se que tenha sido crucial a sua atividade comparável à DTIC, com tendência para uma superior Sobrevivência Global (OS), e a capacidade de atravessar a BHE, como verificado com a TMZ. De forma semelhante aos outros agentes, a sua utilização pode também ser limitada pelos graves efeitos adversos eventualmente desencadeados, incluindo-se o maior potencial emetogénico, períodos mais prolongados de supressão da medula óssea (com trombocitopenia) e marcada alopecia. (48,52,54,57)

Na **Figura 5** encontram-se as estruturas químicas dos três agentes quimioterapêuticos acima abordados.

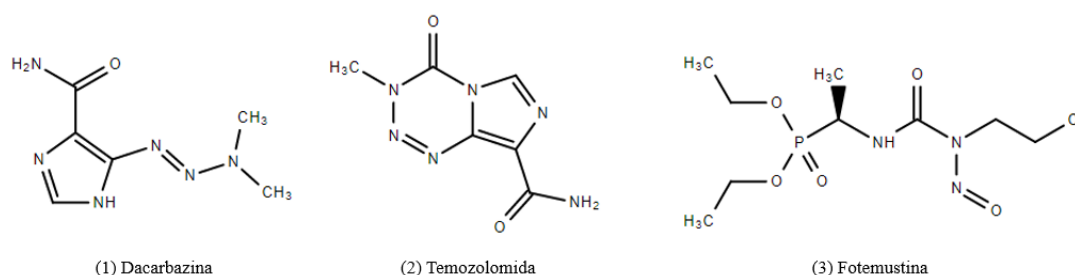


Figura 5 - Estruturas Químicas dos Fármacos Dacarbazina, Temozolomida e Fotemustina

7.2.2. Outras Classes Quimioterapêuticas

Vários outros citotóxicos quimioterapêuticos foram originalmente estudados no tratamento do melanoma metastático.

Apesar do desenvolvimento dos análogos de platina ter sido, inicialmente, um evento marcante no tratamento da maioria dos tumores epiteliais avançados, a translação para o melanoma não satisfaz os mesmos resultados. (54,58) Mesmo associadas a taxas de resposta da mesma ordem das verificadas para a DTIC e a TMZ, a Cisplatina e a Carboplatina apenas

permitiram sobrevivências médias de cerca de 3 meses, tendo, desta forma, sido descartadas no tratamento do melanoma metastático enquanto agentes isolados. (48,52,54,56,58)

As toxinas microtubulares, ademais consideradas potenciais, mostraram atividades apenas igualmente modestas, sem melhorias na OS. Aos efeitos adversos já associados à DTIC e à TMZ, juntou-se também a neuropatia, que requereria o recurso a fármacos adicionais como a Pregabalina ou a Duloxetina para sua atenuação. (48,54)

7.2.3. Regimes de Combinação

A dificuldade em conceber fármacos que se mostrassem superiores à DTIC e a subsequente conclusão de que, mesmo com esta, a maioria das remissões seriam apenas parciais ou incompletas, levaram à premissa de que os vários outros fármacos estudados no tratamento do melanoma metastático poderiam ser utilizados em conjunto com a mesma, numa tentativa de aumentar as taxas de resposta e, possivelmente, a sobrevivência. (48,52,54)

De entre os múltiplos regimes de combinação desenvolvidos, viram-se célebres o regime CVD (Cisplatina, Vinblastina e Dacarbazina) e o regime Dartmouth (a associação da Dacarbazina à Cisplatina, à Carmustina e ao Tamoxifeno). Embora as respostas globais de cada um tenham sido, numa fase inicial, de 40% e 55%, respetivamente, a toxicidade associada à utilização de vários agentes citotóxicos em conjunto acabou por não corroborar o seu benefício relativamente ao braço da monoterapia com DTIC, voltando a reforçar a sua posição enquanto padrão do tratamento da doença. (48,52,54)

8. Mecanismos de Resistência à Quimioterapia

O fracasso da maioria dos agentes quimioterapêuticos pode, em grande parte, ser atribuído à alta capacidade de sobrevivência dos melanócitos, que lhes confere uma notória resistência às terapias sistémicas tradicionais. (59–61)

8.1. Bombas de Efluxo

Os transportadores ABC (*ATP-Binding Cassette*), expressos em vários tecidos humanos, pertencem a uma superfamília de proteínas integrais de membrana que transportam moléculas estruturalmente diversas através das membranas biológicas. (62) Além dos seus substratos naturais, transportam também diversos xenobióticos para o exterior das células, reduzindo drasticamente a sua acumulação intracelular, e contribuindo, desta forma, para os fenómenos de resistência em diversos tipos de cancro. (59–65)

De entre os 48 transportadores ABC humanos conhecidos, as células do melanoma expressam aqueles que mais comumente medeiam estes comportamentos noutros tumores, como os transportadores ABCB1, 5 e 8, ABCC1 e 2, ABCD1 e ABCG2. (60–62)

Mais conhecido por glicoproteína P (ou Pgp), o transportador ABCB1 é considerado o principal mediador da multirresistência exibida pelas células tumorais de diversos tipos de cancro. (59,60,62) No melanoma, a sua expressão mostrou-se aumentada em alguns subtipos não cutâneos, como os melanomas oculares (42%) e os localizados no trato uveal (80%) (62), mas o seu papel no melanoma cutâneo foi descoberto limitado, dada a ausência de alterações relevantes na maioria dos respetivos tumores primários e metastáticos. (59,60,62) Por oposição, o transportador ABCB5, um próximo membro da mesma família, é altamente expresso pelos melanócitos cutâneos malignos. A sua abundância provou não só correlacionar-se com a resistência à quimioterapia, mas também com a progressão neoplásica. (59,61,62,64,65) Como resultado, foi sugerido que a sua maior ou menor presença em espécimes de melanoma pudesse ser um marcador molecular para subpopulações de células quimiorresistentes, entre as restantes populações celulares de melanoma. (59,61)

Menos estudada, a subfamília ABCC evidenciou ter a capacidade de conferir resistência a uma larga gama de agentes anticancerígenos e respetivos metabolitos conjugados, por transporte de compostos como a glutatona. (62) O transportador ABCC1, por exemplo, mostrou cooperar com a enzima glutatona-S-transferase (GST) na evasão à citotoxicidade da Vincristina. (60–62)

Na prática, porém, a função da maioria destes transportadores não foi ainda completamente esclarecida relativamente à sua aplicação no melanoma. A atual literatura sugere, portanto, que a sua indução poderá não ser a causa primária de resistência mediada por fármacos no cancro da pele. (60,62)

8.2. Reparação do ADN

Os agentes alquilantes, pela sua parte, integram os fármacos quimioterapêuticos mais largamente usados no tratamento do melanoma avançado. Dada a grande variedade de lesões passíveis de serem introduzidas no ADN por cada um deles, aliada aos múltiplos mecanismos de reparação que podem entrar em ação após a sua indução, a resposta biológica a esta classe de fármacos pode ser bastante complexa. (59,66)

Na sua essência, a posição N7 da guanina representa um dos principais alvos das reações de alquilação, constituindo cerca de 60 a 80% do total das lesões induzidas no ADN. Não possuindo propriedades mutagénicas ou citotóxicas relevantes, no entanto, cede a sua atenção às lesões que estão na origem da O6-metilguanina (O6meG), menos extensivamente geradas, mas consideradas biologicamente apreciáveis, dado o seu célere emparelhamento com as bases de ADN durante a sua replicação para causar muitos dos efeitos atribuídos a agentes alquilantes como a DTIC e a TMZ. (66)

Na **Figura 6** mostra-se o exemplo dos alvos da alquilação induzida pelo ião metildiazónio, o metabolito ativo dos agentes quimioterapêuticos alquilantes mais usados na prática clínica.

