

**A.C. CAMARGO CANCER CENTER
FUNDAÇÃO ANTÔNIO PRUDENTE**

VICTOR CARMINE DE SIERVI

**AVALIAÇÃO DA APLICABILIDADE DA EXPRESSÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DO KI-67
COMO FATOR PROGNÓSTICO EM MELANOMA CUTÂNEO**

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

Área de Concentração: Oncologia

Orientador: Dr. Clóvis Antonio Lopes Pinto

São Paulo

2025

De Siervi, Victor Carmine.

Avaliação da aplicabilidade da expressão imuno-histoquímica do Ki-67 como fator prognóstico em melanoma cutâneo. / Victor Carmine De Siervi. São Paulo, 2025.

78f.

**Dissertação de Mestrado - Fundação Antônio Prudente.
Curso de Pós-Graduação em Ciências - Área de concentração:
Oncologia.**

Orientador: Clóvis Antonio Lopes Pinto.

1. Melanoma maligno cutâneo, 2. Antígeno Ki-67, 3. Análise de Sobrevida

CDU 616

Nome: Victor Carmine De Siervi

Título: Avaliação da aplicabilidade da expressão imuno-histoquímica do Ki-67 como fator prognóstico em melanoma cutâneo

Aprovado em: 24/04/2025

Banca Examinadora

Orientador: Clóvis Antônio Lopes Pinto

Instituição: Fundação Antônio Prudente

Membro da Banca: João Pedreira Duprat Neto

Instituição: Fundação Antônio Prudente

Membro da Banca: Juliana Casagrande Tavoloni Braga

Instituição: Fundação Antônio Prudente

Membro da Banca: Mariana Petaccia de Macedo

Instituição: Rede D'Or São Luiz

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha profunda gratidão ao **AC Camargo Cancer Center**, onde tive a honra de me formar em Cirurgia Oncológica. Ser parte da maior instituição de oncologia da América Latina proporcionou-me um aprendizado inestimável, e sou imensamente grato por todas as oportunidades e apoios recebidos durante minha residência e pós-graduação.

Ao **Dr. Eduardo Bertolli**, meu orientador inicial e amigo, reconheço sua influência fundamental na idealização deste projeto de mestrado. Sua paixão pela ciência e incentivo constante para nos mantermos atualizados cientificamente foram inspirações contínuas.

Ao **Dr. Clovis Pinto**, meu orientador final, agradeço por sua constante solicitude, disposição em ensinar e orientação ao longo de toda a trajetória na pós-graduação.

Minha gratidão ao **Dr. Matheus Lobo**, preceptor e grande amigo, que esteve ao meu lado desde a residência até a pós-graduação. Sua ajuda no desenvolvimento deste trabalho e na análise estatística dos dados foi essencial.

Ao **Dr. João Duprat** e a todo o departamento de Oncologia Cutânea do **AC Camargo Cancer Center**, sou grato por cultivarem em mim, durante a residência, o interesse pela área e por continuarem a me ensinar ao longo da minha vida profissional. É uma honra tê-los como referências e saber que posso contar com vocês a qualquer momento.

Às minhas amigas **Livia Proa Felipe** e **Rebeca Hara Nahime**, meu trio que compartilhou todas as batalhas da residência e trabalhou arduamente ao meu lado na coleta de dados para este trabalho, expresso todo o meu agradecimento e carinho. Estaremos sempre juntos.

Ao **Dr. Miguel Brandão**, **Dr. Guilherme Ritt** e a todos os colegas de equipe da Clínica AMO e das Obras Sociais Irmã Dulce, agradeço por me acolherem no retorno a Salvador/BA, por me adotarem e por me ensinarem diariamente a ser um profissional e ser humano melhor.

Por último, e mais importante, agradeço a **Deus** e à minha **família**. À minha esposa **Gabriella De Siervi** e à minha filha **Valentina De Siervi**, que compreenderam minhas ausências durante este período, sou eternamente grato pelo amor e apoio incondicionais. Aos meus **pais, irmãos e tios**, agradeço por tudo pois sei que cada conquista de hoje é fruto do investimento e amor que vocês me proporcionaram ao longo da vida.

" Senhor nosso Deus, lembrados de vossa filha, a Santa Dulce dos Pobres, cujo coração ardia de amor por vós e pelos irmãos, particularmente os pobres e excluídos, nós vos pedimos: dai-nos idêntico amor pelos necessitados; renovai nossa fé e nossa esperança e concedei-nos, a exemplo desta vossa filha, viver como irmãos, buscando diariamente a santidade, para sermos autênticos discípulos missionários de vosso Filho Jesus. Amém."

Oração a Santa Dulce dos Pobres

RESUMO

De Siervi, VC. **Avaliação da aplicabilidade da expressão imuno-histoquímica do Ki-67 como fator prognóstico em melanoma cutâneo.** [Dissertação]. São Paulo: Fundação Antonio Prudente, 2025

Introdução: Melanoma, responsável por cerca de 1% das neoplasias cutâneas, é um dos tumores mais letais, com prognóstico dependente de fatores como espessura tumoral e ulceração. Ki-67, uma proteína nuclear que indica a atividade proliferativa celular, é um marcador prognóstico independente em várias neoplasias. Estudos sugerem uma relação entre Ki-67 e o prognóstico do melanoma, mas os dados são contraditórios. **Objetivos:** Avaliar a relação entre a porcentagem de expressão de Ki-67, determinada por imunohistoquímica, e os desfechos clínicos em melanoma cutâneo, incluindo sobrevida global e livre de recorrência, além de investigar sua associação com o risco de metástase linfonodal. **Metodologia:** Estudo observacional de coorte retrospectiva com pacientes diagnosticados com melanoma cutâneo entre 2010 e 2018 no AC Camargo Cancer Center. A expressão de Ki-67 foi avaliada por imunohistoquímica. Análises estatísticas foram realizadas com o software R (versão 4.4.1), incluindo testes do qui-quadrado, exato de Fisher, t de Student, Mann-Whitney e curva ROC. **Resultados:** Foram analisados dados de 457 pacientes (média de idade: 53,6 anos; 53,6% homens). A espessura mediana de Breslow foi de 1,1 mm (IQR: 0,7–2,0 mm), e ulceração foi identificada em 16,6% dos casos. A análise ROC determinou um ponto de corte de 12,5% para Ki-67, com sensibilidade de 92%, especificidade de 69,4% e acurácia de 70,7% para prever a sobrevida global. Na análise multivariada, Ki-67 > 12,5% foi associado a maior risco de óbito (HR 6,07; IC 95%, 1,33-27,64; p = 0,032), recidiva (HR 2,67; IC 95%, 1,21-5,90; p = 0,015) e positividade do linfonodo sentinela (OR 3,11; IC 95%, 1,8–5,36; p < 0,001). **Conclusão:** Ki-67 >12,5% é um marcador prognóstico independente para sobrevida global e sobrevida livre de recorrência, além de um preditor significativo de positividade do linfonodo sentinela em pacientes com melanoma cutâneo, sugerindo seu valor na estratificação de risco e no manejo terapêutico.

Palavras-chave: Melanoma maligno cutâneo. Antígeno Ki-67. Análise de Sobrevida. Prognóstico. Linfonodo sentinela.

ABSTRACT

De Siervi, VC. **Evaluation of the applicability of immunohistochemical expression of Ki-67 as a prognostic factor in cutaneous melanoma.** [Dissertation]. São Paulo: Fundação Antonio Prudente, 2025

Introduction: Melanoma, which accounts for approximately 1% of cutaneous neoplasms, is among the most lethal tumors, with prognosis depending on factors such as tumor thickness and ulceration. Ki-67, a nuclear protein that indicates cellular proliferative activity, is an independent prognostic marker in various neoplasms. Studies suggest a relationship between Ki-67 and melanoma prognosis; however, the data remain contradictory. **Objectives:** To evaluate the relationship between the percentage of Ki-67 expression, determined by immunohistochemistry, and clinical outcomes in cutaneous melanoma, including overall survival and recurrence-free survival, as well as to investigate its association with the risk of sentinel lymph node metastasis. **Methods:** Observational retrospective cohort study of patients diagnosed with cutaneous melanoma between 2010 and 2018 at AC Camargo Cancer Center. Ki-67 expression was evaluated by immunohistochemistry. Statistical analyses were performed using R software (version 4.4.1), including chi-square, Fisher's exact test, Student's t-test, Mann-Whitney test, and ROC curve analysis. **Results:** Data from 457 patients (mean age: 53.6 years; 53.6% male) were analyzed. The median Breslow thickness was 1.1 mm (IQR: 0.7–2.0 mm), and ulceration was observed in 16.6% of cases. The ROC analysis identified a Ki-67 cutoff point of 12.5%, with a sensitivity of 92%, specificity of 69.4%, and accuracy of 70.7% for predicting overall survival. In multivariate analysis, Ki-67 >12.5% was associated with a higher risk of death (HR 6.07; 95% CI, 1.33–27.64; $p = 0.032$), recurrence (HR 2.67; 95% CI, 1.21–5.90; $p = 0.015$), and sentinel lymph node positivity (OR 3.11; 95% CI, 1.8–5.36; $p < 0.001$). **Conclusion:** Ki-67 >12.5% is an independent prognostic marker for overall survival and disease-free survival, as well as a significant predictor of sentinel lymph node positivity in patients with cutaneous melanoma. These findings highlight its value in risk stratification and therapeutic management.

Keywords: Melanoma Cutaneous Malignant. Ki-67 antigen. Survival Analysis. Prognosis. Sentinel Lymph Node.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Gráficos de incidência e morte por melanoma entre 1975 e 2015	10
Figura 2 - Fotomicrografia de dois melanomas analisados por imunohistoquímica utilizando o anticorpo monoclonal MIB-1	13
Figura 3 - Expressão de Ki-67 por níveis de mRNA ao longo do ciclo celular	14
Figura 4 - Representações de amostras teciduais de um microarray demonstrando quatro categorias de marcação de Ki-67 no câncer de mama	15
Figura 5 - Representações de bloco de células de tumor neuroendócrino pancreático (Pan NET) e expressão de Ki-67 por imunohistoquímica	16
Figura 6 - Fotomicroscopia HE (20x): Melanoma nodular	23
Figura 7 - Fotomicroscopia IHQ Ki-67 (20x): Melanoma nodular	24
Figura 8 - Fotomicroscopia IHQ Ki-67 (100x): 30%, Melanoma nodular	24
Figura 9 - Fotomicroscopia IHQ Ki-67 (400x): Expressão nuclear da proteína, Melanoma Nodular	25
Figura 10 - Curva ROC para definição do melhor valor de corte para Ki-67 em relação a morte. Valor de definição foi de 12.5% com Sensibilidade 92%, Especificidade de 69.4% e Acurácia de 70.7%.	26

Figura 11 - Estimativas de Kaplan-Meier para sobrevida global comparando os grupos de Ki-67 > 12,5% (curva azul) vs. Ki-67 ≤ 12,5% (vermelho). O log-rank test apresentou um p < 0.001	28
Figura 12 - Estimativas de Kaplan-Meier para sobrevida livre de recorrência comparando os grupos de Ki67 > 12,5% (curva azul) vs. Ki67 ≤ 12,5% (vermelho). O log-rank test apresentou um p < 0.001.	29
Figura 13 - Melhor valor de corte para Ki-67 e predição de sentinela positivo foi de 12.5%, com sensibilidade de 64.3%, especificidade de 63.3% e acurácia de 63.5%.	30
Figura 14 - Teste de resíduos de Schoenfeld para as variáveis Ki-67>12,5%, Breslow, Ulceração, Índice mitótico, Idade, Sexo e Estadiamento. Os resultados do VIF não indicaram sinais de multicolinearidade significativa entre as variáveis para regressão de COX em fatores preditivos de sobrevida global.	31
Figura 15 - Teste de resíduos de Schoenfeld para as variáveis Ki-67>12,5%, Breslow, Ulceração, Índice mitótico, Idade, Sexo e Estadiamento. Os resultados do VIF não indicaram sinais de multicolinearidade significativa entre as variáveis para regressão de COX em fatores preditivos de sobrevida livre de recorrência.....	33
Figura 16 - Representações de bloco de células de nevo atípico com coloração H&E e dupla marcação imuno-histoquímica com Melan-A/Ki-67	45
Figura 17 - Fotomicroscopia HE (20x): Melanoma acral lentiginoso	47
Figura 18 - Fotomicroscopia IHQ Ki-67 (40x): Melanoma acral lentiginoso	47
Figura 19 - Fotomicroscopia IHQ Ki-67 (200x): Expressão nuclear da proteína 40%, Melanoma acral lentiginoso	48

Figura 20 - Sobrevida geral estimada de dez anos associada às várias estratégias de tratamento	51
--	-----------

LISTA TABELAS

Tabela 1: Descrevendo as populações e dividindo entre grupos de Ki-67 > 12.5% ou ≤ 12.5%. Variáveis numéricas com distribuição normal utilizamos T test. Variáveis numéricas de distribuição não normal usamos Mann-Whitney. Variáveis categóricas usamos Chi quadrado	27
Tabela 2: Regressão de COX – Positividade do linfonodo sentinela. Análise univariada nas colunas da esquerda. Análise multivariável nas colunas da direita, ajustada para idade e sexo	31
Tabela 3: Regressão de COX – Sobrevida Global. Análise univariada nas colunas da esquerda. Análise multivariável nas colunas da direita, ajustada para idade, sexo e estadiamento	32
Tabela 4: Regressão de COX – Sobrevida livre de recorrência. Análise univariada nas colunas da esquerda. Análise multivariável nas colunas da direita, ajustada para idade, sexo e estadiamento.....	34

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AJCC - American Joint Committee on Cancer

GEP – Perfil de expressão genética (do inglês gene expression profiling)

HR – Taxa de risco (do inglês Hazard ratio)

INCA - Instituto Nacional de Câncer

IC – Intervalo de confiança

IQR – Intervalo interquartil

IHQ - Imunohistoquímica

NCCN - National Comprehensive Cancer Network®

OD – Razão de chances (do inglês Odds ratio)

Pan-NET – Tumor neuroendócrino pancreático

R – Intervalo (do inglês Range);

SG – Sobrevida global

SLR – Sobrevida livre de recorrência

TNE – Tumor neuroendócrino

VIF - Fator de Inflação da Variância

ρ – Correlação

σ – Desvio Padrão

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
1.1	Epidemiologia atual do melanoma	9
1.2	Fatores prognósticos no melanoma	10
1.3	O Ki-67: História, evolução e aplicação no melanoma cutâneo e outras neoplasias	12
2	JUSTIFICATIVA.....	18
3	OBJETIVOS	19
3.1	Objetivo Primário	19
3.2	Objetivos Secundários	19
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
4.1	Desenho do estudo.....	20
4.1.1	Critérios de inclusão.....	20
4.1.2	Critérios de exclusão.....	20
4.2	Avaliação do índice de proliferação celular	20
4.3	Avaliação de riscos do estudo	21
4.4	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	21
4.5	Variáveis do estudo.....	21
4.6	Comitê de Ética e Pesquisa	21
4.7	Metodologia estatística.....	22
5	RESULTADOS	23
6	DISCUSSÃO	35
6.1	Contexto	35
6.2	Convergências e divergências com relação a literatura	35
6.3	Expressão do Ki-67 por imuno-histoquímica: desafios na padronização e aplicação no melanoma.....	41
6.4	Aplicabilidade do Ki-67 frente aos perfis de expressão gênica (GEP) e possibilidade de sua integração em normogramas que preveem a positividade do linfonodo sentinela	49

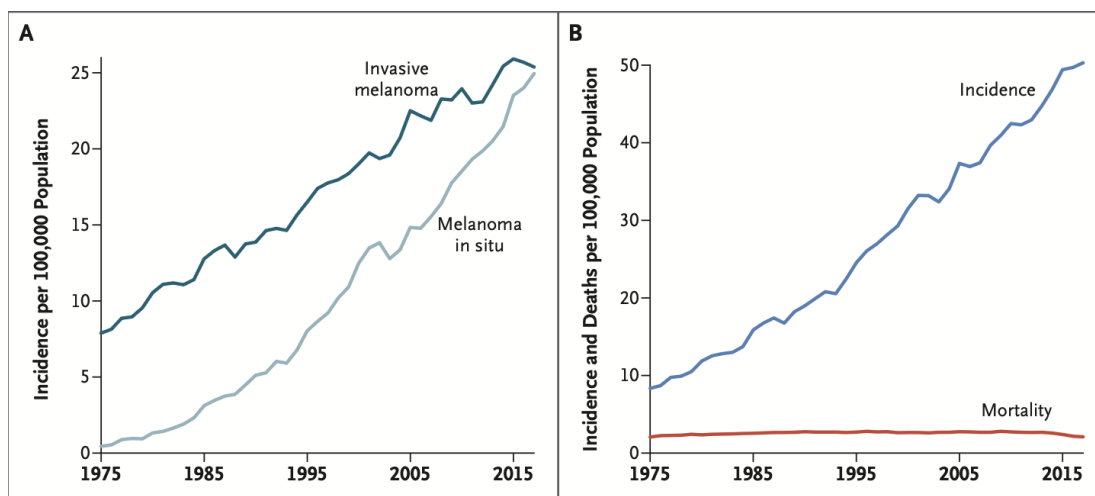
6.5	Análise crítica dos resultados: contribuições e limitações do estudo	55
7	CONCLUSÃO.....	59
8	REFERÊNCIAS	60
ANEXO 1		65
APÊNDICE 1		70

1.INTRODUÇÃO

1.1 EPIDEMIOLOGIA ATUAL DO MELANOMA

Os melanócitos são células derivadas, embriologicamente, da crista neural e estão diretamente envolvidos na carcinogênese dos melanomas, que podem acometer tanto a pele quanto as mucosas¹. Embora representem apenas 1% dos tumores de pele, os melanomas são considerados entre os mais letais, conforme relatado pela American Cancer Society². No Brasil, segundo dados do Instituto Nacional de Câncer (INCA), o melanoma foi responsável por 1.835 óbitos em 2017, com uma estimativa de 8.980 novos casos anuais para o triênio de 2023 a 2025³. Em nível internacional, destaca-se o aumento progressivo no diagnóstico de melanoma cutâneo, frequentemente atribuído a um rastreio mais intenso e à maior sensibilidade dos dermatologistas em indicar biópsias de lesões suspeitas. Os números são alarmantes: entre 1990 e 2019, houve um aumento de 170% na incidência global de melanoma, totalizando 289.950 novos casos. Contudo, apesar do crescimento no número de diagnósticos, observa-se que a mortalidade permaneceu estável^{13,14} (Figura 1). Com a projeção de 510.000 novos casos até 2040, o melanoma caminha para se consolidar como um problema de saúde pública em determinadas regiões do mundo¹⁵. Esses dados reforçam a urgência de pesquisas voltadas à compreensão dos fatores prognósticos e ao desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes.

Figura 1 – Gráficos de incidência e morte por melanoma entre 1975 e 2015



Fonte: WELCH, H. G., 2021¹³.

Legenda: Imagem A evidencia o aumento no número de diagnósticos de melanoma invasivo e in situ ao longo das décadas. A figura B expõe o aumento na incidência de melanoma contrastando com a estabilidade na taxa de mortalidade ao longo dos anos.

1.2 FATORES PROGNÓSTICOS NO MELANOMA

A análise dos fatores que influenciam o prognóstico do melanoma evidencia a importância dos critérios estabelecidos pela American Joint Committee on Cancer (AJCC) em sua 8ª edição. Há alguns anos, está bem estabelecido que a espessura tumoral (Breslow) é o fator de maior impacto no tumor primário. Contudo, na prática diária, a presença de ulceração no laudo anatomopatológico chama atenção. Esse fator tem especial importância, pois interfere diretamente na sobrevida específica do melanoma e na sobrevida global, especialmente em tumores mais finos¹⁸. Somados ao Breslow, esses dois fatores definem o estadiamento T⁴.

Embora o índice mitótico não faça mais parte do estadiamento na 8ª edição da AJCC, ele continua a influenciar os desfechos clínicos dos pacientes diagnosticados e é reconhecido pela AJCC como um fator prognóstico relevante. Outro elemento crucial presente no laudo inicial da biópsia é a satelitose, que, quando identificada, coloca o paciente diretamente em um estadiamento clínico III, alterando significativamente as expectativas de sobrevida⁴. Apesar das controvérsias observadas em estudos, a descrição de regressão tumoral nos laudos de patologia parece atuar como fator preditivo de melhores desfechos clínicos¹⁶.

Além desses, fatores como idade, sexo, localização anatômica, características patológicas e status mutacional (BRAF e NRAS) também desempenham um papel relevante no prognóstico do melanoma^{5, 6, 7, 8}.

O desenvolvimento de ferramentas moleculares tem ampliado a avaliação de fatores prognósticos, permitindo ir além dos critérios clinicopatológicos tradicionais. O estudo de Bittner et al. (2000), que analisou a classificação molecular do melanoma cutâneo por meio de perfis de expressão gênica (GEP), inaugurou uma nova abordagem para predizer o risco de metástase nesse tumor²⁵. Posteriormente, a metanálise conduzida por Greenhaw et al. (2020), que revisou três estudos previamente publicados, demonstrou que o teste baseado no perfil de expressão de 31 genes foi capaz de identificar pacientes com risco aumentado de metástase de melanoma, independentemente de variáveis clinicopatológicas. Além disso, em alguns casos, o teste reclassificou pacientes previamente designados como de baixo risco para alto risco²⁶. Entretanto, ainda não há recomendação formal por parte do NCCN ou da American Academy of Dermatology para o uso rotineiro desses testes, uma vez que as evidências disponíveis são consideradas insuficientes para respaldar sua utilização e aplicabilidade clínica^{27, 28}.

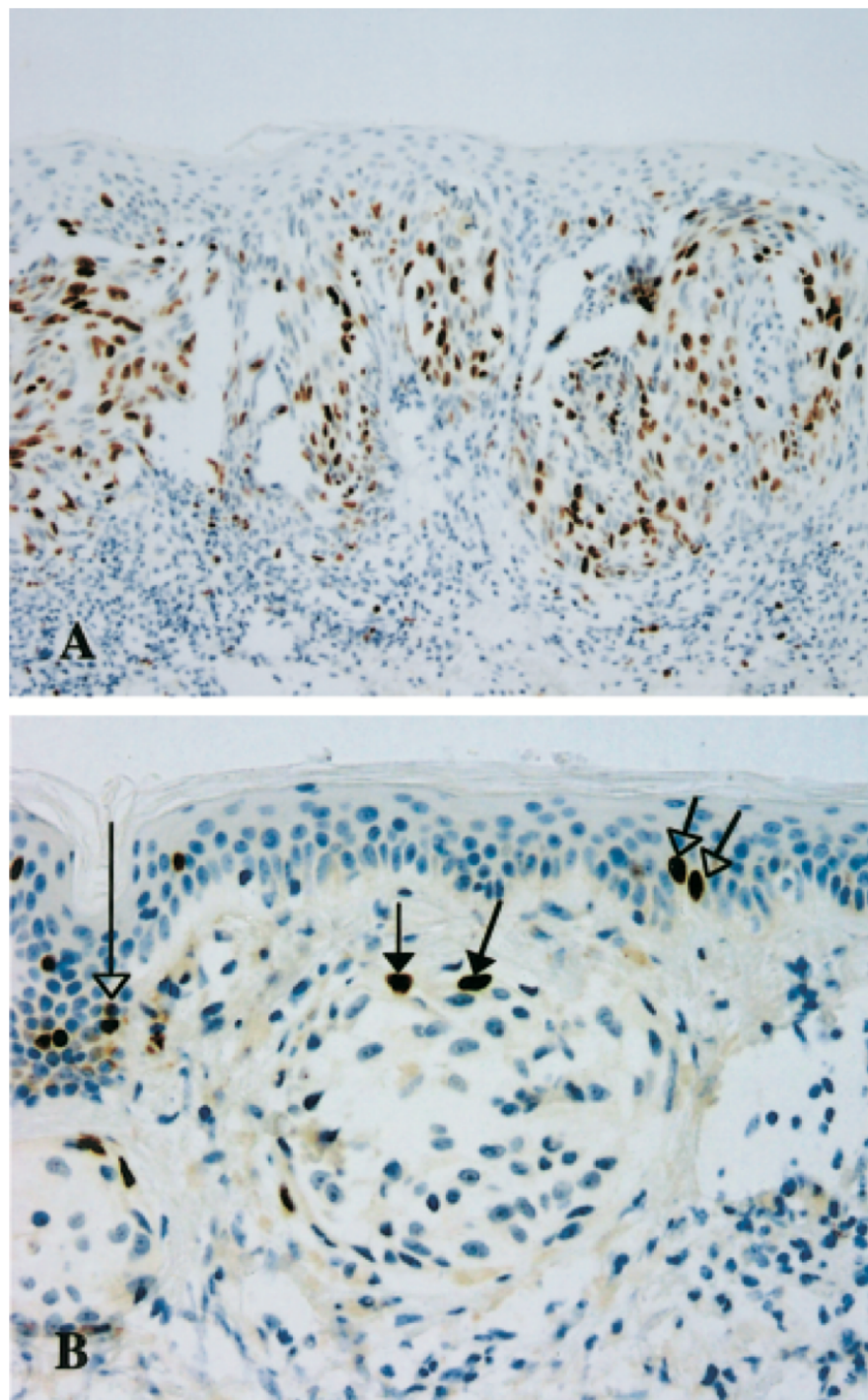
Outra ferramenta de análise prognóstica, utilizada tanto para desfechos clínicos quanto para a possível positividade do linfonodo sentinela, é o nomograma. Essas ferramentas gráficas simplificam análises matemáticas complexas ao integrar fatores prognósticos e características intrínsecas do tumor em modelos estatísticos, permitindo estimar a probabilidade de desfechos específicos. Atualmente, diversos nomogramas são aplicados na prática clínica, como os desenvolvidos pelo Memorial Sloan Kettering Cancer Center, pelo Melanoma Institute of Australia e pelo AC Camargo Cancer Center. Esses nomogramas, amplamente utilizados para prever a positividade do linfonodo sentinela, apresentam características distintas e aplicações específicas dependendo da população avaliada. Eles auxiliam na tomada de decisão clínica, oferecendo suporte essencial para o manejo personalizado do melanoma^{29, 30, 31}.

Fica evidente que, à medida que aprofundamos o conhecimento sobre as características intrínsecas do melanoma e sua relação com os desfechos clínicos, tornamo-nos mais capacitados para prever, de forma precisa, a evolução da doença. Essa compreensão avançada não apenas melhora a estratificação de risco e o planejamento terapêutico, mas também possibilita o desenvolvimento de intervenções personalizadas que podem impactar positivamente os resultados clínicos, incluindo o aumento das taxas de sobrevida e, em casos específicos, a possibilidade de cura.

1.3 O Ki-67: HISTÓRIA, EVOLUÇÃO E APLICAÇÃO NO MELANOMA CUTÂNEO E OUTRAS NEOPLASIAS

Em 1983, o Dr. Johannes Gerdes publicou um artigo descrevendo um anticorpo monoclonal de camundongo específico para um antígeno nuclear presente exclusivamente em células em mitose. O nome Ki-67 foi atribuído porque essa molécula foi identificada na cidade de Kiel, Alemanha, e clonada a partir do 67º alvéolo de uma placa de microtitulação^{32,33}. O reconhecimento dessa proteína nuclear por imunohistoquímica em parafina exigiu diversos estudos até a padronização do uso do anticorpo anti-Ki-67, denominado MIB1 (Figura 2), que tem sido amplamente utilizado de forma universal há mais de 30 anos³³.

Figura 2 - Fotomicrografia de dois melanomas analisados por imunohistoquímica utilizando o anticorpo monoclonal MIB-1.

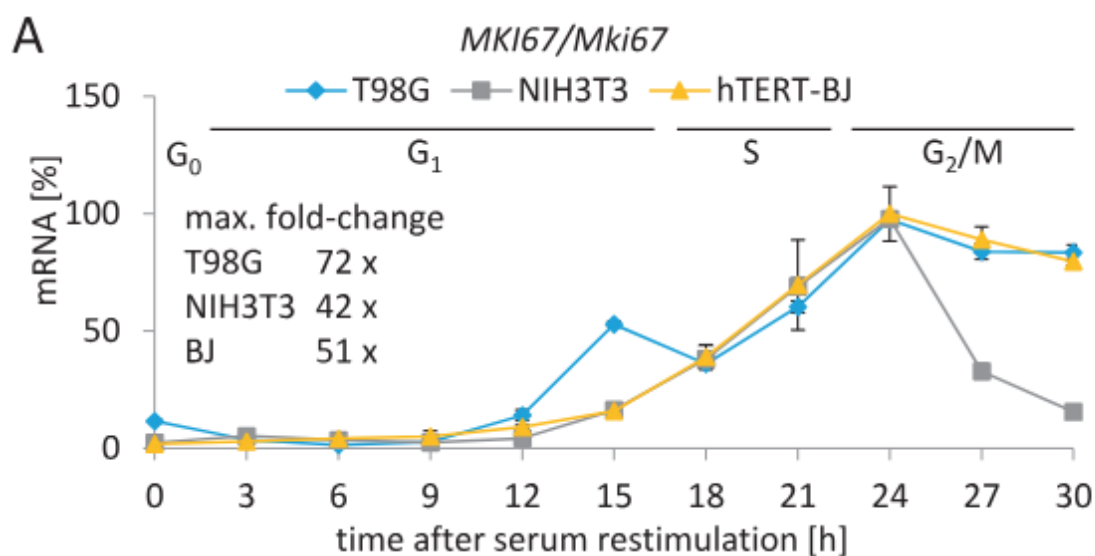


Fonte: Hazan C. et al., 2002⁹.