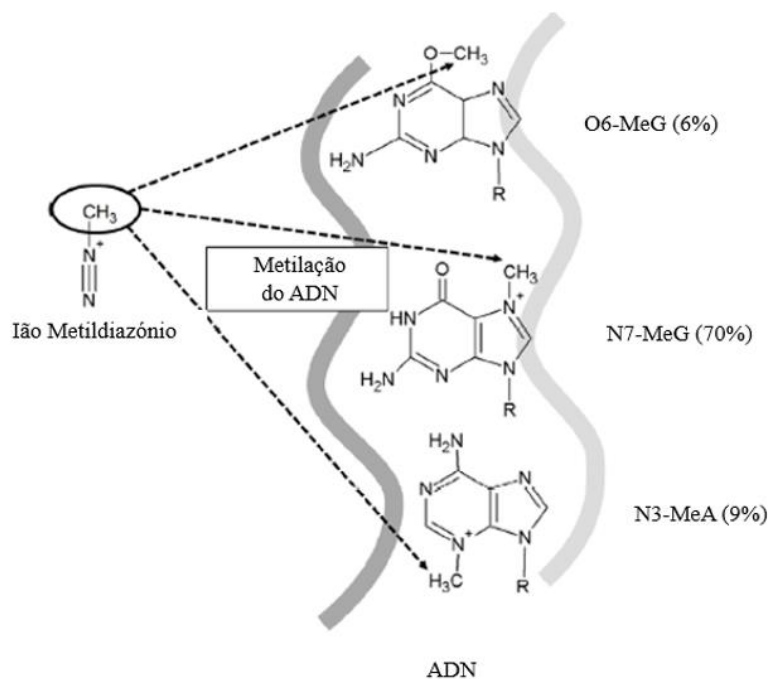


Figura 6 - Lesões Induzidas no ADN por Ação do Ião Metildiazônio [Adaptado de (55)]

A reparação dos aductos O6meG é maioritariamente levada a cabo pela enzima O6-metilguanina-ADN metiltransferase (MGMT). (55,60,66–68) Ao constituir um mecanismo que neutraliza a resposta aos agentes indutores de metilações O6, os níveis de expressão desta enzima demonstram-se diretamente relacionados com as reduzidas respostas a eles associadas, facto que explica a sua frequente elevação em melanomas resistentes à quimioterapia. (52,55,59–61,66)

Observações *in vitro* no âmbito do estudo do glioblastoma – uma forma agressiva de glioma que partilha muitos atributos com o melanoma metastático – evidenciaram, com sucesso, que o aumento da atividade MGMT nas células tumorais as torna mais resistentes aos efeitos citotóxicos da TMZ, comparativamente àquelas com uma atividade mais reduzida. (55)

8.3. Stress Oxidativo e Modulação Enzimática

Em contrapartida, o stress oxidativo está há muito implicado no desenvolvimento e progressão do cancro, não sendo o melanoma uma exceção. (69,70) Em comparação com outros tumores sólidos, os níveis de ROS (*Reactive Oxygen Species*) encontram-se particularmente aumentados nesta doença. (69)

Na premissa de que estímulos oxidativos adicionais ao stress inerente às células tumorais causem o colapso dos seus sistemas antioxidantes e, posteriormente, a morte celular por indução de danos no ADN, proteínas e lípidos essenciais ao seu normal funcionamento, a citotoxicidade de alguns agentes quimioterapêuticos pode, no que lhes diz respeito, também associar-se, em maior ou menor grau, à geração de ROS. (61,69,71)

Para manter níveis de ROS subletais aceitáveis e dar continuação à manutenção do fenótipo tumorigénico, as células cancerígenas exibem, contudo, a capacidade de reforçar rapidamente os seus sistemas antioxidantes. (69,70)

São diversas as moléculas fisiologicamente presentes nos diversos tecidos do organismo que possuem a capacidade de neutralizar diretamente os radicais livres e/ou induzir os meios para corrigir a sua presença inadequada. (69,70) No sistema de defesa antioxidante endógeno, estão envolvidas na neutralização radicalar direta as enzimas superóxido dismutases, as GSTs e as glutathione peroxidases, as catalases, as tioredoxinas e as teoredoxina peroxidases, e as peroredoxinas; moléculas não enzimáticas com propriedades antioxidantes incluem a glutathione (GSH), mas também proteínas associadas ao metabolismo do ferro, como a ferritina, a transferrina e a ceruloplasmina, e outras moléculas de baixo peso molecular, como a coenzima Q e o ácido lipoico. (69)

Equipando-se com esta maquinaria, as células do melanoma poderão usá-la, aparte da sua própria proteção, para manter a produção de espécies reativas e danificar as células e tecidos envolventes, essenciais para a progressão e metastização do tumor primário. (61)

Ainda que os mecanismos de reparação do ADN estejam muito envolvidos na resolução dos danos por ela induzidos, as fracas respostas e as frequentes recidivas tumorais associadas à utilização da TMZ sugerem que outros mecanismos poderão contribuir para a sua fraca eficácia. No glioblastoma, por exemplo, o tratamento com este fármaco começou por demonstrar causar uma alteração efetiva dos níveis de ROS. Todavia, esta resposta viu-se acompanhada pela indução tumoral do fator Nrf2 (*Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2*) (72), considerado o regulador *major* da homeostase das vias antioxidantes, e fundamental na indução da atividade das moléculas e enzimas nelas intervenientes. (69,70) A um inicial aumento da toxicidade oxidativa fomentada pelo anticancerígeno, seguiu-se, assim, a sua destoxificação, e resultante adaptação celular ao novo ambiente, outrora excessivamente agressivo para a sua sobrevivência. (72)

8.4. Alteração das Vias Apoptóticas

Em grande parte, a reduzida sensibilidade celular à quimioterapia pode igualmente dever-se a defeitos nas vias de sinalização da apoptose, uma marca frequente na patogénese do melanoma e da maioria dos restantes cancros. (73)

As vias da apoptose têm na sua base a ativação de diversas caspases, encarregues de degradar os componentes celulares de interesse para que possam ser reconhecidos e eliminados pelas células fagocíticas. Permanecendo na sua forma inativa em condições fisiológicas, são ativadas por uma série de clivagens proteolíticas perante a manifestação de estímulos apoptóticos internos e externos, dos quais a interação dos produtos da atividade das células-patrolha com os recetores de morte individuais expressos nas membranas das células-alvo, ou qualquer outro estímulo de stress (como a danificação do ADN e o stress oxidativo, mas também a privação nutricional e a infeção patogénica). (74)

Os melanócitos, enquanto protetores das células epidérmicas vizinhas, são programados para sobreviver. (61) Entre outros, a sua interação com os queratinócitos conduz à expressão

melanocítica das proteínas da família Bcl-2 (*B-Cell Lymphoma 2*), centrais na manutenção do equilíbrio entre a proliferação e a morte celulares. (61,74) Por sua vez, os membros anti-apoptóticos desta família, como a sua proteína homónima e as proteínas Bcl-xL e Mcl-1 (*Myeloid Cell Leukemia 1*), partilham entre eles o domínio N-terminal BH4, que lhes permite ligar-se aos membros pró-apoptóticos vizinhos, e impedir a sua normal atividade. (74)

9. Novas Abordagens Terapêuticas

Vistas como um mero atraso paliativo na progressão da doença, as dificuldades sentidas com as abordagens tradicionalmente utilizadas noutros tipos de cancro obrigaram a uma rápida mudança de paradigma no tratamento do melanoma metastático avançado. (75)

Estando o melanoma associado a uma das maiores cargas de alterações genéticas de todos os tumores humanos, as várias décadas de pesquisa que se seguiram viram uma oportunidade na sua melhor compreensão e caracterização. (75) A distinção entre aquele que era considerado o normal comportamento tecidual e a fisiopatologia do tumor ocasionou o desenvolvimento das intituladas terapias moleculares direcionadas – pequenas moléculas seletivas para alvos intracelulares críticos nos processos de invasão e proliferação celulares, e com expressões substancialmente alteradas nas células do microambiente tumoral. (76)

Ao mesmo tempo, a descoberta dos princípios básicos por detrás do controlo da imunidade facultou o racional para o desenho de estratégias robustas para o envolvimento ativo do Sistema Imunitário no tratamento do cancro. (77) O recurso a anticorpos monoclonais com elevada afinidade para os domínios extracelulares envolvidos na minoração da resposta imunitária antitumoral impulsionou radicalmente a imunoterapia no tratamento do melanoma metastático. (76)

Os excelentes resultados obtidos em recentes ensaios clínicos de fase III possibilitaram, nas duas vertentes, a aprovação de novos agentes para o tratamento do melanoma irressecável e/ou metastático. Graças a eles, foram finalmente atingidos resultados superiores aos conseguidos com a DTIC, e os objetivos da terapêutica do melanoma passaram da palição para a pequena minoria dos doentes para um controlo efetivo da doença para a maioria. (75)

9.1. Terapias Moleculares Direcionadas

9.1.1. Terapias Direcionadas para as Mutações BRAF

A identificação de mutações acionáveis em genes críticos da via MAPK foi não só um marco importantíssimo no curso da compreensão do melanoma, mas também crucial no tratamento da doença avançada. (33,78) Ao passo que outras mutações começaram por ser consideradas terapeuticamente pouco relevantes, as mutações BRAF revelaram-se alvos capazes de proporcionar estratégias terapêuticas eficazes (33,75), e depressa emergiu o interesse pelo desenvolvimento de inibidores seletivos para as cinases mutadas. (79)

Em agosto de 2011, a aprovação do primeiro inibidor BRAF (iBRAF) pela FDA assinalou o início de uma revolução no tratamento do melanoma irressecável e/ou metastático positivo para a mutação BRAFV600E. (80,81)

O então denominado **Vemurafenib** começou por demonstrar o seu potencial no ensaio BRIM3, onde foi comparado com o habitual regime de DTIC em doentes sem qualquer tratamento prévio. Às Taxas de Resposta Objetivas (ORR) de 48% e 5%, respetivamente, associaram-se uma Sobrevivência Livre de Progressão (PFS) de 5.3 e 1.6 meses, e uma análise da OS (*Overall Survival*) aos 6 meses de 84% e 64%. (82) Aqui, os efeitos adversos mais comuns incluíram náuseas e diarreia, fadiga, artralgia, alopecia, irritações da pele, queratoacantomas ou SCC (*Scamous Cell Carcinoma*) e fotossensibilidade, sendo que todas as toxicidades observadas na pele apresentaram baixo potencial metastático, além de terem regredido, na sua maioria, de forma espontânea ou com recurso à ressecção cirúrgica e/ou outros métodos destrutivos. (80,82) No geral, o novo fármaco permitiu uma redução do risco de mortalidade de cerca de 63% e uma redução de 74% no risco de progressão tumoral, que solidificaram o seu papel no melanoma e fomentaram, no arranque de 2012, a ação da Comissão Europeia noutros 27 países da UE. (81,82)