Legenda: (A) Caso 1, 0,5 mm de espessura, corado com MIB-1, aumento de 100x. Note a reatividade nuclear positiva nas células de melanoma. (B) Caso 2, 0,4 mm de espessura, corado com MIB-1, aumento de 200x. A reatividade nuclear está presente em algumas células de melanoma (setas preenchidas) e em vários queratinócitos (setas vazadas)³⁹.

O Ki-67 (marcador de proliferação Kiel 67) é uma proteína nuclear codificada pelo gene *MKI67*, localizado no cromossomo 10q26.2. A expressão do Ki-67 ocorre exclusivamente durante as fases ativas do ciclo celular (G1, S, G2 e mitose), estando ausente na fase de quiescência celular (G0)¹⁰, como demonstrado na figura 3.

Figura 3 – Expressão de Ki-67 por níveis de mRNA ao longo do ciclo celular

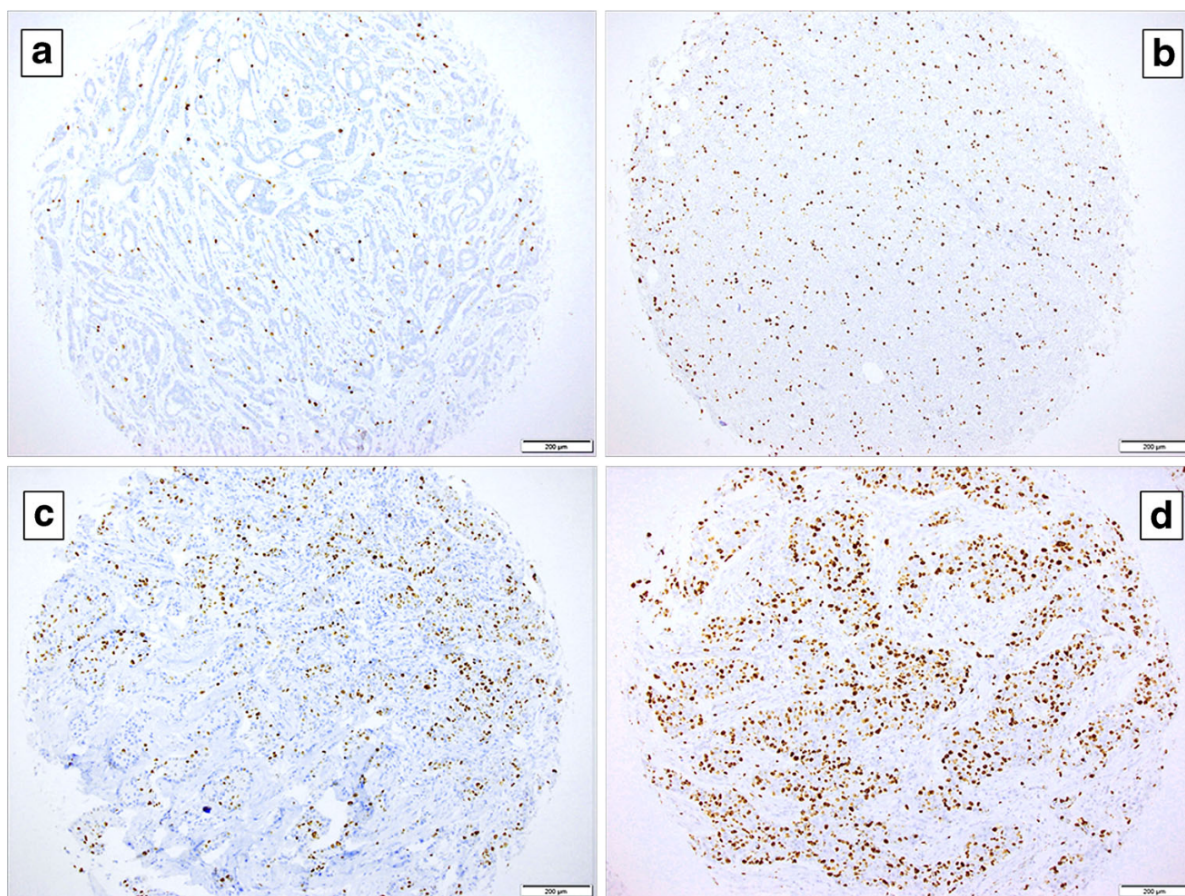


Fonte: Uxa S. et al., 2021⁵⁰.

Legenda: A expressão de Ki-67 nos níveis de mRNA e proteína atinge seu máximo nas fases G₂ e M do ciclo celular⁵⁰.

A taxa de expressão de Ki-67 é amplamente reconhecida como um marcador de atividade proliferativa celular, sendo amplamente estudada em diversos tipos tumorais, incluindo o câncer de mama (figura 4), onde já foi estabelecido como um valor prognóstico independente para a sobrevida global⁹.

Figura 4 – Representações de amostras teciduais de um microarray demonstrando quatro categorias de marcação de Ki-67 no câncer de mama



Fonte: Raap M. et al., 2017⁴³

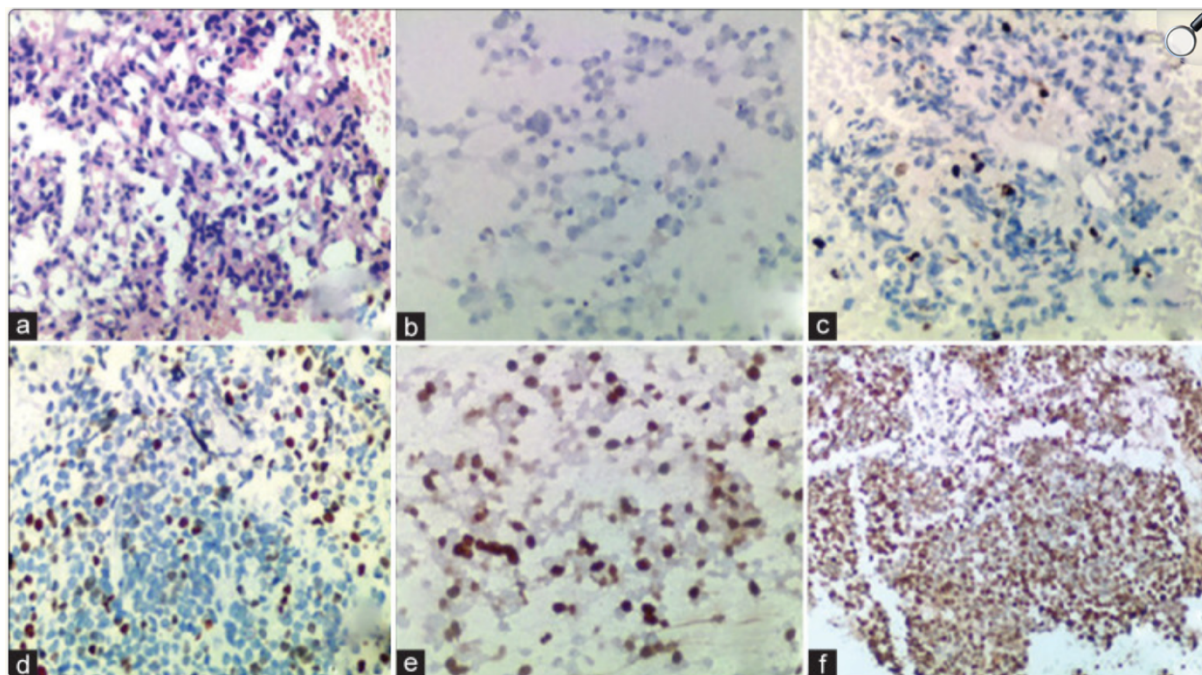
Legenda: Baixa marcação ($\leq 10\%$; a), intermediária baixa (>10 e $\leq 15\%$; b), intermediária alta (>15 e $<25\%$; c) e alta ($\geq 25\%$; d), respectivamente (imuno-histoquímica para Ki-67, técnica da peroxidase)⁴³

Apesar do grande volume de estudos relacionados ao câncer de mama, ainda persistem inconsistências nos métodos de quantificação e interpretação deste marcador¹⁹. Essas dificuldades decorrem, sobretudo, da falta de padronização na análise do Ki-67, tanto entre avaliadores quanto entre laboratórios, o que resulta em variabilidade nos resultados e prejudica a comparação entre estudos, além de limitar a validade externa dos achados. Para tentar contornar essa dificuldade se criou o Grupo Internacional de trabalho de Ki-67 no câncer de mama afim de propor métodos de padronização em sua análise²⁴.

Outra neoplasia em que o Ki-67 se destaca como um marcador prognóstico de grande relevância são os tumores neuroendócrinos (TNE) – Figura 5. Em TNE pancreáticos,

juntamente com outros fatores, o Ki-67 exerce influência negativa sobre a sobrevida global e a sobrevida livre de recorrência²⁰.

Figura 5 – Representações de bloco de células de tumor neuroendócrino pancreático (Pan NET) e expressão de Ki-67 por imunohistoquímica.



Fonte: Kalantri S. et al., 2020⁵¹

Legenda: a) Seção de bloco de células de tumor neuroendócrino pancreático (Pan NET) derivado de material aspirado por agulha fina (coloração de hematoxilina e eosina, $\times 20$) (b) Pan NET G1 com positividade de Ki-67 $< 3\%$, bloco de células (c) G2 com positividade de Ki-67 entre 3-20%, bloco de células (d) G3 WD Pan NET com positividade de Ki-67 $> 20\%$, bloco de células (e) G3 WD Pan NET com positividade de Ki-67 $> 20\%$, esfregaço e (f) G3 PD Pan NET com positividade de Ki-67 $> 20\%$, bloco de células⁵¹

Quando se observa a literatura acerca do uso do Ki-67 e seus impactos nos desfechos clínicos do melanoma, estudos sugerem uma relação positiva entre a expressão imuno-histoquímica do Ki-67 e a piora na sobrevida, indicando que este marcador pode ser útil como fator prognóstico independente no melanoma maligno¹¹.

Investigações prévias que exploraram essa associação em pacientes com melanoma têm apresentado resultados contraditórios¹². O estudo mais recente sobre o tema, publicado em 2024, que analisou uma amostra de mais de 400 pacientes com melanoma acral, trouxe novamente atenção ao marcador, ao demonstrar taxas de sobrevida global significativamente menores em pacientes com alta expressão de Ki-67²¹.

Contudo, os demais estudos que correlacionam a expressão de Ki-67 com o prognóstico do melanoma geralmente derivam de amostras pequenas. Mesmo os estudos publicados mais recentemente avaliaram exclusivamente o melanoma acral, que, sabidamente, apresenta características genéticas distintas dos demais melanomas cutâneos^{21,22,23}. Essa especificidade limita a aplicabilidade prática desses achados na clínica diária.

2.JUSTIFICATIVA

O melanoma cutâneo é uma das neoplasias cutâneas mais letais, com um aumento significativo na sua incidência global. Apesar dos avanços no diagnóstico e no manejo clínico, a estratificação prognóstica ainda enfrenta desafios, especialmente em relação à aplicação de marcadores moleculares, como o Ki-67. Embora amplamente utilizado em outras neoplasias, como o câncer de mama, o papel prognóstico do Ki-67 no melanoma cutâneo permanece controverso, principalmente devido à ausência de padronização em sua análise e à limitação de estudos robustos e com amostras significativas.

Neste contexto, propomos a realização de um estudo de coorte transversal, retrospectivo e unicêntrico, com um número amostral elevado, para investigar a relação entre a expressão imuno-histoquímica do Ki-67 e os desfechos clínicos em pacientes com melanoma cutâneo. Além disso, buscamos avaliar a associação entre o Ki-67 e positividade do linfonodo sentinela, com o objetivo de consolidar o entendimento sobre sua relevância clínica e contribuir para o aprimoramento das estratégias de estratificação de risco e manejo terapêutico desta neoplasia.

3.OBJETIVOS

3.1 Objetivo Primário

Avaliar a relação entre a porcentagem de expressão de Ki-67, determinada por análise imuno-histoquímica no laboratório de patologia do AC Camargo Cancer Center, e os desfechos clínicos em melanoma cutâneo, especificamente sobrevida global e sobrevida livre de recorrência.

3.2 Objetivos Secundários

Avaliar a relação entre a porcentagem de expressão de Ki-67, determinada por análise imuno-histoquímica, e o risco de metástase linfonodal, conforme avaliado durante a pesquisa do linfonodo sentinela.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo

Estudo observacional tipo coorte retrospectiva com dados de uma única instituição no período de 2010 a 2018.

4.1.1 Critérios de inclusão

- Pacientes diagnosticados e tratados por melanoma cutâneo invasivo de qualquer subtipo e espessura no período de janeiro de 2010 a Dezembro de 2018 no AC Camargo Cancer Center;
- Realização de imuno-histoquímica com porcentagem de expressão de Ki-67 na análise patológica.

4.1.2 Critérios de exclusão

- Melanomas não-cutâneos;
- Ausência de avaliação do Ki-67;

4.2 Avaliação do índice de proliferação celular

A análise da expressão do Ki-67 foi realizada no laboratório de Anatomia Patológica do A.C. Camargo Cancer Center seguindo protocolo institucional padronizado.

Fase pré-analítica: As amostras tumorais foram fixadas imediatamente após a recepção em solução de formalina tamponada a 10%, por até 48 horas. Em seguida, foi realizado o processamento tecidual com recuperação de epítomos utilizando o método HRP polimérico livre de biotina, e contra-coloração com hematoxilina. A coloração imuno-histoquímica foi realizada de forma automatizada, em equipamento específico, seguindo os protocolos do fabricante (Roche-Ventana®). O anticorpo utilizado para a detecção do Ki-67 foi o clone 30-9 (Roche-Ventana®). Como controle interno de qualidade, utilizou-se tecido linfático contendo centro germinativo folicular ativo, reconhecido por sua alta atividade proliferativa. As lâminas histológicas e os blocos de parafina foram armazenados

em arquivos padronizados, conforme as normas da Vigilância Sanitária e da Sociedade Brasileira de Patologia.

Fase analítica: A quantificação da expressão do Ki-67 foi realizada exclusivamente por patologistas com especialização em dermatopatologia, sem necessidade de segunda avaliação. A contagem considerou apenas as células tumorais com marcação nuclear positiva, analisadas em campos de grande aumento (400×), selecionados em áreas de maior atividade proliferativa (“hot spots”). Foram avaliados pelo menos 10 campos consecutivos, com posterior conversão da contagem para mm², de acordo com a calibração padronizada do microscópio utilizado no serviço.

4.3 Avaliação de riscos do estudo

Os pacientes foram inicialmente selecionados a partir de uma lista com diagnósticos de melanoma elaborada pelo laboratório de patologia da instituição. Em seguida, os dados foram coletados a partir do registro hospitalar, utilizando um banco de dados previamente anonimizado pelo Departamento de Oncologia Cutânea do A.C. Camargo Cancer Center. A coleta foi realizada pelo aluno de mestrado e demais integrantes do estudo, assegurando-se a confidencialidade das informações dos pacientes.

4.4 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Por se tratar de trabalho retrospectivo em registro de dados permanente do departamento, foi dispensado o termo de consentimento livre e esclarecido.

4.5 Variáveis do estudo

As variáveis clínicas, terapêuticas e patológicas, coletadas durante o estudo, estão listadas no Apêndice 1. Em relação à avaliação imuno-histoquímica de Ki-67 foram considerados positivos os casos que tiveram a expressão nuclear da proteína, a qual foi quantificada em porcentagem (%) conforme protocolo de avaliação da rotina do laboratório de patologia da instituição.

4.6 Comitê de Ética e Pesquisa

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (Parecer nº 5.923.943, de

03/03/2023). A coleta de dados teve início após a aprovação, com base em banco de dados previamente anonimizado, fornecido pelo Departamento de Oncologia Cutânea do AC Camargo Cancer Center. O processo foi conduzido pelo aluno de mestrado e colaboradores, com base em registros hospitalares, assegurando a confidencialidade das informações. (Anexo 1)

4.7 Metodologia estatística

As análises estatísticas, baseadas em dados coletados entre 2010 e 2018, foram realizadas utilizando o software R (versão R 4.4.1). As estatísticas descritivas foram apresentadas em termos de frequências, médias e desvios-padrão das variáveis de interesse. As associações entre variáveis qualitativas foram avaliadas por meio dos testes do qui-quadrado e exato de Fisher, enquanto as relações entre médias e medianas de variáveis quantitativas foram conduzidas utilizando os testes t de Student, Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. Em todas as análises, considerou-se um valor de $p < 0,05$ como estatisticamente significativo.

A curva ROC foi utilizada, juntamente com a análise da área sob a curva (AUC), sensibilidade, especificidade e acurácia, para determinar os pontos de corte (cutoff) mais adequados para os desfechos de interesse, assim como para prever a positividade do linfonodo sentinela.

Os desfechos avaliados incluíram sobrevida global (SG) e sobrevida livre de recorrência (SLR) em relação à expressão de Ki-67. As curvas de Kaplan-Meier foram utilizadas para estimar as probabilidades de SG e SLR, comparando os grupos de Ki-67 alto e Ki-67 baixo, com base no ponto de corte previamente determinado pela análise da curva ROC. As diferenças entre as curvas foram avaliadas pelo teste log-rank.

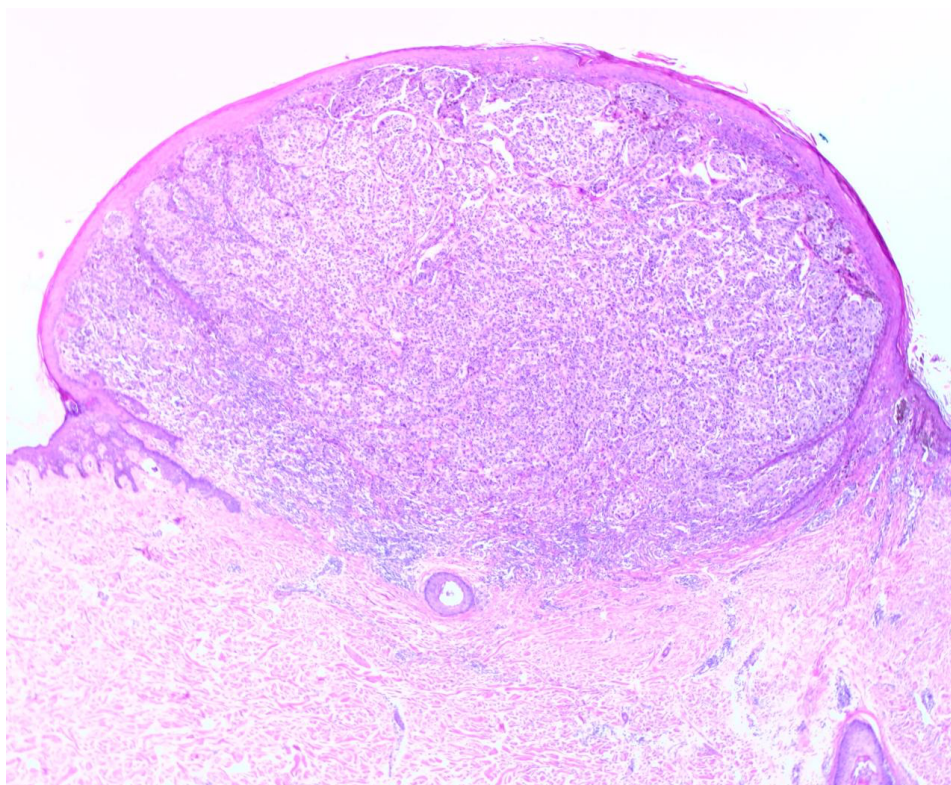
As sobrevidas foram calculadas da data da biópsia ou revisão das lâminas até o óbito (SG) ou recorrência (SLR), sendo censurados os pacientes sem evento ou perdidos no seguimento. A análise do impacto das variáveis foi realizada por modelos de regressão de Cox univariada e multivariada. No modelo múltiplo, avaliou-se a multicolinearidade pelo VIF e a proporcionalidade dos riscos pelo teste de resíduos de Schoenfeld.

5.RESULTADOS

O estudo coletou dados de 457 pacientes no período de janeiro de 2010 a dezembro de 2018, provenientes de um banco de dados previamente anonimizado pelo Departamento de Oncologia Cutânea do AC Camargo Cancer Center. A média de idade dos pacientes foi de 53,6 anos ($\pm 15,86$ anos), sendo 53,6% homens e 46,4% mulheres.

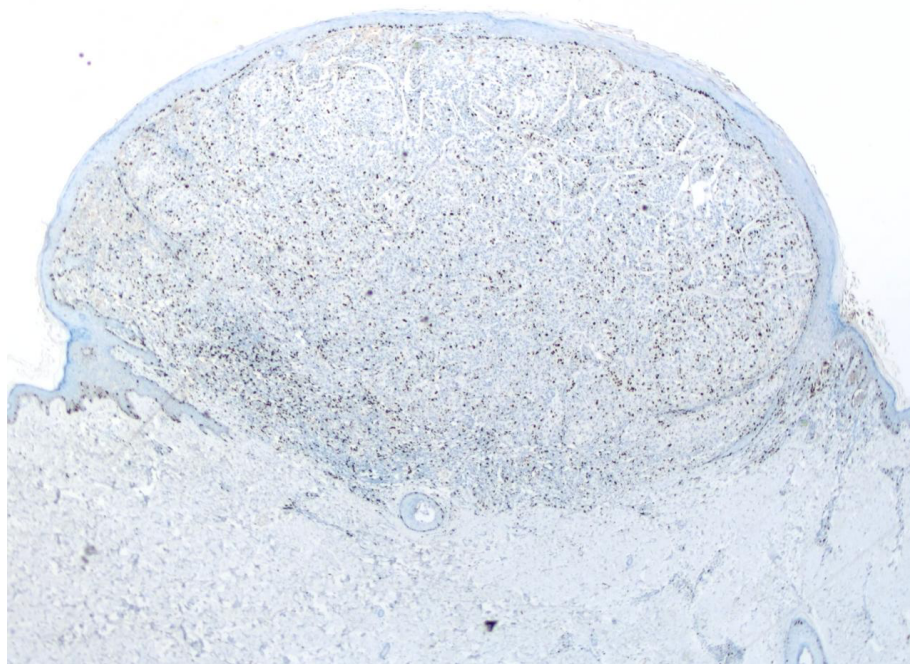
Dos 457 melanomas avaliados, as localizações predominantes foram no tronco (40,3%) e nos membros (50,7%), com apenas 8,8% encontrados na cabeça e pescoço. Entre as características patológicas observadas, a mediana da espessura de Breslow foi de 1,1 mm (IQR: 0,7 – 2,0 mm), associada à presença de ulceração em 16,6% dos casos e com uma mediana do índice mitótico de 1,0/mm² (IQR: 0,0 – 2,1/mm²). A porcentagem de expressão por imuno-histoquímica mediana do Ki-67 foi 5% (IQR: 1 – 20%) e a média foi de 14,81% seguindo a padronização da instituição a exemplo das figuras 6, 7, 8 e 9.

Figura 6 - Fotomicroscopia HE (20x): Melanoma nodular



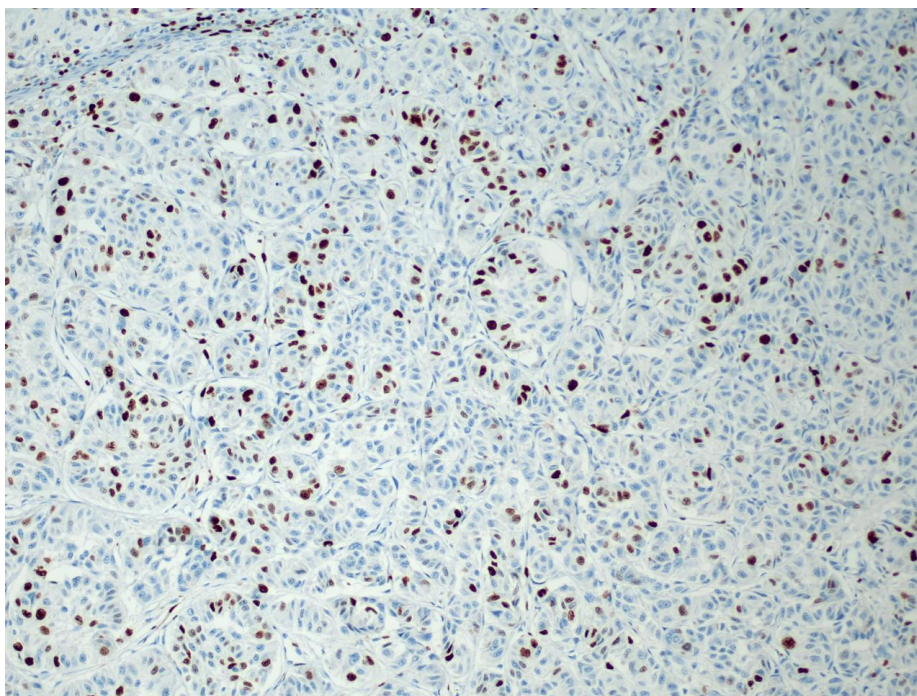
Fonte: Serviço de anatomia patológica do AC Camargo Cancer Center

Figura 7 – Fotomicroscopia IHQ Ki-67 (20x): Melanoma nodular



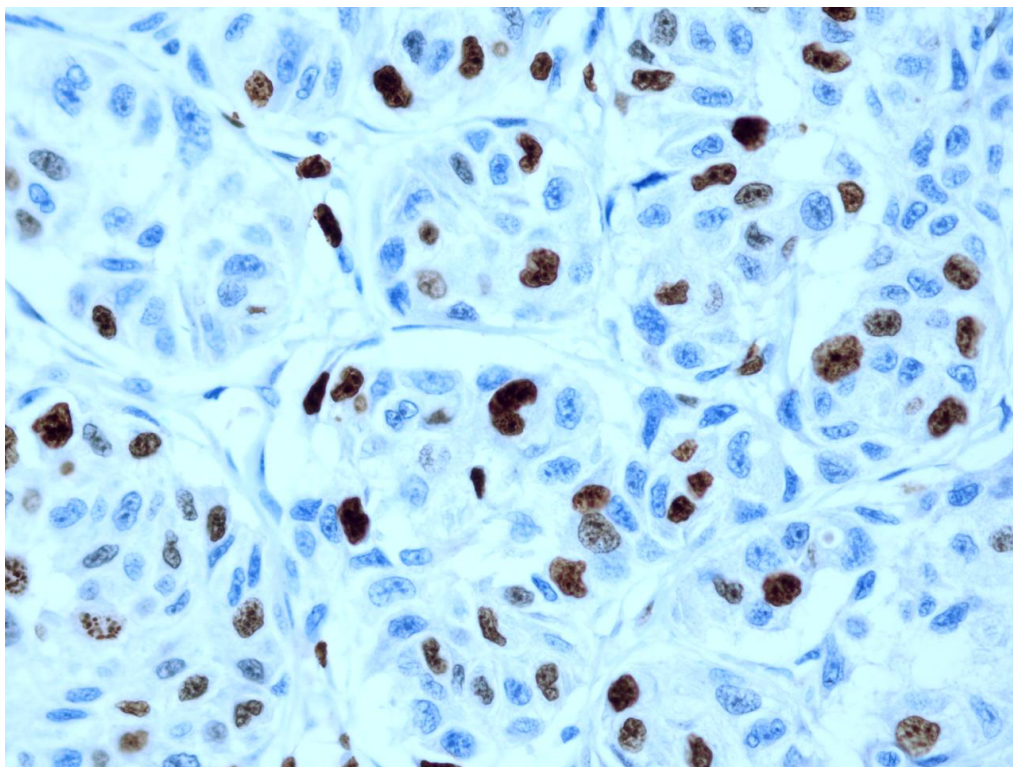
Fonte: Serviço de anatomia patológica do AC Camargo Cancer Center

Figura 8 - Fotomicroscopia IHQ Ki-67 (100x): 30%, Melanoma nodular



Fonte: Serviço de anatomia patológica do AC Camargo Cancer Center

Figura 9 – Fotomicroscopia IHQ Ki-67 (400x): Expressão nuclear da proteína, Melanoma Nodular



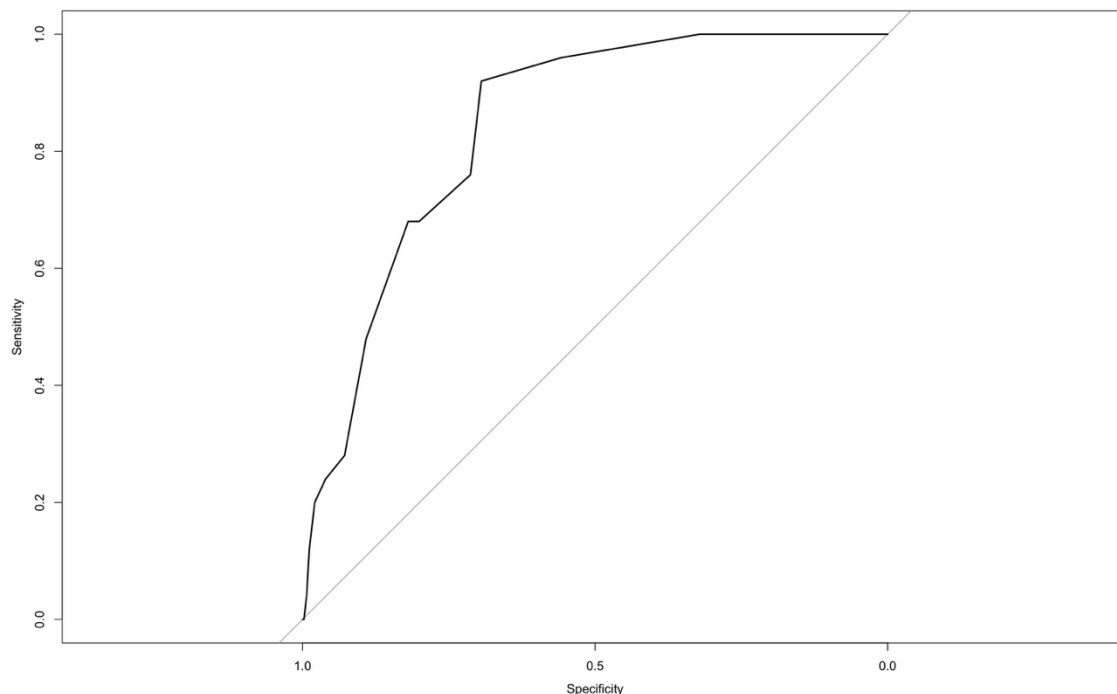
Fonte: Serviço de anatomia patológica do AC Camargo Cancer Center

O estadiamento patológico da amostra indicou uma predominância de casos iniciais, com 63,9% dos pacientes classificados como Estádio I pela 8ª edição da AJCC. Além disso, 20,8% dos pacientes estavam no Estádio II e 15,3% no Estádio III.