Já em meados de 2012, os similares resultados obtidos com o **Dabrafenib** apontaram-no como uma alternativa igualmente promissora. (83) Sendo também um iBRAF com eficácia comprovada no tratamento do melanoma metastático BRAFV600E-positivo, partilha com o Vemurafenib a excelente atividade clínica e algumas toxicidades de classe. (83) Entretanto, enquanto a fotossensibilidade se mostra uma manifestação relativamente comum com o último, o mesmo efeito tende a manifestar-se menos com o Dabrafenib, com o qual a pirexia se conhece, ao invés, mais prevalente. (78,83)

Os resultados impressionantes vistos nos doentes com metástases cerebrais ativas envolvidos no ensaio de fase I que antecedeu a aprovação do Dabrafenib motivaram ainda a realização de uma fase II dedicada a essa vertente (BREAK-MB), onde este efeito foi avaliado em metastizações previamente não tratadas, ou com relapso após tratamento. Com sucesso, os resultados deste ensaio levaram à sugestão de que este fármaco pudesse, em combinação com a cirurgia e a radioterapia, ser um bom adjuvante no tratamento das metástases cerebrais, e constituir uma eventual opção de primeira linha nos doentes em que esse aspeto se mostrasse relevante. (83)

Encontram-se na **Figura 7** as estruturas químicas do Vemurafenib e do Dabrafenib.

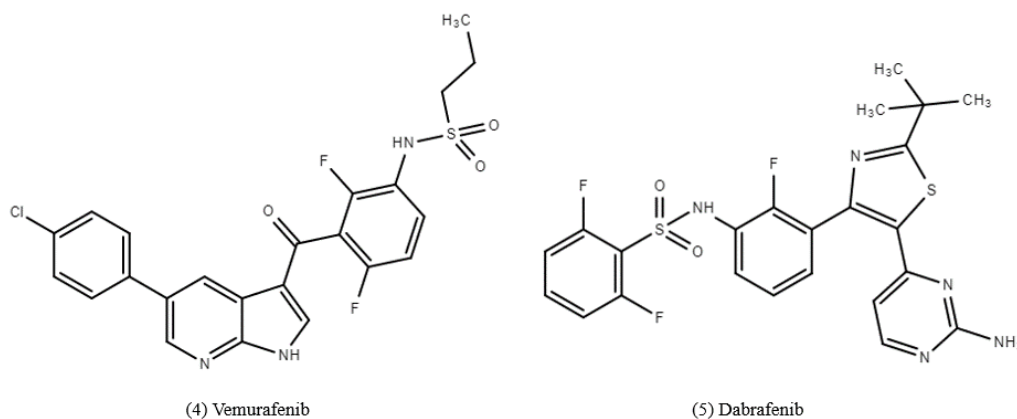


Figura 7 - Estruturas Químicas do Vemurafenib e do Dabrafenib

9.1.2. Inibição BRAF e MEK

Apesar do sucesso generalizado dos novos fármacos, foi observada uma reativação secundária da via MAPK em até 80% dos tumores refratários à sua inibição. (9) À possibilidade de ocorrência de mutações concomitantes às mutações BRAF, acrescentou-se a expressão da isoforma CRAF (*V-Raf-1 Murine Leukemia Viral Oncogene Homolog 1*), que provou poder reduzir a sensibilidade aos iBRAF por interação direta com o MEK, e explicar, ainda, o aparecimento das manifestações secundárias na pele. Por outro lado, foi também documentada a sobreexpressão do próprio MEK ou dos seus ativadores, como a cinase COT. (9,33,79,80,84,85) Como tal, considerou-se o possível efeito sinérgico da inibição MEK (iMEK) com a inibição BRAF, uma vez postulada a sua contribuição enquanto maximizadora da inibição da via MAPK e reconhecido o seu vital papel na prevenção da dessensibilização farmacológica. (79)

A superioridade da combinação iBRAF e iMEK face à monoterapia com os iBRAF foi primeiramente avaliada nos ensaios COMBI-d e COMBI-v, onde a associação do **Dabrafenib com o Trametinib** foi comparada com a utilização do Dabrafenib ou do Vemurafenib em monoterapia, respetivamente. (75,85–87) Em qualquer um dos estudos, o regime de combinação levou à obtenção de respostas entre os 60 e os 70%, PFSs de cerca de 11 meses e taxas de OS superiores a 70%, aos 6 e 12 meses. (88,89) Neste caso, a ação direcionada a duas vias de sinalização paralelas permitiu o controlo da sobreposição das toxicidades de classe. (85) Como reflexo de um grau de inibição MAPK mais profundo, a incidência de queratoacantomas e/ou SCC mostrou-se diminuída, ainda que a pirexia se tenha mantido mais comum no grupo da combinação do que no grupo do Vemurafenib. (78,79,84,87)

O sucesso desta combinação garantiu a sua aprovação pela FDA em 2014, e abriu caminho para a entrada da combinação do **Vemurafenib com o Cobimetinib** no mercado no ano de 2015. (84,90)

Na **Figura 8** mostram-se dispostos cronologicamente os diferentes ensaios clínicos de fase III que estiveram na base da aprovação das primeiras terapias moleculares direcionadas para o tratamento do melanoma avançado.

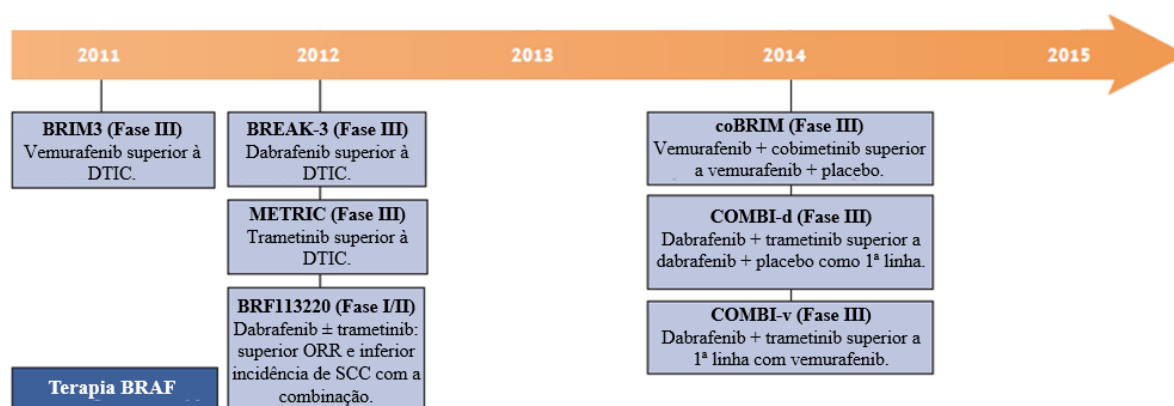


Figura 8 - Linha Temporal da Aprovação das Terapias Direcionadas entre 2011 e 2015
[Adaptado de (75)]

Entretanto, a mais recente combinação a ser aprovada para o tratamento do melanoma de estadio III ou IV mutação BRAFV600E-positivo foi, em 2018, a associação do **iMEK Binimetinib com o iBRAF Encorafenib**. (79,87) Apesar do Encorafenib ter uma potência equivalente à demonstrada pelos fármacos da mesma classe no que concerne as mutações BRAFV600, considerou-se que possuiria a particularidade de ser mais potente contra o BRAF selvagem e a isoforma CRAF. (79,91) Adicionalmente, caracteriza-se por um $t_{1/2}$ de dissociação substancialmente aumentado, que se traduz numa supressão prolongada do alvo. (91) Pressupostas como importantes na mitigação da ativação paradoxal da via MAPK e/ou na indução de mecanismos de resistência face aos seus predecessores (79), estas características foram corroboradas pelos resultados preliminares do ensaio COLUMBUS, onde foram obtidas respostas igualmente otimistas. (87,92)

Incidentemente, a combinação da inibição BRAF com a inibição MEK tornou-se o padrão da terapia dos doentes portadores da mutação BRAFV600E. (75)

9.2. Imunoterapia

Na segunda frente de avanços, foi explorada a imunoterapia. (77)

Depois da aprovação da DTIC pela FDA, seguiu-se, no fim dos anos 90, a aprovação dos imunomoduladores **IL-2** e **IFN- α** . (52,93,94) Capaz de, pela primeira vez, induzir respostas antitumorais por meio das células T (93), a associação de doses elevadas de IL-2 à quimioterapia permitiu não só uma notável diminuição dos episódios de recorrência, como também a cura de alguns subgrupos de doentes. A considerável toxicidade associada à grande maioria dos regimes bioquimioterapêuticos, porém, acabou por vir a limitar a sua utilização e aceitação generalizadas. (52)

A posterior associação do fenómeno de tolerância periférica à evasão das células tumorais ao Sistema Imunitário do hospedeiro e a elucidação da função das moléculas imunorreguladoras nele envolvidas permitiu que as abordagens imunoterapêuticas modernas passassem a recorrer a anticorpos para reforçar a imunidade mediada pelas células T. (75) Os avanços no bloqueio das vias de controlo imunológico mediadas pelos recetores CTLA-4 (*Cytotoxic T Lymphocyte-Associated Protein 4*) e PD-1 (*Programmed Cell Death Protein 1*) motivaram a aprovação de três novos anticorpos monoclonais a eles dirigidos, marcando o início do recente e revigorado sucesso desta área. (95)

Enquanto homólogo do recetor CD28, o CTLA-4, localizado à superfície das células T dos órgãos linfáticos secundários, partilha com ele os seus ligandos, CD80 e CD86 (ou B7-1 e 2). Ao passo que a ligação CD28:B7 induz a produção de citocinas, o aumento do metabolismo energético e a regulação positiva dos genes associados à sobrevivência, a ligação CTLA-4:B7, de alta afinidade, produz um sinal inibitório, que atenua a co-estimulação das células T pelo CD28. (95,96)

O anticorpo monoclonal humano (mAb) IgG1 anti-CTLA-4 **Ipilimumab** foi o primeiro inibidor de pontos de controlo imunitário (ICI) a ser aprovado para o tratamento do melanoma avançado. (93,96) Associado a uma taxa de resposta global de 10.9% e a uma OS de 10.1 meses, com análises a 12, 18 e 24 meses de 45.6%, 33.2% e 23.5%, respetivamente, o mAb mostrou a

sua superioridade face à combinação com a gp100, e à última isolada. Neste caso, os efeitos adversos mais comuns mostraram-se associados à manipulação do Sistema Imunitário, com situações de diarreia e/ou colite, vitiligo e alterações endócrinas (por exemplo, a inflamação da glândula pituitária). (97)

A vasta experiência clínica adquirida com o estudo do Ipilimumab e de outros mAbs anti-CTLA-4 facultou uma base para a estruturação de novas estratégias terapêuticas, e incentivou o desenvolvimento acelerado de outros biofármacos. Neste contexto, foram estabelecidos princípios que frisaram a distinção entre a abordagem ICI e as terapias anticancerígenas tradicionais. (96) Por um lado, foi caracterizada a classe dos efeitos adversos associados à imunidade (irAEs). (77,96) Por outro, foi descrita uma nova categoria de respostas clínicas, assinalada por regressões tumorais duradouras após uma inicial progressão aparente da doença. (96)

Nesta base, surgiram os anticorpos anti-PD-1. (75) Em vez de competir diretamente com o CD28 pela ligação às moléculas B7, o PD-1, localizado no microambiente tumoral, inibe as mesmas respostas por interferência com a sinalização mediada pelo TCR (*T Cell Receptor*), por ligação aos ligandos PD-L1 e PD-L2. (77) Sendo expresso nas células T ativadas, nas células B e nas células mieloides, opera mais tardiamente, permitindo o seu bloqueio a restauração da ativação das células T tumorais que se tornaram quiescentes. (95,96) Ao diminuir a magnitude da resposta mediada pelas células T que já estão a participar na sua fase efetora, o espectro de ativação é mais restrito quando comparado ao bloqueio CTLA-4, proporcionando uma diminuição da incidência de irAEs. (95)

A **Figura 9** compreende uma esquematização das diferentes interações descritas.

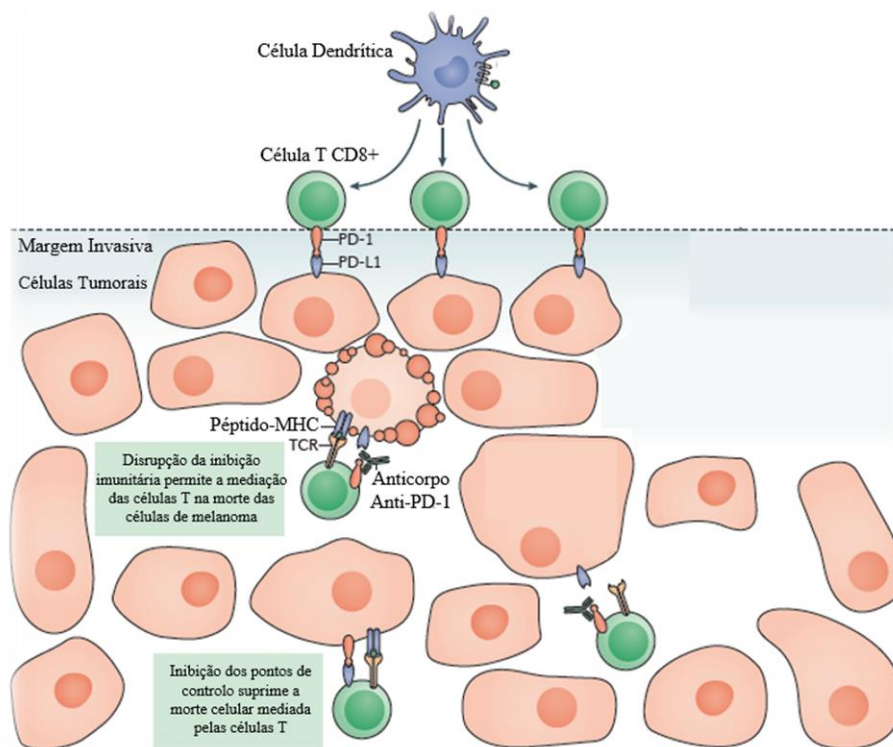


Figura 9 – Interações entre os Recetores PD-1 e as Células T [Adaptado de (75)]

O **Nivolumab**, um mAb anti-PD-1, foi inicialmente comparado com a quimioterapia num par de ensaios que envolveu tanto doentes previamente não tratados (CheckMate 066), como doentes refratários à terapia com Ipilimumab e/ou iBRAFs (CheckMate 037). (78) As respostas variaram entre os 32 e os 40%, com PFSs superiores a 5 meses. No primeiro caso, ao fim de um ano, a taxa de OS foi de cerca de 73%. (98,99) A superioridade comparativamente aos ramos da imunoterapia, aliada à redução da incidência de irAEs face ao Ipilimumab, garantiram a sua aprovação em ambas as indicações em 2014. (78)

Numa tentativa de aumentar o número de doentes a beneficiar da terapia ICI, foi estudada a combinação do **Nivolumab com o Ipilimumab**. (93,94) Como esperado, foram obtidas respostas mais favoráveis com a associação, em comparação com os braços correspondentes a cada fármaco isolado. Ainda que os efeitos adversos associados ao tratamento se tenham manifestado em maior percentagem no braço da combinação (com diarreias, a fadiga e o pruridos relativamente mais comuns) (100), esta combinação acabou também por obter a aprovação da FDA em 2015. (93)

Ainda nesta classe, surgiu o **Pembrolizumab**, que garantiu a sua aprovação acelerada pela FDA como terapia de segunda linha em 2014, mais tarde atualizada para primeira linha em 2015. (78,101)

Na **Figura 10** mostram-se os diferentes ensaios clínicos de fase III que estiveram na base das aprovações na área da imunoterapia para o tratamento do melanoma avançado.

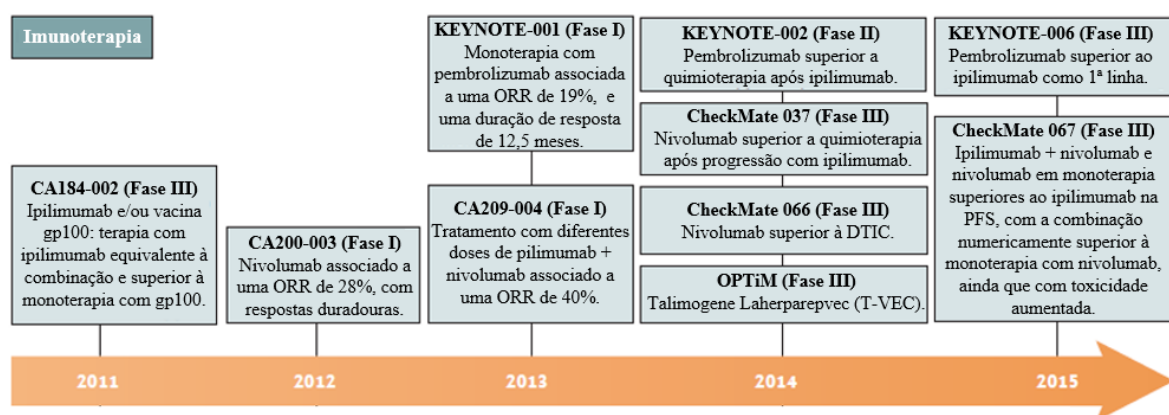


Figura 10 - Linha Temporal da Aprovação das Imunoterapias entre 2011 e 2015 [Adaptado de (75)]