Em relação aos desfechos, 49 pacientes apresentaram recidiva da doença. Dentre os 457 pacientes avaliados, 25 vieram a óbito durante o seguimento no período avaliado. A mediana de tempo de seguimento de todos os pacientes foi de 41 meses (IQR: 25 – 39 meses).

Para estratificar e estabelecer o valor de Ki-67 com a melhor sensibilidade, especificidade e acurácia para o desfecho de sobrevida global, foi realizada uma análise da curva ROC. O ponto de corte (cutoff) estabelecido foi de 12,5% de expressão de Ki-67 na análise imunohistoquímica do melanoma primário de pele em relação ao óbito. Com esse cutoff, obteve-se uma sensibilidade de 92%, especificidade de 69,4% e acurácia de 70,7% (Figura 10).

Figura 10 - Curva ROC para definição do melhor valor de corte para Ki-67 em relação a morte. Valor de definição foi de 12.5% com Sensibilidade 92%, Especificidade de 69.4% e Acurácia de 70.7%.



Fonte: Autoria própria

Com base no valor estabelecido, a população foi estratificada em dois grupos, definidos por um ponto de corte de 12,5% de expressão de Ki-67 (Tabela 1). Nessa tabela, nota-se uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação a variáveis como idade, espessura de Breslow, presença de ulceração, índice mitótico, estadiamento, localização tumoral, recidiva e óbito.

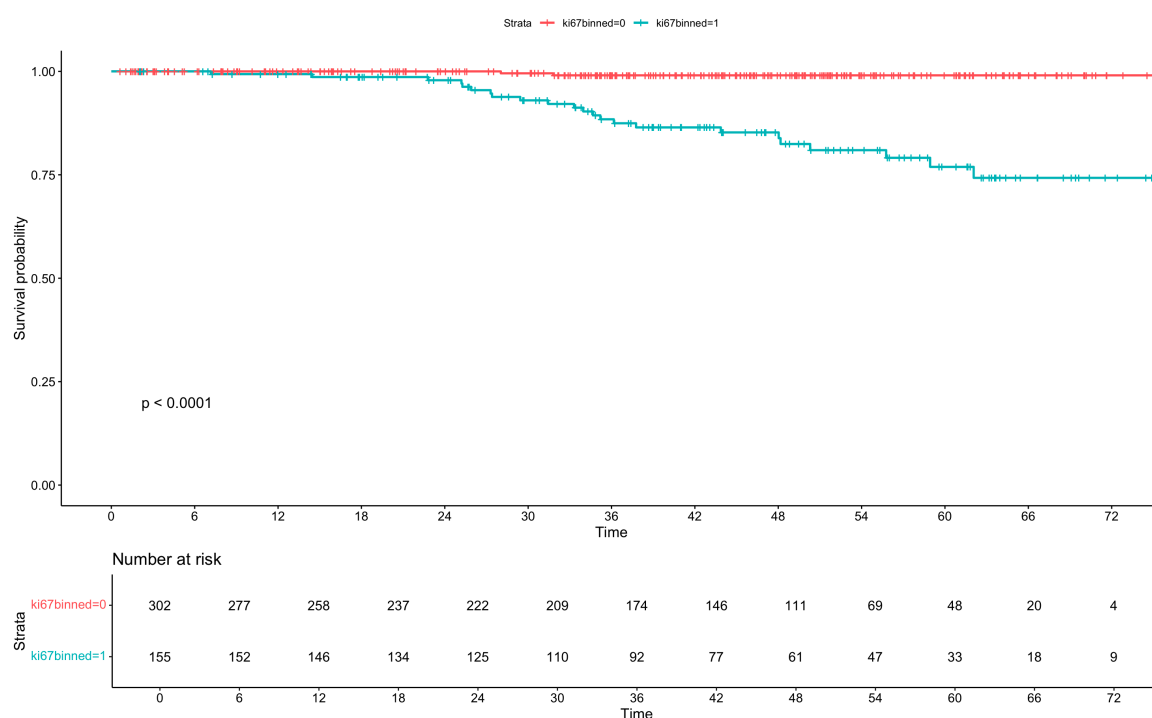
Tabela 1 - Descrevendo as populações e dividindo entre grupos de Ki-67 > 12,5% ou ≤ 12,5%. Variáveis numéricas com distribuição normal utilizamos T test. Variáveis numéricas de distribuição não normal usamos Mann-Whitney. Variáveis categóricas usamos Chi quadrado.

		Coorte total	Ki67 baixo (≤ 12,5%)	Ki67 alto (> 12,5%)	p
N	%	457 (100%)	302 (66.1%)	155 (33.9%)	
Idade	Média (Range)	53.67 (15.86)	52.20 (15.33)	56.6 (16.21)	< 0.001
Sexo	Masculino (%)	245 (53.6%)	159 (52.6%)	86 (55.5%)	0.634
Breslow	Mediana (IQR)	1.1 (0.7 – 2.0)	0.9 (0.6 – 1.3)	2.3 (1.4 – 3.85)	< 0.001
Ulceração	n (%)	76 (16.6%)	20 (6.6%)	56 (36.1%)	< 0.001
Índice mitótico (mm2)	Mediana (IQR)	1.0 (0.0 – 2.1)	0.0 (0.0 – 1.0)	2.63 (1.25 – 5.78)	< 0.001
Estadio (AJCC 8ª edição)	I (%)	292 (63.9%)	249 (82.5%)	43 (27.75%)	< 0.001
	II (%)	95 (20.8%)	28 (9.25%)	67 (43.25%)	
	III (%)	70 (15.3%)	25 (8.25%)	45 (29%)	
Localização	Cabeça e pescoço (%)	40 (8.8%)	22 (7.2%)	18 (11.6%)	0.005
	Tronco (%)	184 (40.3%)	139 (46.0%)	46 (29.7%)	
	Membros superiores (%)	97 (21.2%)	60 (19.9%)	37 (23.9%)	
	Membros inferiores (%)	135 (29.5%)	81 (26.8%)	54 (34.8%)	
Subtipo Histológico	Extensivo superficial	366 (80.1%)	263 (87.1%)	103 (66.5%)	< 0.001
	Nodular	28 (6.1%)	8 (2.6%)	20 (12.9%)	
	Acral	19 (4.2%)	11 (3.6%)	8 (5.2%)	
	Lentigo Maligno	3 (0.7%)	2 (0.7%)	1 (0.6%)	
	Sptizoide	9 (2.0%)	7 (2.3%)	2 (1.3%)	
	Outros	32 (7.0%)	11 (3.6%)	21 (13.5%)	
Linfonodo Sentinela	Positivo (%)	70 (20.11%)	25 (12.4%)	45 (30.6%)	< 0.001
	Negativo (%)	278(79.89%)	176 (87.6%)	102 (69.4%)	
Recidiva	n (%)	49 (10.7%)	10 (3.3%)	39 (25.2%)	< 0.001
Óbitos	n (%)	25 (5.5%)	2 (0.7%)	23 (14.8%)	< 0.001

Fonte: Autoria própria

Com os desfechos identificados na amostra e a definição do ponto de corte de 12,5% de expressão de Ki-67 na imuno-histoquímica como valor de melhor acurácia, foi realizada a estimativa de sobrevida global (SG) utilizando o gráfico de Kaplan-Meier para comparar a diferença entre os grupos estratificados. O teste de log-rank revelou um valor de $p < 0,001$, indicando uma diferença estatisticamente significativa na SG entre os grupos (Figura 11).

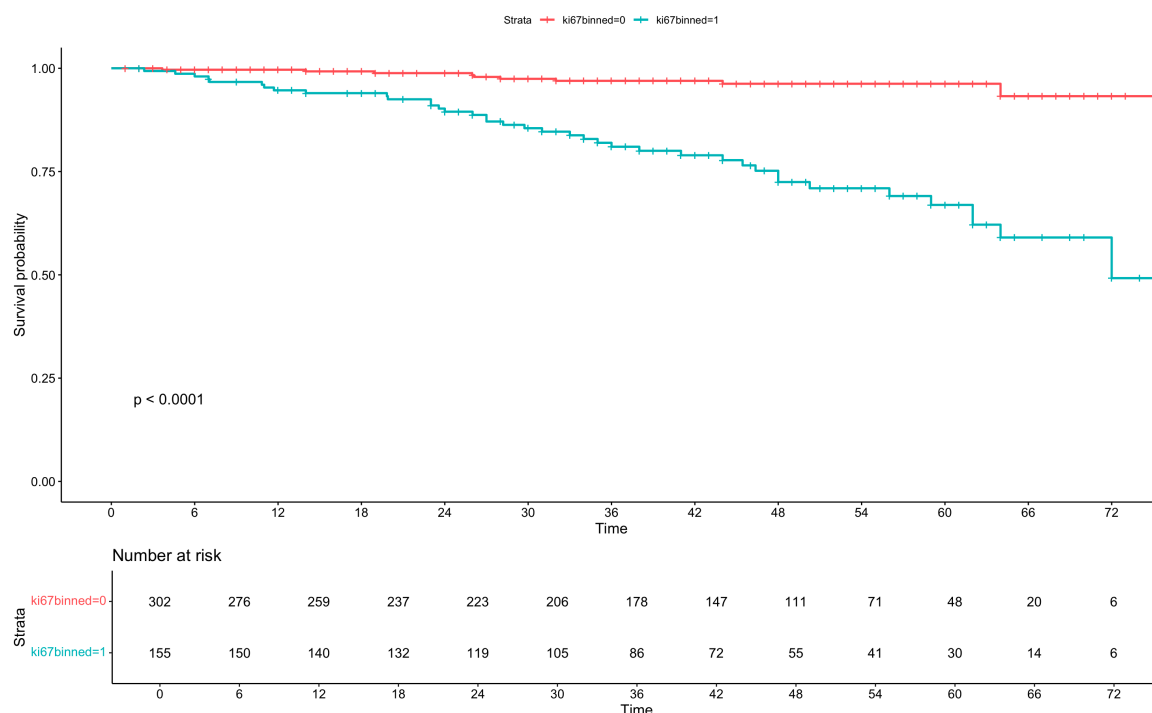
Figura 11: Estimativas de Kaplan-Meier para sobrevida global comparando os grupos de Ki-67 > 12,5% (curva azul) vs. Ki-67 ≤ 12,5% (vermelho). O log-rank test apresentou um $p < 0.001$.



Fonte: Autoria própria

Ao analisar os resultados obtidos até o momento em relação aos objetivos primários deste trabalho, identificamos que 49 pacientes apresentaram recidiva durante o seguimento. Mantendo o ponto de corte de 12,5% de expressão de Ki-67 na imunohistoquímica dos melanomas primários, foi realizada uma nova análise utilizando o gráfico de Kaplan-Meier para comparar os grupos em relação ao desfecho de sobrevida livre de recorrência (SLR). O teste de log-rank revelou um valor de $p < 0,001$, indicando uma diferença estatisticamente significativa na SLR entre os grupos (Figura 12).

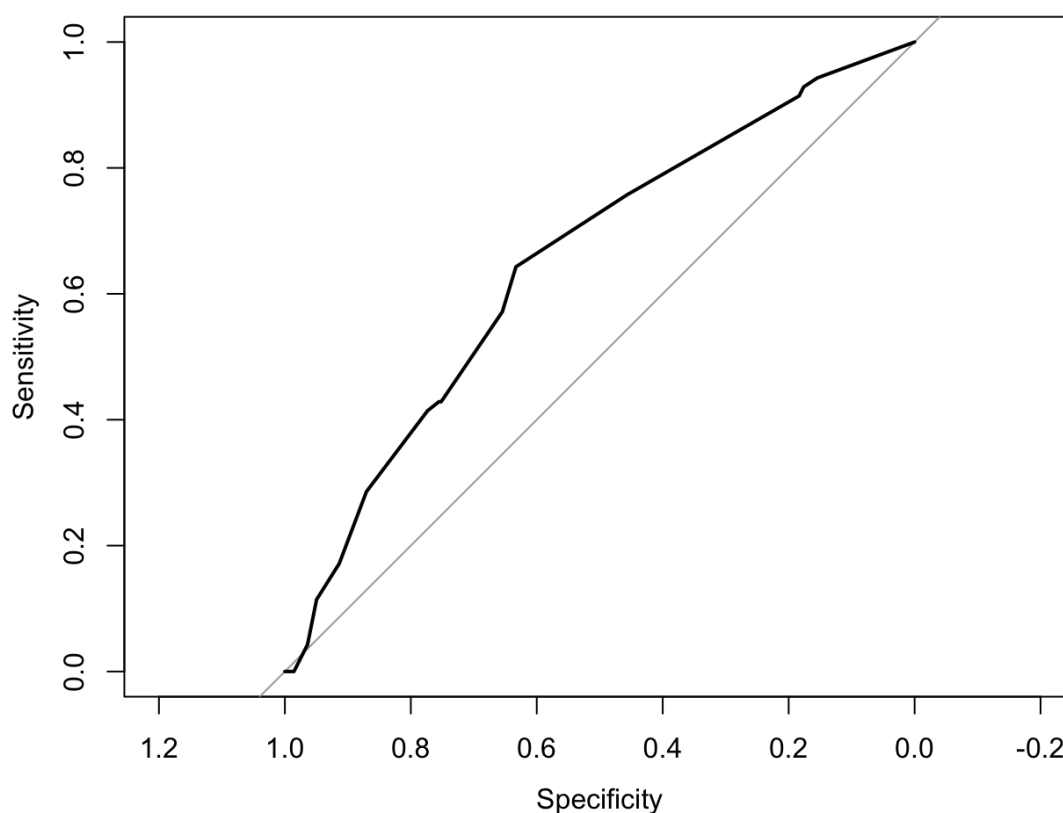
Figura 12: Estimativas de Kaplan-Meier para sobrevida livre de recorrência comparando os grupos de Ki67 > 12,5% (curva azul) vs. Ki67 ≤ 12,5% (vermelho). O log-rank test apresentou um $p < 0.001$.