O sucesso da utilização dos ICI estabeleceu a imunoterapia como uma opção terapêutica viável para doentes com cancro avançado. (96)

A atual recomendação para doentes com melanoma avançado BRAF-selvagem passa pela utilização da terapia dupla com Nivolumab e Ipilimumab, em situações de boa tolerabilidade da toxicidade, ou pela monoterapia com Nivolumab ou Pembrolizumab. (87)

9.3. Combinação Terapias Direcionadas-Imunoterapia

No decorrer da última década, foram recolhidas evidências substanciais do benefício das terapias baseadas na inibição BRAF e MEK a curto termo na maioria dos doentes com mutações BRAFV600E. Por outro lado, cerca de 20 e 35% dos restantes doentes com respostas à doença objetivas ou estáveis responderam à combinação anti-CTLA-4/anti-PD-1 e/ou à monoterapia com os anticorpos anti-PD-1, mantendo, de acordo com recentes dados de acompanhamento, o controlo da doença por largos anos. (75)

Surgiu, assim, o interesse pela possibilidade da conjugação das terapias moleculares direcionadas com a imunoterapia, na ambição de que tal associação pudesse tirar partido das elevadas taxas de resposta às primeiras com o controlo da doença a longo termo conseguido com os ICI. (87,93)

O racional para esta combinação vê-se fundamentado em sinais preliminares que sugerem que o tratamento direcionado para as mutações BRAF pode promover um microambiente imunológico favorável à inibição dos alvos da imunoterapia. (86,102) O estudo de séries de biópsias realizadas antes e durante a fase inicial do tratamento de doentes com melanoma BRAF-positivo, por exemplo, revelou que, após a inibição BRAF, há uma elevação da infiltração tumoral de linfócitos T CD8+, aptos para reconhecer e lisar as células cancerígenas. (79,86,102) Adicionalmente, verifica-se uma diminuição de citocinas imunossupressoras como a IL-6 e a IL-8, acompanhada por um aumento da expressão de PD-L1, associada a melhores resultados nos doentes tratados com mAbs anti-PD-1. (79,102)

As primeiras tentativas de combinação com mAbs anti-CTLA-4 como o Ipilimumab resultaram em severa hepatotoxicidade. (102,103) Atualmente, os ensaios clínicos são estruturados para explorar a segurança da administração concomitante e contínua dos inibidores BRAF e/ou MEK com mAbs anti-PD-1. (75)

O KEYNOTE-022 incluiu uma coorte de escalação de dose da combinação tripla do Dabrafenib com o Trametinib e o Pembrolizumab. 73% dos doentes experienciaram efeitos adversos de grau 3/4, dos quais os mais comuns foram a elevação dos testes de função hepática e a pirexia. A maioria, no entanto, foi resolvida com a interrupção da administração ou descontinuação de uma das classes. Ainda que o número de doentes avaliados tenha sido demasiado reduzido para averiguar os benefícios da terapia tripla, a combinação foi considerada uma abordagem fazível e segura no tratamento dos doentes com maus fatores de prognóstico, com respostas eventualmente pouco duradouras perante uma monoterapia. (102,103) Foi também incluída neste ensaio uma coorte de fase II, onde doentes com melanoma BRAF-mutante sem tratamento prévio foram aleatorizados para receber Dabrafenib, Trametinib e Pembrolizumab ou os dois primeiros e um placebo. Apesar de não ter havido uma diferença estatisticamente significativa na OS entre os dois braços, houve uma tendência a favor da combinação experimental, com melhorias na PFS e na duração da resposta. (102)

Na sua fase III, encontram-se a decorrer os ensaios COMBI-i (NCT02967692) (104) e TRILOGY (NCT02908672) (105), nos quais se avalia a combinação do Spartalizumab com o Dabrafenib e o Trametinib, e a combinação do Atezolimumab com o Vemurafenib e o Cobimetinib, respetivamente. (79)

9.4. Talimogene Laherparepvec

Por fim, a recente revolução na tecnologia do ADN recombinante disponibilizou as ferramentas necessárias para o estudo minucioso dos vírus enquanto agentes terapêuticos. (106)

A maioria dos vírus utilizados no tratamento do cancro correspondem a estirpes atenuadas ou, no limite, capazes de infetar e replicar-se no organismo humano sem originar doença grave. (106) Depois de infetarem seletivamente as células tumorais e provocarem a sua lise, desencadeiam a libertação massiva de moléculas imunomoduladoras, que intensificam a resposta imunogénica e ativam o microambiente tumoral, outrora imunossuprimido. (107) O sucesso da viroterapia oncolítica vê-se, portanto, dependente da identificação do vetor e do método de veiculação que melhor se adequem ao sistema imunitário do hospedeiro, ativando-o eficazmente contra as células tumorais. (106)

O reconhecimento do valor do vírus do herpes simples (HSV) enquanto vírus oncolítico constituiu o último grande salto no tratamento de cancros avançados. (106) O **Talimogene Laherparepvec (T-VEC)**, em particular, é um HSV do tipo I recombinante programado para se replicar preferencialmente nas células tumorais, induzir a produção de GM-CSF (*Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor*) e aumentar a carga antigénica do MHC de classe I, em benefício de reforçar a apresentação de antígenos pelas células dendríticas. (93,107,108)

O ensaio OPTIM envolveu a administração intra-lesional de T-VEC ou de GM-CSF por via subcutânea em doentes com melanoma localmente avançado ou metastático, com pelo menos uma lesão cutânea, subcutânea ou nodal e não mais do que três lesões viscerais. De forma geral, a utilização do vírus conduziu a uma maior percentagem de respostas completas (16.9 *versus* 0.7%), associada a uma taxa de controlo da doença de 76.3%. A OS média favoreceu igualmente o braço do T-VEC, atingindo os 23.3 meses, superiores aos 18.9 meses conseguidos com o GM-CSF. Dada a administração localizada, o perfil de toxicidade do agente mostrou-se bastante aceitável, tendo sido descritos como efeitos adversos mais comuns os sintomas de síndrome gripal, como a fadiga e ocasionais arrepios, e a pirexia. (108)

Em 2015, o T-VEC foi o primeiro e único vírus oncolítico a receber a aprovação das Entidades Reguladoras para o tratamento local do melanoma irressecável de estadios IIIB/C ou IVM1a. (87,108)

Ainda que as diretrizes atuais não classifiquem o T-VEC como uma opção terapêutica equivalente às terapias sistémicas no tratamento do melanoma avançado, esta poderá ser uma alternativa de primeira linha para os doentes com metástases irressecáveis e passíveis de serem injetadas, nas quais as últimas não sejam desejadas ou recomendadas. (87)

10. Perspetivas Futuras

Com o desenrolar da prática clínica, a palição a curto termo e a indução de remissões duradouras passaram rapidamente a ser os dois principais objetivos da terapêutica moderna. Todavia, permaneceu por definir a abordagem que melhor permitisse atingi-los. (75)

Há, na verdade, muitos aspetos da biologia do melanoma que carecem de mais atenção pela Comunidade Científica. (84,87)

Fora os fatores genéticos e epigenéticos extensivamente discutidos na literatura, a heterogeneidade e plasticidade do microambiente tumoral foram ultimamente apontadas como possíveis mecanismos de evasão farmacológica alternativos. (109)

O modelo da “troca de fenótipos”, por exemplo, sugere que as células tumorais dispõem da capacidade de alternar dinamicamente entre estados transcricionais proliferativos e não-proliferativos em resposta a sinais de stress provenientes do microambiente tumoral. (109) Ainda que a proliferação desregulada seja considerada a insígnia do cancro, é descrita neste modelo a presença de uma subpopulação celular quiescente (ou *slowcycling*), marcada pela expressão da histona desmetilase JARID1B (*Lysine-Specific Demethylase 5B*), encontrada na base de uma reprogramação mitocondrial que a torna altamente dependente da fosforilação oxidativa. (70,109) Além de beneficiarem de um comportamento estaminal aumentado, com um forte potencial de autorrenovação, a expansão clonal das células *slowcycling* residuais que sobrevivem à fase inicial dos tratamentos anticancerígenos impulsiona o seu enriquecimento no seio tumoral, fomentando a sua adaptação aos elevados níveis de stress induzidos pela ação de fármacos predominantemente eficazes contra células que proliferam rapidamente. (109)

Por outro lado, o MITF atua como um interruptor molecular que determina a entrada nos estados de diferenciação, proliferação ou quiescência celulares. Os fenótipos proliferativos e invasivos das células do melanoma são definidos por níveis elevados ou reduzidos deste fator nuclear, mediante as condições microambientais circundantes. Em resposta a situações de hipoxia e/ou privação de nutrientes, as células de melanoma permutam entre fenótipos proliferativos MITF^{high} e fenótipos invasivos MITF^{low}, que subsistem mutuamente no microambiente tumoral para firmar a sua inerente heterogeneidade. (109)

Uma abordagem combinada entre agentes que eliminem células de proliferação rápida, como os iMAPK, e inibidores da expansão da subpopulação *slowcycling* poderá, assim, ser o próximo grande sucesso na luta contra o melanoma. Correspondentemente, é necessária uma compreensão mais aprofundada da reprogramação metabólica já superficialmente descrita para determinar de que forma as duas vias poderão ser mais eficazmente atacadas, e melhorar os resultados alcançados nos doentes com melanoma recidivante. (70,109)

11. Conclusão

O tratamento sistémico do melanoma metastático conta com várias décadas de História. Desde as primeiras abordagens quimioterapêuticas aos recentes sucessos com as terapias direcionadas, os objetivos terapêuticos da doença sofreram uma mudança surpreendente, tendo sido alcançadas melhorias profundas na Saúde dos doentes avançados.

No decorrer desta jornada, o recurso a regimes de combinação de fármacos com mecanismos de ação complementares para colmatar as lacunas na eficácia atribuídas à dessensibilização tumoral revelou-se um ponto transversal às várias frentes de atuação.

Apesar das limitações inicialmente enfrentadas com a associação dos agentes citotóxicos tradicionais, esta estratégia mostrou-se visivelmente benéfica na inibição BRAF e MEK conjunta, permitindo não só a obtenção de respostas mais robustas face à monoterapia, mas também a redução das manifestações secundárias decorrentes da reativação da via MAPK. Ainda que com diferentes implicações toxicológicas, a superioridade da associação acabou, inevitavelmente, por se verificar também para os anticorpos monoclonais anti-CTLA-4 e anti-PD-1.

Os últimos resultados sugerem que as terapias combinadas poderão ser a resposta para o alcance de soluções eficazes a longo prazo.

Neste momento, estão em curso vários ensaios clínicos para avaliar a exequibilidade da administração sequencial de inibidores BRAF, MEK e mAbs anti-PD-1. As conclusões deles retiradas serão essenciais para traduzir esta visão na prática clínica, e fundamentar a padronização dos regimes de agendamento e sequenciação que melhor permitam usufruir destas associações.

Referências Bibliográficas

1. Key Statistics for Melanoma Skin Cancer [Internet]. [cited 2022 May 8]. Available from: <https://www.cancer.org/cancer/melanoma-skin-cancer/about/key-statistics.html>
2. International Agency for Reserch on Cancer. Melanoma of skin ASR. Glob Cancer Obs [Internet]. 2020;1–2. Available from: http://globocan.iarc.fr/old/bar_sex_site.asp?selection=16120&title=Melanoma+of+skin&statistic=2&populations=6&>window=1&grid=1&color1=5&color1e=&color2=4&color2e=&submit=Execute
3. Kawada A. Risk and preventive factors for skin phototype. *J Dermatol Sci*. 2000;23(SUPPL. 1):27–9.
4. Roberts WE. Skin Type Classification Systems Old and New. *Dermatol Clin* [Internet]. 2009;27(4):529–33. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.det.2009.08.006>
5. Erlich TH, Fisher DE. Pathways in melanoma development. *G Ital di Dermatologia e Venereol*. 2018;153(1):68–76.
6. Lee C, Collichio F, Ollila D, Moschos S. Historical review of melanoma treatment and outcomes. *Clin Dermatol* [Internet]. 2013;31(2):141–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clindermatol.2012.08.015>
7. Rebecca VW, Sondak VK, Smalley KSM. A brief history of melanoma. *Melanoma Res*. 2012;22(2):114–22.
8. Redondo P, Ribeiro M, Lopes M, Borges M, Gonçalves FR. Holistic view of patients with melanoma of the skin: How can health systems create value and achieve better clinical outcomes? *Ecancermedicalsecience*. 2019;13.
9. Kozar I, Margue C, Rothengatter S, Haan C, Kreis S. Many ways to resistance: How melanoma cells evade targeted therapies. *Biochim Biophys Acta - Rev Cancer* [Internet]. 2019;1871(2):313–22. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2019.02.002>
10. Code A. Copy of Young - Wheater_s Functional Histology, A Text and Colour Atlas, 6th Edition.
11. Belokhvostova D, Berzanskyte I, Cujba AM, Jowett G, Marshall L, Prueller J, et al. Homeostasis, regeneration and tumour formation in the mammalian epidermis. *Int J Dev Biol*. 2018;62(6–8):571–82.
12. Hoath SB, Leahy DG. The Organization of Human Epidermis: Functional Epidermal Units and Phi Proportionality. *J Invest Dermatol* [Internet]. 2003;121(6):1440–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1523-1747.2003.12606.x>
13. Skin Anatomy [Internet]. [cited 2022 Jun 11]. Available from: <https://thancguide.org/cancer-types/skin/anatomy/>
14. Premi S, Wallisch S, Mano CM, Weiner AB, Bacchiocchi A, Wakamatsu K, et al. Chemiexcitation of melanin derivatives induces DNA photoproducts long after UV exposure. *Science (80-)*. 2015;347(6224):842–7.
15. Ohbayashi N, Fukuda M. Recent advances in understanding the molecular basis of melanogenesis in melanocytes. *F1000Research*. 2020;9:1–10.

16. Review I. Keratinocyte – Melanocyte Interactions During Melanosome Transfer. 2001;(5):236–42.
17. Davis LE, Shalin SC, Tackett AJ. Current state of melanoma diagnosis and treatment. *Cancer Biol Ther* [Internet]. 2019;20(11):1366–79. Available from: <https://doi.org/10.1080/15384047.2019.1640032>
18. Yamaguchi Y, Hearing VJ. Melanocytes and their diseases. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2014;4(5):1–18.
19. Sample A, He YY. Mechanisms and prevention of UV-induced melanoma. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2018;34(1):13–24.
20. Morgan AM, Lo J, Fisher DE. How does pheomelanin synthesis contribute to melanomagenesis?: Two distinct mechanisms could explain the carcinogenicity of pheomelanin synthesis. *BioEssays*. 2013;35(8):672–6.
21. Suozzi K, Turban J, Girardi M. Cutaneous photoprotection: A review of the current status and evolving strategies. *Yale J Biol Med*. 2020;93(1):55–67.
22. Khan AQ, Travers JB, Kemp MG. Roles of UVA radiation and DNA damage responses in melanoma pathogenesis. *Environ Mol Mutagen* [Internet]. 2018 Jun;59(5):438–60. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/em.22176>
23. Leonardi GC, Falzone L, Salemi R, Zanghì A, Spandidos DA, Mccubrey JA, et al. Cutaneous melanoma: From pathogenesis to therapy (Review). *Int J Oncol*. 2018;52(4):1071–80.
24. UV Rays Explained and How They Affect Your Skin [Internet]. [cited 2022 Jun 11]. Available from: <https://www.solbari.co.uk/blogs/solbari-blog/uv-rays-explained-and-how-they-affect-your-skin>
25. Bertrand JU, Steingrimsson E, Jouenne F, Bressac-De Paillerets B, Larue L. Melanoma risk and melanocyte biology. *Acta Derm Venereol*. 2020;100(100-year theme Skin malignancies):272–83.
26. Landi MT, Bishop DT, MacGregor S, Machiela MJ, Stratigos AJ, Ghiorzo P, et al. Genome-wide association meta-analyses combining multiple risk phenotypes provide insights into the genetic architecture of cutaneous melanoma susceptibility. *Nat Genet* [Internet]. 2020 May 27;52(5):494–504. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41588-020-0611-8>
27. Toussi A, Mans N, Welborn J, Kiuru M. Germline mutations predisposing to melanoma. *J Cutan Pathol* [Internet]. 2020 Jul 11;47(7):606–16. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cup.13689>
28. Gruis NA, Van der Velden PA, Bergman W, Frants RR. Familial melanoma; CDKN2A and beyond. *J Investig Dermatology Symp Proc* [Internet]. 1999;4(1):50–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.jidsp.5640181>
29. Soura E, Eliades PJ, Shannon K, Stratigos AJ, Tsao H. Hereditary melanoma: Update on syndromes and management. *J Am Acad Dermatol* [Internet]. 2016 Mar;74(3):395–407. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0190962215021088>
30. Truderung OA, Sagi JC, Semsei AF, Szalai C. Melanoma susceptibility: an update on genetic and epigenetic findings. *Int J Mol Epidemiol Genet* [Internet]. 2021;12(5):71–

89. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34853632> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC8611230>
31. Leachman SA, Lucero OM, Sampson JE, Cassidy P, Bruno W, Queirolo P, et al. Identification, genetic testing, and management of hereditary melanoma. *Cancer Metastasis Rev.* 2017;36(1):77–90.
 32. Chudnovsky Y, Khavari PA, Adams AE. Melanoma genetics and the development of rational therapeutics. *J Clin Invest.* 2005;115(4):813–24.
 33. Alqathama A. BRAF in malignant melanoma progression and metastasis: potentials and challenges. *Am J Cancer Res* [Internet]. 2020;10(4):1103–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32368388> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC7191094>
 34. Mehnert JM, Kluger HM. Driver mutations in melanoma: Lessons learned from bench-to-bedside studies. *Curr Oncol Rep.* 2012;14(5):449–57.
 35. Thomas NE, Edmiston SN, Alexander A, Millikan RC, Groben PA, Hao H, et al. Number of nevi and early-life ambient UV exposure are associated with BRAF-mutant melanoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007;16(5):991–7.
 36. Lopez-Bergami P, Fitchman B, Ronai Z. Understanding signaling cascades in melanoma. *Photochem Photobiol.* 2008;84(2):289–306.
 37. Michielin O, Van Akkooi ACJ, Ascierto PA, Dummer R, Keilholz U. Cutaneous melanoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* [Internet]. 2019;30(12):1884–901. Available from: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz411>
 38. Marghoob NG, Liopyris K, Jaimes N. Dermoscopy: A review of the structures that facilitate melanoma detection. *J Am Osteopath Assoc.* 2019;119(6):380–90.
 39. Ferris LK, Harris RJ. New Diagnostic Aids for Melanoma. *Dermatol Clin.* 2012;30(3):535–45.
 40. Melanoma Detection: The ABCDE Rule [Internet]. [cited 2022 Jun 11]. Available from: <https://www.reidhealth.org/blog/melanoma-detection-the-abcde-rule>
 41. Claridge E, Cotton S, Moncrieff M, Hall P. Spectrophotometric Intracutaneous Imaging (Siascopy): Method and Clinical Applications E. *Handb Non-Invasive Methods Ski.* 2006;315–25.
 42. Keung EZ, Gershenwald JE. The eighth edition American Joint Committee on Cancer (AJCC) melanoma staging system: implications for melanoma treatment and care. *Expert Rev Anticancer Ther* [Internet]. 2018 Aug 3;18(8):775–84. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14737140.2018.1489246>
 43. Keung E, Balch C, Gershenwald J, Halpern A. Key changes in the AJCC Eighth Edition Melanoma Staging System. *Melanoma Lett.* 2018;36(1):1–9.
 44. Balch CM, Murad TM, Soong SJ, Ingalls AL, Halpern NB, Maddox WA. A multifactorial analysis of melanoma: prognostic histopathological features comparing Clark's and Breslow's staging methods. *Ann Surg.* 1978;188(6):732–42.
 45. Ogata D, Namikawa K, Takahashi A, Yamazaki N. A review of the AJCC melanoma

- staging system in the TNM classification (eighth edition). *Jpn J Clin Oncol*. 2021;51(5):671–4.
46. Compton LA, Murphy GF, Lian CG. Diagnostic Immunohistochemistry in Cutaneous Neoplasia: An Update. *Dermatopathology*. 2015;2(1):15–42.
 47. Ohsie SJ, Sarantopoulos GP, Cochran AJ, Binder SW. Immunohistochemical characteristics of melanoma. *J Cutan Pathol*. 2008;35(5):433–44.
 48. Bhatia S, Tykodi SS, Thompson JA. Treatment of metastatic melanoma: An overview. *Oncology*. 2009;23(6):488–96.
 49. Garbe C, Amaral T, Peris K, Hauschild A, Arenberger P, Bastholt L, et al. European consensus-based interdisciplinary guideline for melanoma. Part 2: Treatment – Update 2019. *Eur J Cancer*. 2020;126:159–77.
 50. Sbn W. Sentinel Node Biopsy Procedure What is a sentinel node biopsy ?
 51. DeVita VT, Chu E. A history of cancer chemotherapy. *Cancer Res*. 2008;68(21):8643–53.
 52. Gogas HJ, Kirkwood JM, Sondak VK. Chemotherapy for metastatic melanoma: Time for a change? *Cancer*. 2007;109(3):455–64.
 53. Kim C, Lee CW, Kovacic L, Shah A, Klasa R, Savage KJ. Long-Term Survival in Patients with Metastatic Melanoma Treated with DTIC or Temozolomide. *Oncologist*. 2010;15(7):765–71.
 54. Luke JJ, Schwartz GK. Chemotherapy in the management of advanced cutaneous malignant melanoma. *Clin Dermatol [Internet]*. 2013 May;31(3):290–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>
 55. Ortiz R, Perazzoli G, Cabeza L, Jiménez-Luna C, Luque R, Prados J, et al. Temozolomide: An Updated Overview of Resistance Mechanisms, Nanotechnology Advances and Clinical Applications. *Curr Neuropharmacol*. 2020;19(4):513–37.
 56. Lee RJ, Ul-Ain-Tariq N, Fusi A, Bowyer S, Lorigan P. The role of chemotherapy in the modern management of melanoma. *Melanoma Manag*. 2014;1(2):173–84.
 57. Lombardi G, Farina P, Della Puppa A, Cecchin D, Pambuku A, Bellu L, et al. An overview of fotemustine in high-grade gliomas: From single agent to association with bevacizumab. *Biomed Res Int*. 2014;2014.
 58. Wang L, Zhao X, Fu J, Xu W, Yuan J. The Role of Tumour Metabolism in Cisplatin Resistance. *Front Mol Biosci*. 2021;8(June):1–13.
 59. Wu S, Singh RK. Resistance to chemotherapy and molecularly targeted therapies: rationale for combination therapy in malignant melanoma. *Curr Mol Med [Internet]*. 2011 Oct;11(7):553–63. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>
 60. Kalal BS, Upadhyaya D, Pai VR. Chemotherapy resistance mechanisms in advanced skin cancer. *Oncol Rev*. 2017;11(1):19–25.
 61. Castillo J, Galvonas M. Melanoma: Treatments and Resistance. *Melanoma - From Early Detect to Treat*. 2013;(June).

62. Chen KG, Valencia JC, Gillet J-P, Hearing VJ, Gottesman MM. Involvement of ABC transporters in melanogenesis and the development of multidrug resistance of melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res* [Internet]. 2009 Dec;22(6):740–9. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1755-148X.2009.00630.x>
63. Lage H. Gene therapeutic approaches to overcome ABCB1-mediated drug resistance. *Recent Results Cancer Res*. 2016;209:87–94.
64. Sana G, Madigan JP, Gartner JJ, Fourrez M, Lin J, Qutob N, et al. Exome Sequencing of ABCB5 Identifies Recurrent Melanoma Mutations that Result in Increased Proliferative and Invasive Capacities. *J Invest Dermatol* [Internet]. 2019 Sep;139(9):1985-1992.e10. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022202X19313302>
65. Keniya M V., Holmes AR, Niimi M, Lamping E, Gillet JP, Gottesman MM, et al. Drug resistance is conferred on the model yeast *Saccharomyces cerevisiae* by expression of full-length melanoma-associated human ATP-binding cassette transporter ABCB5. *Mol Pharm*. 2014;11(10):3452–62.
66. Fu D, Calvo J a, Samson LD. SERIES: Genomic instability in cancer Balancing repair and tolerance of DNA damage caused by alkylating agents. *Nat Rev Cancer* [Internet]. 2013;12(2):104–20. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3586545&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
67. Ma S, Egyházi S, Ueno T, Lindholm C, Kreklau EL, Stierner U, et al. O6-methylguanine-DNA-methyltransferase expression and gene polymorphisms in relation to chemotherapeutic response in metastatic melanoma. *Br J Cancer*. 2003;89(8):1517–23.
68. Erice O, Smith MP, White R, Goicoechea I, Barriuso J, Jones C, et al. MGMT expression predicts parp-mediated resistance to temozolomide. *Mol Cancer Ther*. 2015;14(5):1236–46.
69. Pizzimenti S, Ribero S, Cucci MA, Grattarola M, Monge C, Dianzani C, et al. Oxidative stress-related mechanisms in melanoma and in the acquired resistance to targeted therapies. *Antioxidants*. 2021;10(12).
70. Arslanbaeva LR, Santoro MM. Adaptive redox homeostasis in cutaneous melanoma. *Redox Biol* [Internet]. 2020;37(October):101753. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101753>
71. Traverso N, Ricciarelli R, Nitti M, Marengo B, Furfaro AL, Pronzato MA, et al. Role of glutathione in cancer progression and chemoresistance. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013.
72. Rocha CRR, Kajitani GS, Quinet A, Fortunato RS, Menck CFM. NRF2 and glutathione are key resistance mediators to temozolomide in glioma and melanoma cells. *Oncotarget*. 2016;7(30):48081–92.
73. Lee EF, Harris TJ, Tran S, Evangelista M, Arulananda S, John T, et al. BCL-XL and MCL-1 are the key BCL-2 family proteins in melanoma cell survival. *Cell Death Dis* [Internet]. 2019;10(5). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41419-019-1568-3>
74. Lucianò AM, Pérez-Oliva AB, Mulero V, Bufalo D Del. Bcl-xl: A focus on melanoma pathobiology. *Int J Mol Sci*. 2021;22(5):1–17.