Fonte: Autoria própria

Na população avaliada, foram identificados 70 pacientes com estadiamento patológico III, de acordo com a 8ª edição da AJCC, dos quais 70 apresentavam linfonodo sentinela positivo. Foi realizada uma análise utilizando a curva ROC para determinar o valor de Ki-67 com a melhor sensibilidade, especificidade e acurácia para prever a positividade do linfonodo sentinela. Mais uma vez, o valor de 12,5% de expressão de Ki-67 na imuno-histoquímica do melanoma primário demonstrou ser o ponto de corte com melhor acurácia. Para esse valor de corte, a sensibilidade foi de 64,3%, a especificidade de 63,3% e a acurácia de 63,5% (Figura 13). O odds ratio para Ki-67 maior que 12,5% e a positividade do linfonodo sentinela foi de 3,11 (IC 95%: 1,8 – 5,36; $p < 0,001$), evidenciando o potencial de Ki-67 como preditor de positividade do linfonodo sentinela. Na análise multivariada (Tabela 2) a expressão do Ki-67 se confirmou como um fator preditivo de positividade do linfonodo sentinela (OR 2,2; IC 95%, 1,19-4,13; $p < 0,013$) assim como o Breslow (OR 1,18; IC 95%, 1,03-1,36; $p < 0,019$).

Figura 13: Melhor valor de corte para Ki-67 e predição de sentinela positivo foi de 12.5%, com sensibilidade de 64.3%, especificidade de 63.3% e acurácia de 63.5%.



Fonte: Autoria própria

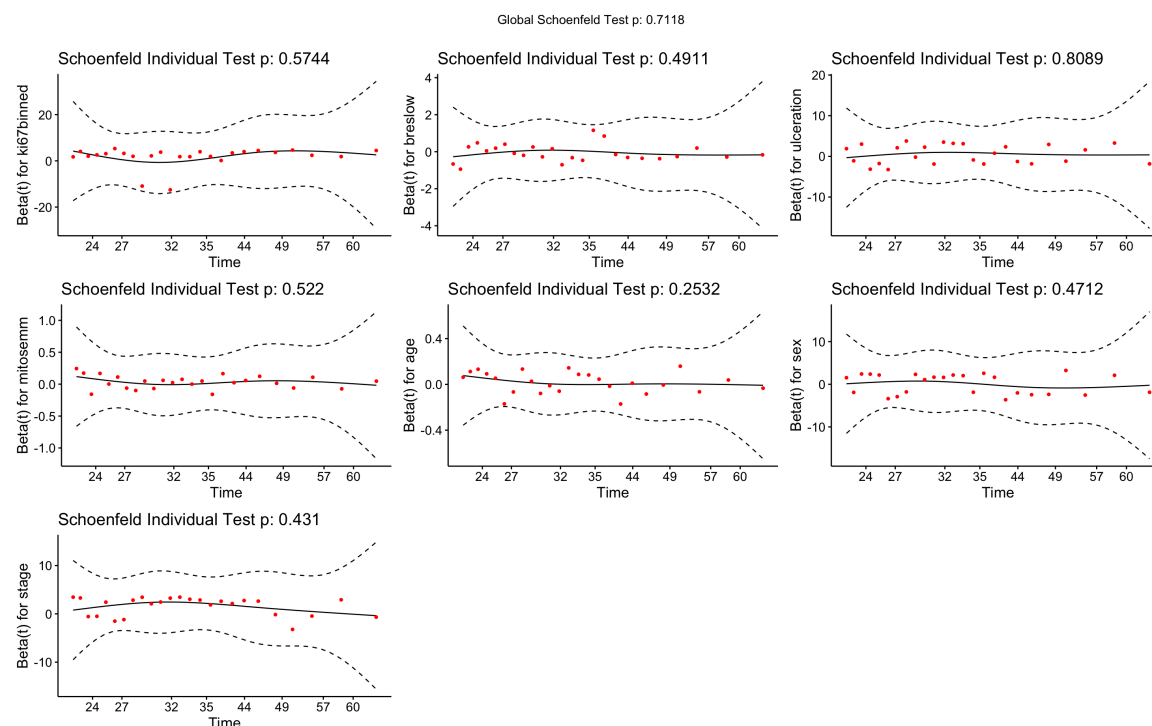
Para a análise dos fatores preditores de risco de sobrevida global em pacientes com melanoma, foram realizadas análises univariada e multivariada, empregando-se a regressão de Cox. Antes da construção do modelo multivariado, foi calculado o Fator de Inflação da Variância (VIF) para avaliar a multicolinearidade entre as variáveis independentes. Além disso, o teste de resíduos de Schoenfeld foi aplicado para verificar se o pressuposto de proporcionalidade dos riscos, essencial para a validade do modelo de regressão de Cox, foi respeitado. Os resultados do VIF não indicaram sinais de multicolinearidade significativa entre as variáveis, confirmando a adequação das variáveis para inclusão no modelo de regressão de COX (Figura 14 e 15).

Tabela 2: Regressão de COX – Positividade do linfonodo sentinela. Análise univariada nas colunas da esquerda. Análise multivariável nas colunas da direita, ajustada para idade e sexo.

	OR	CI 95%	p	OR	CI 95%	p
Análise Univariada			Análise Multivariada			
Ki67 > 12.5%	3.11	1.81 – 5.47	< 0.001	2.20	1.19 – 4.13	0.013
Breslow	1.24	1.11 – 1.41	< 0.001	1.18	1.03 – 1.36	0.019
Ulceração	2.29	1.26 – 4.09	0.006	1.43	0.72 – 2.77	0.29
Índice mitótico (mm2)	1.07	1.01 – 1.13	0.022	0.99	0.92 – 1.05	0.76

Fonte: Autoria própria

Figura 14: Teste de resíduos de Schoenfeld para as variáveis Ki-67>12,5%, Breslow, Ulceração, Índice mitótico, Idade, Sexo e Estadiamento. Os resultados do VIF não indicaram sinais de multicolinearidade significativa entre as variáveis para regressão de COX em fatores preditivos de sobrevida global.



Fonte: Autoria própria

Na análise univariada, a expressão de Ki-67 > 12,5% foi associada a um risco significativamente elevado para o desfecho de sobrevida global, com um Hazard Ratio (HR) de 20,56 (IC 95%, 4,84-87,25; $p < 0,001$). Da mesma forma, a espessura de Breslow (HR 1,22; IC 95%, 1,12-1,34; $p < 0,001$), a presença de ulceração (HR 5,31; IC 95%, 2,42-11,65; $p < 0,001$) e o índice mitótico (HR 1,07; IC 95%, 1,03-1,11; $p < 0,001$) mostraram-se preditores estatisticamente significativos de sobrevida global, corroborando os achados descritos na literatura⁴ (Tabela 3).

Tabela 3: Regressão de COX – Sobrevida global. Análise univariada nas colunas da esquerda. Análise multivariável nas colunas da direita, ajustada para idade, sexo e estadiamento.

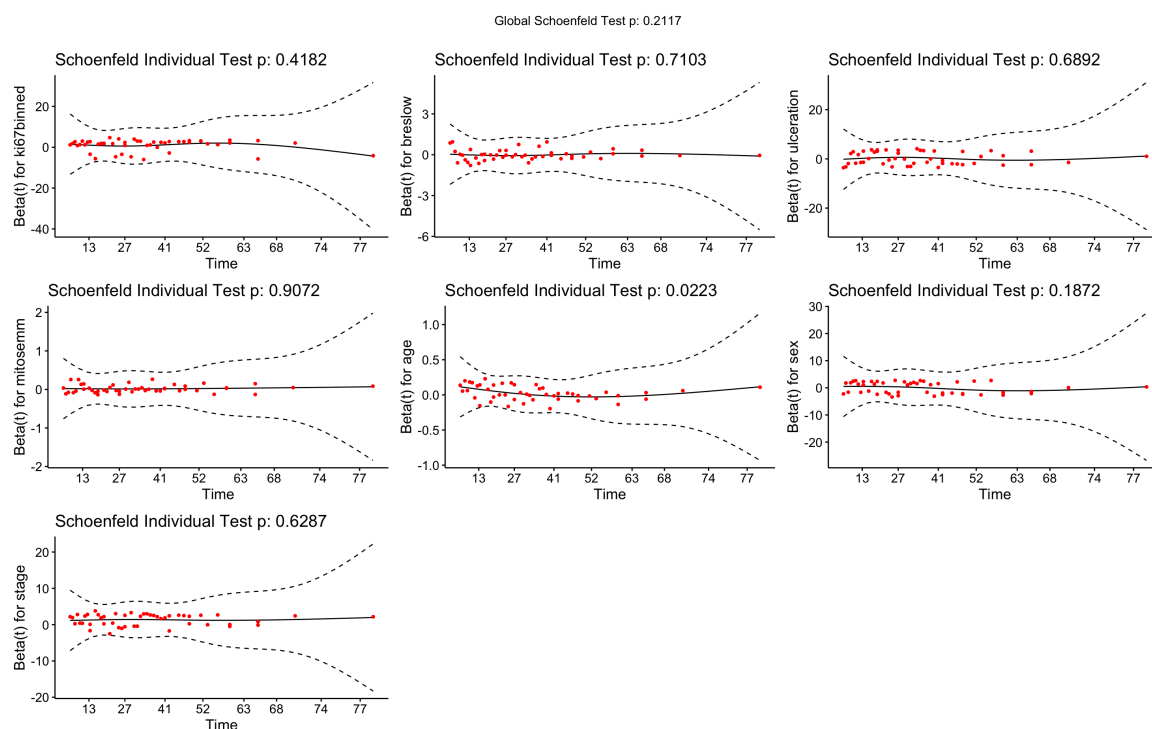
	HR	CI 95%	<i>p</i>	HR	CI 95%	<i>p</i>
Análise Univariada			Análise Multivariada			
Ki67 > 12.5%	20.56	4.84 – 87.25	< 0.001	6.07	1.33 – 27.64	0.0197
Breslow	1.22	1.12 – 1.34	< 0.001	0.94	0.78 – 1.14	0.52
Ulceração	5.31	2.42 – 11.65	< 0.001	1.72	0.73 – 1.14	0.22
Índice mitótico (mm2)	1.07	1.03 – 1.11	< 0.001	1.03	0.98 – 1.09	0.25

Fonte: Autoria própria

Após a análise univariada, foram incluídas na análise multivariada por regressão de Cox as variáveis que demonstraram significância estatística em relação ao desfecho de sobrevida global. Mesmo após o ajuste para as variáveis espessura de Breslow, presença de ulceração e índice mitótico, a expressão de Ki-67 > 12,5% permaneceu significativamente associada a um maior risco de óbito, destacando-se como um fator prognóstico independente. Especificamente, pacientes com expressão de Ki-67 > 12,5% apresentaram um risco aproximadamente seis vezes maior de morte em comparação com aqueles que apresentaram níveis mais baixos de Ki-67 (HR 6,07; IC 95%, 1,33-27,64; $p = 0,0197$). Vale ressaltar que a expressão de Ki-67 > 12,5% foi a única variável que manteve significância estatística após o ajuste para as demais variáveis (Tabela 3).

Ao analisarmos o desfecho sobrevida livre de recorrência, realizamos regressões de Cox univariada e multivariada para identificar os fatores preditivos de risco em melanoma cutâneo. Antes da análise estatística e da construção do modelo multivariado, foi calculado o (VIF) para avaliar a multicolinearidade entre as variáveis independentes. Além disso, o teste de resíduos de Schoenfeld foi aplicado para verificar o cumprimento do pressuposto de proporcionalidade dos riscos, essencial para a validade do modelo de regressão de Cox (Figura 15).

Figura 15: Teste de resíduos de Schoenfeld para as variáveis Ki-67>12,5%, Breslow, Ulceração, Índice mitótico, Idade, Sexo e Estadiamento. Os resultados do VIF não indicaram sinais de multicolinearidade significativa entre as variáveis para regressão de COX em fatores preditivos de sobrevida livre de recorrência.



Fonte: Autoria própria

A análise univariada seguiu os achados amplamente descritos na literatura, evidenciando um risco elevado de recidiva associado aos seguintes preditores: espessura de Breslow (HR 1,18; IC 95%, 1,11-1,26; $p < 0,001$), presença de ulceração (HR 4,0; IC 95%, 2,27-7,07; $p < 0,001$) e índice mitótico (HR 1,06; IC 95%, 1,03-1,09; $p < 0,001$). Destaca-se, ainda, a expressão de Ki-67 $> 12,5\%$, que demonstrou ser um fator preditor de risco significativo também para recidiva (HR 7,25; IC 95%, 3,62-14,53; $p < 0,001$) (Tabela 4).

Tabela 4: Regressão de COX – Sobrevida livre de recorrência. Análise univariada nas colunas da esquerda. Análise multivariável nas colunas da direita, ajustada para idade, sexo e estadiamento.

	HR	CI 95%	<i>p</i>	HR	CI 95%	<i>p</i>
Análise Univariada			Análise Multivariada			
Ki67 > 12.5%	7.25	3.62 – 14.53	< 0.001	2.67	1.21 – 5.90	0.015
Breslow	1.18	1.11 – 1.26	< 0.001	0.99	0.88 – 1.12	0.87
Ulceração	4.00	2.27 – 7.07	< 0.001	1.25	0.65 – 2.42	0.50
Índice mitótico (mm2)	1.06	1.03 – 1.09	< 0.001	1.02	0.98 – 1.06	0.35

Fonte: Autoria própria

Com base nos fatores preditivos significativos identificados na análise univariada, foi realizada a análise multivariada. Essa análise confirmou a expressão de Ki-67 $> 12,5\%$ como um fator prognóstico independente também para sobrevida livre de recorrência, apresentando um Hazard Ratio de 2,67 para o desfecho (IC 95%, 1,21-5,90; $p = 0,015$), mesmo após ajuste para as demais variáveis significativas, como espessura de Breslow, presença de ulceração e índice mitótico.

6. DISCUSSÃO

6.1 Contexto

O Ki-67, descoberto na década de 1980, é um marcador prognóstico amplamente estudado em diversos tipos de câncer. Sua taxa de expressão, avaliada por meio de imunohistoquímica, está bem estabelecida e é utilizada principalmente em câncer de mama e tumores neuroendócrinos^{9,20,31,32}. No entanto, apresenta limitações em sua interpretação devido à dificuldade de padronização na análise desse marcador¹⁹. Para mitigar essas limitações e propiciar validações externas dos estudos, foram criados grupos internacionais, como o Grupo Internacional de Trabalho de Ki-67 no Câncer de Mama²⁴.

A partir da década de 1990, com o desenvolvimento do anticorpo anti-Ki-67, MIB-1, e a possibilidade de análise da expressão em tecidos fixados em parafina, surgiram estudos que exploraram a relação entre esse marcador de proliferação celular e desfechos clínicos no melanoma^{34,35}. Apesar do avanço significativo nos estudos relacionados ao câncer de mama, que culminaram na utilização do Ki-67 na prática clínica, esse progresso não foi observado no melanoma. O que se verificou foram estudos com amostras pequenas, dados superficiais e inconsistentes, os quais desestimularam o desenvolvimento de pesquisas mais robustas e de maior qualidade sobre a relação entre o Ki-67 e o melanoma.

Diante de uma literatura ainda escassa sobre o tema, apesar de estudado há décadas, este estudo traz contribuições valiosas ao explorar a relação entre a porcentagem de expressão de Ki-67, determinada por análise imunohistoquímica, e os desfechos clínicos no melanoma cutâneo.

6.2 Convergências e divergências com relação a literatura

Ao definir o ponto de corte para expressão de Ki-67 > 12,5% em uma população de 457 pacientes como fator prognóstico independente tanto para sobrevida global ($p = 0,01$) quanto para sobrevida livre de recorrência ($p = 0,01$), nossos resultados reforçam achados previamente descritos em estudos com amostras menores. Henrique et al. (2000), em um estudo com 84 pacientes, estabeleceram um ponto de corte de Ki-67 < 14% como indicativo de baixo risco e > 14% como alto risco, com base na mediana da expressão em sua amostra. Na análise de desfechos clínicos, foi observada uma diferença

estatisticamente significativa entre os grupos de baixo e alto risco em relação à sobrevida global em 3 anos ($p = 0,03$) e à sobrevida livre de doença em 3 anos ($p = 0,01$), resultados similares aos encontrados em nossa análise. Contudo, o estudo de Henrique et al. não incluiu uma análise multivariada para validar esses achados como independentes³⁶.

Robinson et al. (2018) avaliaram de forma prospectiva a expressão imunohistoquímica de Ki-67 em 68 pacientes com melanoma primário espesso (Breslow $\geq 4,0$ mm), submetidos à pesquisa do linfonodo sentinela. Utilizando como ponto de corte o valor de Ki-67 $\geq 25\%$ para classificar os pacientes em dois grupos (baixo e alto risco), a análise multivariada, que incluiu o status do linfonodo sentinela e a presença de ulceração no tumor primário, identificou a expressão de Ki-67 como um preditor independente de pior sobrevida livre de recorrência (HR 1,95; $p = 0,041$) e sobrevida global (HR 2,32; $p = 0,034$)³⁷. Tais achados corroboram os resultados observados em nossa amostra, reforçando a relevância do Ki-67 como um marcador prognóstico robusto em melanomas cutâneos.

A despeito das diferenças nos pontos de corte entre os dois estudos citados e o presente trabalho, é importante destacar os métodos utilizados para definir esses valores. Tanto o estudo de Henrique et al. quanto o de Robinson et al. estabeleceram os pontos de corte com base na mediana das amostras, o que pode limitar a aplicabilidade prática e a generalização dos resultados. Além disso, ambos os estudos foram conduzidos com amostras reduzidas de pacientes, o que pode comprometer a robustez estatística de suas conclusões. Por outro lado, o presente estudo definiu o ponto de corte para Ki-67 por meio da análise de curva ROC, selecionando o valor que apresentou melhor acurácia para prever o desfecho de sobrevida global, o que fortalece a validade de nossos resultados.

Ilmonen et al. (2005) avaliaram a expressão de Ki-67, Bcl-2 e p53 em melanomas primários e metastáticos em uma coorte de 117 pacientes. Neste estudo, a análise univariada para sobrevida não demonstrou significância estatística para nenhum dos três marcadores avaliados. Contrastando com os resultados encontrados em nosso estudo e em outros publicados previamente, a análise conduzida por Ilmonen et al. revelou que a expressão de Ki-67 não apresentou valor prognóstico para sobrevida³⁸.

Corroborando a afirmação de que os dados na literatura sobre Ki-67 são contraditórios, Hazan et al. (2002) conduziram um estudo retrospectivo com 137 pacientes acompanhados na New York University School of Medicine entre 1972 e 1982. Nesta

análise, o ponto de corte para alto risco de desfechos negativos foi definido como Ki-67 $\geq$ 20%, com base em estudos previamente publicados, embora o método utilizado para determinar esse valor não tenha sido claramente descrito. Apesar de uma correlação positiva e estatisticamente significativa com a espessura tumoral ($p = 0,001$) e o estadiamento ($p = 0,03$), a análise multivariada não evidenciou uma associação significativa entre Ki-67 $\geq$ 20% e os desfechos de sobrevida global ($p = 0,55$) e sobrevida livre de recorrência ($p = 0,70$)³⁹. Os autores sugerem que esses resultados podem ter sido influenciados pelo baixo número de pacientes com tumores de espessura > 4 mm. No entanto, em nosso estudo, apesar de a mediana da espessura de Breslow ser de 1,1 mm (IQR: 0,7 - 2,0), os resultados obtidos diferiram daqueles apresentados por Hazan et al. A explicação mais plausível para essa divergência parece ser o número de pacientes incluídos, 457 em nosso estudo versus 137 no estudo de Hazan.

O estudo sobre a expressão de Ki-67 em melanoma com a maior análise de pacientes na literatura é a metanálise publicada por Liu et al. (2021), que incluiu 929 pacientes provenientes de 10 estudos. A alta expressão de Ki-67, com pontos de corte variando entre 5% e 40%, foi associada a uma pior sobrevida global (HR = 2,92; $p < 0,0001$). No entanto, não houve associação significativa com a sobrevida livre de recorrência (HR = 1,14; $p = 0,993$) ou com a sobrevida livre de progressão (HR = 0,99; $p = 0,95$). Além disso, a alta expressão de Ki-67 mostrou uma correlação significativa com a espessura tumoral (>4 mm; OR = 3,09; IC 95%: 1,34–7,10; $p = 0,008$). Por outro lado, não foi encontrada associação significativa com sexo, localização anatômica, presença de ulceração ou invasão vascular¹.

Ao comparar esses resultados com os obtidos em nosso estudo, observa-se que, apesar da metodologia rigorosa empregada na metanálise, os achados diferem significativamente no que diz respeito à sobrevida livre de recorrência. Enquanto a metanálise não demonstrou uma associação entre a alta expressão de Ki-67 e esse desfecho, nosso estudo identificou Ki-67 $> 12,5\%$ como um preditor independente tanto para sobrevida global quanto para sobrevida livre de recorrência ($p = 0,01$ para ambos). Os autores da metanálise justificam a ausência de significância estatística com o fato de os dados relacionados a esse desfecho estarem disponíveis em apenas dois estudos incluídos, o que limita a robustez das conclusões.

Outro ponto relevante diz respeito à metodologia da metanálise, que não excluiu estudos envolvendo melanomas de mucosa ou melanomas metastáticos, apesar de a maioria dos casos analisados ter sido de melanomas cutâneos. Essa escolha metodológica pode ter introduzido um fator de confusão, considerando as diferenças bem estabelecidas entre esses subtipos de melanoma em relação à biologia tumoral e ao comportamento clínico. Além disso, destaca-se a variabilidade nos pontos de corte utilizados entre os estudos incluídos, o que contribuiu para o aumento da heterogeneidade dos resultados apresentados na metanálise.

Como previamente descrito na literatura, o linfonodo sentinela positivo é o principal fator prognóstico no melanoma cutâneo⁴⁰, dessa forma, não poderíamos deixar de analisar a implicação das altas taxas de expressão do Ki-67 em prever a sua positividade. A análise de curva ROC realizada em nosso estudo permitiu determinar o ponto de corte ideal da expressão de Ki-67, avaliada por imunohistoquímica, para prever a positividade do linfonodo sentinela. Entre os pacientes avaliados, 70 apresentaram linfonodo sentinela positivo. O ponto de corte de 12,5% foi identificado como o mais adequado, com sensibilidade de 64,3%, especificidade de 63,3% e acurácia de 63,5%. Além disso, a expressão de Ki-67 acima desse valor apresentou um *odds ratio* de 3,11 (IC 95%: 1,8 – 5,36; $p < 0,001$), demonstrando uma associação significativa com a positividade do linfonodo sentinela e reforçando o papel do Ki-67 como marcador prognóstico relevante nesse contexto.

Na literatura, o artigo Udovicic-Gagula et al. (2019) investigou a expressão imunohistoquímica de Ki-67 e do receptor de estrogênio beta (ER β) em melanomas cutâneos primários de 55 pacientes e sua associação com a positividade do linfonodo sentinela (LNS). O autor também realizou a análise do ponto de corte através da curva ROC, encontrando o valor de Ki-67 $\geq 24,5\%$ com sensibilidade de 61% e especificidade de 81% em prever a positividade do linfonodo sentinela. Nos resultados, um dado interessante foi que cada aumento de 1% na expressão de Ki-67 aumentou o risco de LNS positivo em 10% (OR = 1,108; IC 95%: 1,02–1,19; $p = 0,009$)¹¹.

Embora os valores de corte encontrados sejam diferentes, ambos os estudos demonstraram associações estatisticamente significativas entre a alta expressão de Ki-67 e a presença de metástases no linfonodo sentinela, evidenciando a importância desse

marcador no manejo prognóstico.

O estudo mais recente e de maior impacto que avalia a relação entre a expressão do Ki-67 por imunohistoquímica e os desfechos clínicos foi publicado em 2024, na revista *Surgical Oncology*, por Liang et al. Este estudo analisou retrospectivamente 776 pacientes com melanoma acral tratados entre 2006 e 2021, divididos em uma coorte primária (481 pacientes com melanoma primário não metastático) e uma coorte recorrente (97 pacientes com lesões recorrentes). O objetivo foi investigar a expressão do Ki-67 em melanomas acral primários e recorrentes, avaliando sua associação com aspectos clinicopatológicos, desfechos clínicos e padrões de recorrência.

Neste estudo, os pontos de corte para a expressão de Ki-67, utilizados para categorizar os pacientes em três grupos, foram definidos como: expressão alta ($\text{Ki-67} > 40\%$), intermediária ($10\% < \text{Ki-67} \leq 40\%$) e baixa ($\leq 10\%$), determinados por meio do software X-tile. Os resultados da análise do grupo com melanoma primário evidenciaram taxas de sobrevida global em 5 anos de 47,8% (alto Ki-67), 55,7% (Ki-67 intermediário) e 76,8% (Ki-67 baixo), com diferença estatisticamente significativa ($p = 0,002$). As taxas de sobrevida livre de recorrência em 5 anos também apresentaram diferenças estatisticamente significativas: 27,1%, 42,8% e 61,8%, respectivamente ($p < 0,001$). Esses achados corroboram tanto com a literatura quanto com os resultados do presente estudo, reforçando o pior prognóstico dos pacientes com elevada taxa de expressão de Ki-67.

O artigo também demonstrou que, mesmo em tumores recorrentes, valores altos de Ki-67 denotam pior prognóstico para a sobrevida após recorrência ($p = 0,026$). Um ponto adicional de destaque foi que, na análise multivariada por regressão de Cox para melanomas primários, a alta expressão de Ki-67, a espessura de Breslow e a metástase linfonodal foram identificadas como fatores prognósticos independentes tanto para sobrevida global quanto para sobrevida livre de recorrência ($p < 0,05$ para todos).

Outra análise relevante realizada neste estudo foi a avaliação, por regressão logística, dos fatores preditores de estágio pT4 e metástases linfonodais, reconhecidos como os principais fatores prognósticos no melanoma. Os resultados demonstraram que a alta expressão de Ki-67 e a presença de ulceração foram identificadas como os principais preditores para esses desfechos²¹.

A despeito do excelente trabalho realizado, com uma metodologia robusta e resultados impactantes, algumas limitações precisam ser destacadas, as quais afetam a validade externa do estudo. O artigo analisou exclusivamente melanomas acral em uma população oriental (chinesa), excluindo os demais subtipos de melanoma cutâneo, mais prevalentes em outras regiões do mundo. Além disso, ao observar a população estudada e as características dos tumores, nota-se um número elevado de pacientes com aspectos desfavoráveis – Breslow > 4 mm (46,8%), ulceração (67,8%) e metástase linfonodal (43,9%) –, o que, por consequência, reflete piores desfechos clínicos nessa coorte e dificulta a generalização dos achados para outras populações.

Apesar do menor número absoluto de pacientes no presente estudo, ao comparar apenas melanomas primários, as amostras são bastante semelhantes (457 pacientes no nosso estudo versus 481 no estudo de Liang et al.). Os resultados para os desfechos clínicos, como sobrevida global e sobrevida livre de recorrência, também se mostram alinhados ao comparar os subgrupos de baixa e moderada/alta expressão de Ki-67. A análise multivariada por regressão de Cox, em ambos os estudos, identificou a alta expressão de Ki-67 como fator prognóstico independente para sobrevida global e sobrevida livre de recorrência. Entretanto, a inclusão de todos os subtipos de melanoma cutâneo em nossa pesquisa, e a menor proporção de tumores com características desfavoráveis conferem ao nosso estudo uma maior validade externa, ampliando a aplicabilidade dos resultados encontrados.

Adicionalmente, embora nosso estudo tenha sido conduzido exclusivamente em uma população brasileira, esta é amplamente reconhecida por seu alto grau de miscigenação, representando uma diversidade genética significativa⁴¹. Essa característica singular pode aumentar a generalização dos nossos achados para outras populações, destacando a relevância dos dados apresentados para contextos globais.

6.3 Expressão do Ki-67 por imuno-histoquímica: desafios na padronização e aplicação no melanoma

Os resultados das análises da expressão do Ki-67 por imunohistoquímica, tanto em melanomas quanto em outros tipos de tumores, enfrentam diversas dificuldades desde o início de sua utilização. A variabilidade interlaboratorial e interobservador tem sido amplamente discutida e analisada em diferentes estudos.

O desafio na padronização dessas análises decorre, em grande parte, da disparidade nos pontos de corte estabelecidos para desfechos clínicos, observada entre estudos realizados por diferentes instituições e grupos de pesquisa. Essa falta de uniformidade dificulta a validação externa dos resultados e limita sua aplicação clínica, comprometendo a generalização dos valores encontrados⁴².

Em 2002, Mengel et al. conduziram um amplo estudo multicêntrico envolvendo 172 laboratórios, com o objetivo de avaliar a reprodutibilidade interlaboratorial e interobservador na análise imunohistoquímica do índice de marcação do Ki-67. O estudo visou identificar os fatores que contribuem para a variabilidade nos resultados entre diferentes laboratórios e observadores, propondo melhorias para a padronização da técnica e para o aumento da confiabilidade do Ki-67 como marcador prognóstico. Blocos de tecidos fixados em formalina, contendo amostras de neoplasias com diferentes graus de proliferação celular, foram analisados conforme os protocolos próprios de cada laboratório. Posteriormente, os resultados obtidos foram enviados para análise centralizada.