75. Luke JJ, Flaherty KT, Ribas A, Long G V. Targeted agents and immunotherapies: optimizing outcomes in melanoma. *Nat Rev Clin Oncol* [Internet]. 2017 Aug 4;14(8):463–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.43>
76. AL-Busairi W, Khajah M. The Principles behind Targeted Therapy for Cancer Treatment. *Tumor Progress Metastasis*. 2020;1–22.
77. Sharma P, Allison JP. Immune Checkpoint Targeting in Cancer Therapy: Toward Combination Strategies with Curative Potential. *Cell* [Internet]. 2015 Apr;161(2):205–14. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867415003177>
78. Sarkisian S, Nair S, Sharma R. Current Clinical Trials in the Treatment of Advanced Melanomas. *Surg Clin North Am*. 2020;100(1):201–8.
79. Subbiah V, Baik C, Kirkwood JM. Clinical Development of BRAF plus MEK Inhibitor Combinations. *Trends in Cancer* [Internet]. 2020;6(9):797–810. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2020.05.009>
80. Ascierto PA, Kirkwood JM, Grob J-J, Simeone E, Grimaldi AM, Maio M, et al. The role of BRAF V600 mutation in melanoma. *J Transl Med* [Internet]. 2012 Dec 3;10(1):85. Available from: <https://translational-medicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/1479-5876-10-85>
81. Kim A, Cohen MS. The discovery of vemurafenib for the treatment of BRAF-mutated metastatic melanoma. *Expert Opin Drug Discov* [Internet]. 2016 Sep 23;11(9):907–16. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17460441.2016.1201057>
82. Chapman PB, Hauschild A, Robert C, Haanen JB, Ascierto P, Larkin J, et al. Improved Survival with Vemurafenib in Melanoma with BRAF V600E Mutation. *N Engl J Med*. 2011;364(26):2507–16.
83. Menzies AM, Long G V., Murali R. Dabrafenib and its potential for the treatment of metastatic melanoma. *Drug Des Devel Ther*. 2012;6:391–405.
84. Arozarena I, Wellbrock C. Overcoming resistance to BRAF inhibitors. *Ann Transl Med*. 2017;5(19):1–12.
85. Sullivan R, LoRusso P, Boerner S, Dummer R. Achievements and Challenges of Molecular Targeted Therapy in Melanoma. *Am Soc Clin Oncol Educ B*. 2015;(35):177–86.
86. Cohen J V, Sullivan RJ. Developments in the space of new MAPK pathway inhibitors for BRAF-mutant melanoma [Internet]. Vol. 25, *Clinical Cancer Research*. 2019. p. 5735–42. Available from: <http://clincancerres.aacrjournals.org/lookup/doi/10.1158/1078-0432.CCR-18-0836>
87. Steininger J, Gellrich FF, Schulz A, Westphal D, Beissert S, Meier F. Systemic therapy of metastatic melanoma: On the road to cure. *Cancers (Basel)*. 2021;13(6):1–28.
88. Long G V., Stroyakovskiy D, Gogas H, Levchenko E, de Braud F, Larkin J, et al. Combined BRAF and MEK Inhibition versus BRAF Inhibition Alone in Melanoma. *N Engl J Med*. 2014;371(20):1877–88.
89. Robert C, Karaszewska B, Schachter J, Rutkowski P, Mackiewicz A, Stroiakovski D, et al. Improved Overall Survival in Melanoma with Combined Dabrafenib and Trametinib.

- N Engl J Med. 2015;372(1):30–9.
90. Larkin J, Ascierto PA, Dréno B, Atkinson V, Liskay G, Maio M, et al. Combined Vemurafenib and Cobimetinib in BRAF -Mutated Melanoma . N Engl J Med. 2014;371(20):1867–76.
 91. Koelblinger P, Thuerigen O, Dummer R. Development of encorafenib for BRAF-mutated advanced melanoma. *Curr Opin Oncol*. 2018;30(2):125–33.
 92. Dummer R, Ascierto PA, Gogas HJ, Arance A, Mandala M, Liskay G, et al. Encorafenib plus binimetinib versus vemurafenib or encorafenib in patients with BRAF-mutant melanoma (COLUMBUS): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* [Internet]. 2018;19(5):603–15. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30142-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30142-6)
 93. Leonardi GC, Candido S, Falzone L, Spandidos DA, Libra M. Cutaneous melanoma and the immunotherapy revolution (Review). *Int J Oncol*. 2020;57(3):609–18.
 94. Ralli M, Botticelli A, Visconti IC, Angeletti D, Fiore M, Marchetti P, et al. Immunotherapy in the Treatment of Metastatic Melanoma: Current Knowledge and Future Directions. *J Immunol Res*. 2020;2020.
 95. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 pathways similarities, differences, and implications of their inhibition. *Am J Clin Oncol Cancer Clin Trials*. 2016;39(1):98–106.
 96. Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. Immune Checkpoint Blockade: A Common Denominator Approach to Cancer Therapy. *Cancer Cell* [Internet]. 2015 Apr;27(4):450–61. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1535610815000896>
 97. Hodi FS, O’Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, et al. Improved Survival with Ipilimumab in Patients with Metastatic Melanoma. *N Engl J Med* [Internet]. 2010 Aug 19;363(8):711–23. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa1003466>
 98. Weber JS, D’Angelo SP, Minor D, Hodi FS, Gutzmer R, Neyns B, et al. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): A randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2015;16(4):375–84.
 99. Robert C, Long G V., Brady B, Dutriaux C, Maio M, Mortier L, et al. Nivolumab in Previously Untreated Melanoma without BRAF Mutation . N Engl J Med. 2015;372(4):320–30.
 100. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Jacques Grob J, Lao CD, Schadendorf D, et al. Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Previously Untreated Melanoma Corresponding authors. *N Engl J Med*. 2015;373(1):23–34.
 101. Schachter J, Ribas A, Long G V., Arance A, Grob JJ, Mortier L, et al. Pembrolizumab versus ipilimumab for advanced melanoma: final overall survival results of a multicentre, randomised, open-label phase 3 study (KEYNOTE-006). *Lancet* [Internet]. 2017;390(10105):1853–62. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31601-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31601-X)
 102. Naderi-Azad S, Sullivan R. The potential of BRAF-targeted therapy combined with immunotherapy in melanoma. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2020;20(2):131–6.

103. Ribas A, Lawrence D, Atkinson V, Agarwal S, Miller WH, Carlino MS, et al. Combined BRAF and MEK inhibition with PD-1 blockade immunotherapy in BRAF-mutant melanoma. *Nat Med.* 2019;25(6):936–40.
104. ClinicalTrials.gov. A Study of the Anti-PD1 Antibody PDR001, in Combination With Dabrafenib and Trametinib in Advanced Melanoma (COMBI-i) [Internet]. [cited 2022 Apr 30]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02967692>
105. ClinicalTrials.gov. A Study of Atezolizumab Plus Cobimetinib and Vemurafenib Versus Placebo Plus Cobimetinib and Vemurafenib in Previously Untreated BRAFv600 Mutation-Positive Patients With Metastatic or Unresectable Locally Advanced Melanoma [Internet]. [cited 2022 Apr 30]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02908672>
106. Mondal M, Guo J, He P, Zhou D. Recent advances of oncolytic virus in cancer therapy. *Hum Vaccines Immunother* [Internet]. 2020;16(10):2389–402. Available from: <https://doi.org/10.1080/21645515.2020.1723363>
107. Trager MH, Geskin LJ, Saenger YM. Oncolytic Viruses for the Treatment of Metastatic Melanoma. *Curr Treat Options Oncol.* 2020;21(4):1–16.
108. Ferrucci PF, Pala L, Conforti F, Cocorocchio E. Talimogene Laherparepvec (T-VEC): An Intralesional Cancer Immunotherapy for Advanced Melanoma. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2021 Mar 18;13(6):1383. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6694/13/6/1383>
109. Ahmed F, Haass NK. Microenvironment-driven dynamic heterogeneity and phenotypic plasticity as a mechanism of melanoma therapy resistance. *Front Oncol.* 2018;8(MAY):1–7.

Anexos

Anexo 1 - Níveis de Estadiamento AJCC (8ª Edição) [Adaptado de (42,43,45)]

Níveis AJCC		Descrição
T	Tis	Melanoma <i>in situ</i> , sem componente invasiva.
	T0	Sem evidência de tumor primário.
	T1a	Tumor com <0.8 mm de espessura, sem ulceração.
	T1b	Tumor com <0.8 mm de espessura, com ulceração, ou com 0.8-1.0 mm de espessura, com ou sem ulceração.
	TX	A espessura do tumor não pode ser determinada ou não há informação relativamente à categoria T para o tumor primário.
N	N0	Sem evidência de metástases nodulares linfáticas regionais.
	N1	Presença de um nódulo com tumor ou metástases microssatélite, satélite ou em-trânsito.
	N2	Presença de dois ou três nódulos com tumor e/ou metástases microssatélite, satélite ou em-trânsito com um nódulo com tumor.
	N3	Presença de quatro ou mais nódulos com tumor ou metástases microssatélite, satélite e/ou em-trânsito com dois ou mais nódulos com tumor.
M	M0	Sem evidência de metástases distantes.
	M1a	Presença de metástases distantes não-viscerais (cutâneas, subcutâneas ou nodulares).
	M1b	Presença de metástases no pulmão.
	M1c	Presença de metástases distantes viscerais que não no Sistema Nervoso Central.
	M1d	Presença de metástases distantes no Sistema Nervoso Central, com ou sem outros locais distantes da doença.