As lâminas foram revisadas por um painel central de patologistas independentes, com o objetivo de avaliar a consistência dos resultados entre os laboratórios. Os índices de marcação do Ki-67 foram comparados e analisados para determinar a reprodutibilidade, e o coeficiente kappa foi utilizado para avaliar a concordância interobservador. A variabilidade interlaboratorial foi avaliada em termos de sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade. O estudo identificou uma alta variabilidade interlaboratorial, com uma concordância média de apenas 75,7% entre os laboratórios participantes, atribuída principalmente às diferenças nos métodos de recuperação de epítomos, técnicas de coloração e sistemas de detecção utilizados.

A reprodutibilidade interobservador foi considerada substancial para a maioria dos casos (κ médio: 0,6-0,8), mas apresentou resultados inferiores em tecidos com baixos índices de proliferação celular (Ki-67 entre 1% e 20%). Além disso, os métodos de fixação e processamento dos tecidos mostraram grande influência nos índices de marcação. Fixações prolongadas em formalina tamponada resultaram em maior confiabilidade nos resultados, enquanto métodos como congelamento prévio ou descalcificação reduziram significativamente a marcação do Ki-67.

O estudo recomendou a implementação de ensaios de proficiência externa, o uso de materiais de controle homogêneos e a padronização de protocolos técnicos para a análise imunohistoquímica do Ki-67. Adicionalmente, sugeriu a utilização de microarrays de tecido como ferramenta de controle de qualidade em estudos multicêntricos, dada sua capacidade de fornecer resultados mais consistentes e reprodutíveis.

A pesquisa de Mengel et al. (2002) reforçou os achados previamente observados em estudos da época, destacando a falta de concordância nos resultados entre diferentes laboratórios e, conseqüentemente, a dificuldade em reproduzir, na prática clínica, os dados obtidos em estudos realizados em diferentes regiões do mundo⁴².

Em março de 2010, o Grupo de Trabalho Internacional de Ki-67 em Câncer de Mama reuniu-se com o objetivo de desenvolver recomendações para padronizar a análise desse marcador, culminando na publicação de diretrizes abrangentes em 2011. O estudo apresentou orientações detalhadas sobre as etapas pré-analíticas, analíticas e de interpretação da expressão de Ki-67, buscando mitigar os fatores que comprometem sua confiabilidade como marcador prognóstico.

Entre os fatores pré-analíticos destacados, incluem-se o tipo de biópsia, o intervalo para o início da fixação, o fixador utilizado e as condições de armazenamento a longo prazo. Embora o tipo de biópsia tenha sido considerado de menor impacto, a análise de todo o espécime mostrou potencial para gerar pontuações mais elevadas do que amostras isoladas. Outros fatores, como atrasos prolongados antes da fixação, congelamento prévio, uso de fixadores não padronizados e protocolos inadequados de descalcificação, foram identificados como prejudiciais à análise da expressão de Ki-67, reforçando a necessidade de fixação em formalina tamponada neutra para garantir a preservação da antigenicidade do tecido mesmo após longos períodos.

Na etapa analítica, o anticorpo monoclonal MIB1 foi apontado como o padrão ouro devido à sua alta especificidade e sensibilidade. Alternativamente, o anticorpo SP6 tem demonstrado vantagens incrementais, incluindo maior sensibilidade e desempenho em análises quantitativas por imagem. Para evitar superestimação do índice de Ki-67, recomenda-se atenção à contracoloração adequada, essencial para identificar corretamente núcleos negativos.

No processo de interpretação, apenas a coloração nuclear deve ser considerada, enquanto marcações citoplasmáticas ou de membrana devem ser ignoradas. A pontuação do Ki-67 é definida pela porcentagem de células tumorais com coloração nuclear positiva em relação ao total de células malignas avaliadas. Para garantir representatividade, é recomendado pontuar entre 500 e 2000 células tumorais, com 1000 sendo o ideal. Em casos de coloração heterogênea, áreas da periferia do tumor devem ser priorizadas por representarem a região biologicamente mais ativa. Pontos quentes, definidos como áreas de coloração elevada, podem ser incluídos na pontuação geral ou evitados, dependendo da abordagem do estudo. Referiu também que Microarrays de tecido (TMAs) são ferramentas úteis para estudos epidemiológicos e ensaios clínicos, mas ainda não são recomendados para estabelecer pontos de corte clínicos devido à falta de comparações sistemáticas com seções inteiras.

O grupo conclui em seu trabalho que a análise dos dados de Ki-67 enfrenta desafios devido à ausência de padronização metodológica, o que dificulta a aplicação universal dos resultados. A definição de pontos de corte, essencial para categorizar populações em grupos de risco, permanece sem consenso, especialmente diante das diferentes abordagens e contextos clínicos. Esses desafios reforçam a necessidade de padronização para que o Ki-67 possa ser utilizado de maneira consistente e confiável em estudos e na prática clínica¹⁹.

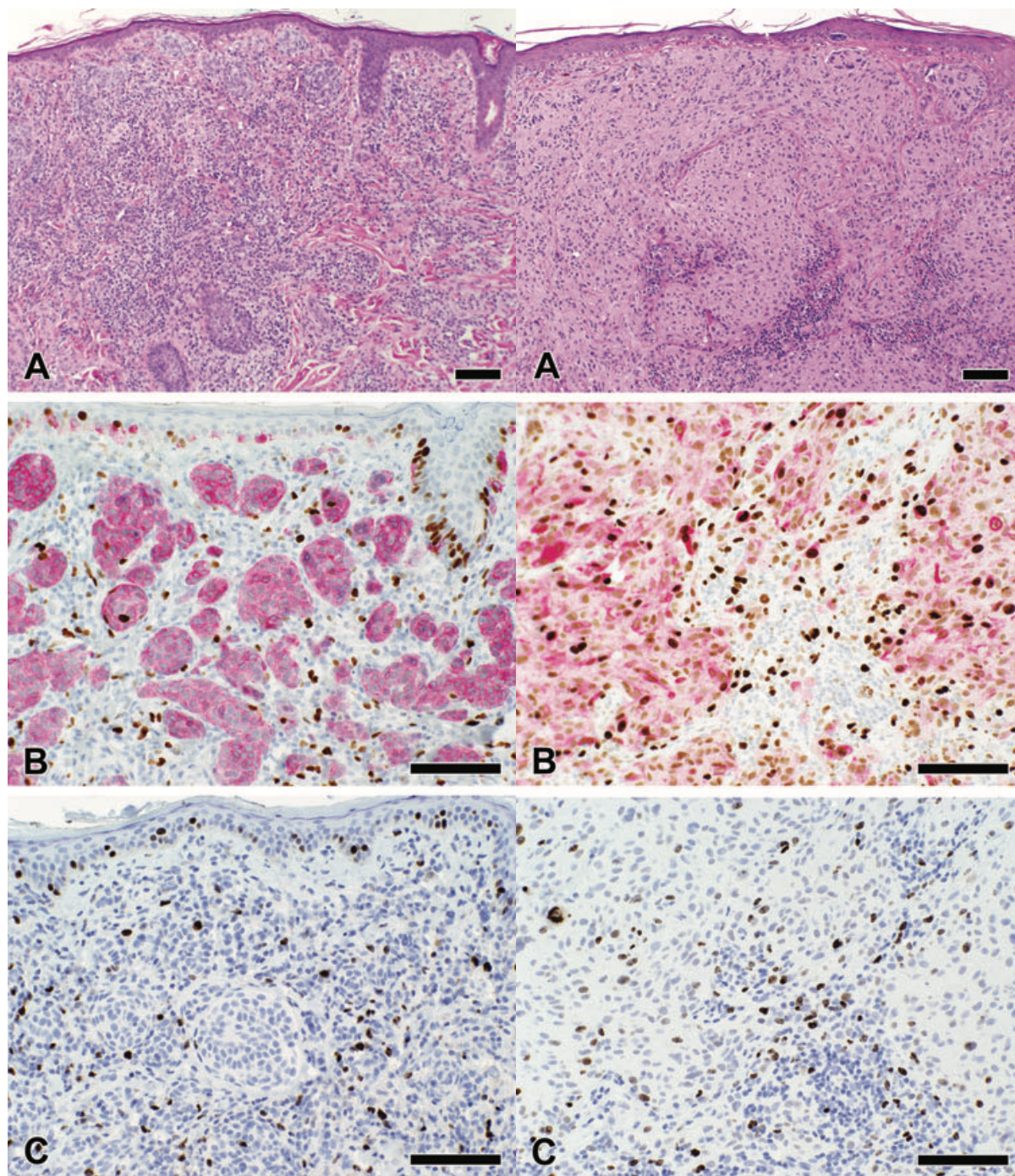
Por mais que essas orientações tenham sido realizadas no contexto do câncer de mama, as informações acima descritas são importantes e podem ser utilizadas na análise da expressão imunohistoquímica do Ki-67 no melanoma.

Outro dado interessante foi publicado por Raap et al., em 2017, o qual mostrou que programas regulares de controle de qualidade são ferramentas eficazes para reduzir a variabilidade entre laboratórios e aumentar a confiabilidade da avaliação de Ki-67⁴³.

Diante das dificuldades relacionadas à padronização, análise e interpretação da expressão do Ki-67 por imunohistoquímica em diversos tumores, especialmente no câncer de mama, é natural que desafios semelhantes sejam observados no melanoma. Alguns estudos têm explorado combinações de marcadores imunohistoquímicos e técnicas específicas com o objetivo de aumentar a precisão dos resultados e análise da proliferação celular.

Nielsen et al. (2011) destacaram um dos principais desafios na análise do índice de Ki-67 em melanomas e nevos: a presença de infiltrados linfocíticos proliferativos, que podem levar a interpretações equivocadas. Torna-se fundamental distinguir a marcação de Ki-67 em melanócitos daquela observada em linfócitos, histiócitos, células estromais e epiteliais, que também podem apresentar atividade proliferativa. A ausência dessa distinção pode resultar na superestimação do índice de Ki-67, comprometendo a confiabilidade dos resultados. Para abordar essa limitação, Nielsen et al. (2011) e Puri et al. (2010) sugeriram a utilização de dupla marcação imunohistoquímica, combinando Ki-67 com o marcador melanocítico MART-1, como estratégia para diferenciar melanócitos Ki-67 positivos de outras células proliferativas (Figura 16). Essa técnica foi apontada como uma forma de aumentar a precisão e a acurácia na análise do Ki-67, contribuindo para diagnósticos mais consistentes e confiáveis em lesões melanocíticas^{44,46}.

Figura 16 – Representações de bloco de células de nevo atípico com coloração H&E e dupla marcação imuno-histoquímica com Melan-A/Ki-67



Fonte: Puri et al., 2010⁴⁶

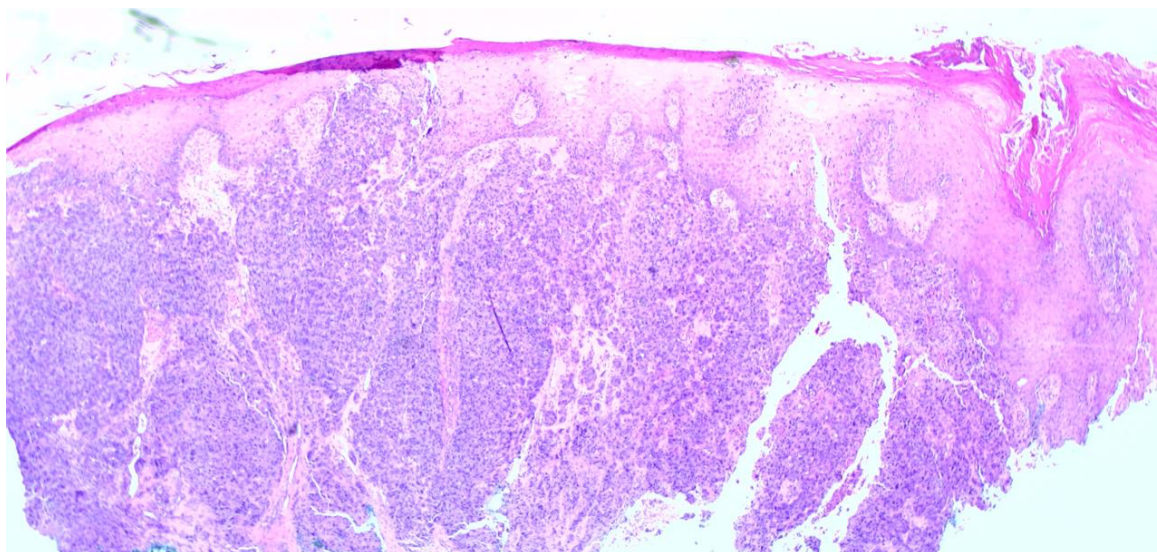
Legenda: A) Nevo atípico com características de halo, coloração H&E, aumento de 100×. B) Dupla coloração Melan-A/Ki-67, aumento de 200×. C) Coloração para Ki-67, aumento de 200×. Barra = 100 μm ⁴⁶.

Nielsen et al. (2013) em outra publicação investigou os índices de proliferação de fosfo-histona H3 (PHH3) e Ki-67 como marcadores prognósticos em melanomas cutâneos primários nos estágios I/II. Ressalta-se que o marcador de proliferação fosfohistona H3 (PHH3) visualiza apenas as quatro fases reais de mitose, enquanto o Ki-67 marca o núcleo das células nas fases ativas do ciclo celular (G1, S, G2 e M), exceto G0. O estudo analisou amostras de 153 pacientes consecutivos com um seguimento médio de 12 anos, avaliando a coloração de PHH3/MART1 e Ki67/MART1 em áreas de alta proliferação (hot spots) e no tumor global. As análises demonstraram que os índices de proliferação baseados em hot spots para PHH3 e Ki67 foram marcadores prognósticos independentes para a sobrevivência livre de progressão e morte específica por melanoma, superando os índices obtidos por H&E. PHH3 apresentou melhor desempenho prognóstico em relação ao Ki-67, e ambos os marcadores foram mais eficazes que as colorações convencionais. Além disso, o estudo destaca que as colorações duplas melhoram a precisão ao distinguir células melanocíticas de outras células proliferativas, como linfócitos, e facilitam a análise automatizada, demonstrando potencial para serem robustas alternativas à detecção mitótica convencional⁴⁵.

Apesar dos inúmeros estudos que evidenciam as dificuldades na padronização da análise da expressão do Ki-67, bem como estratégias para aumentar a acurácia dessa avaliação – como a dupla marcação ou o uso de outros marcadores, como o PHH3 –, a literatura predominantemente demonstra que o Ki-67 fornece uma informação prognóstica relevante para pacientes diagnosticados com melanoma cutâneo.

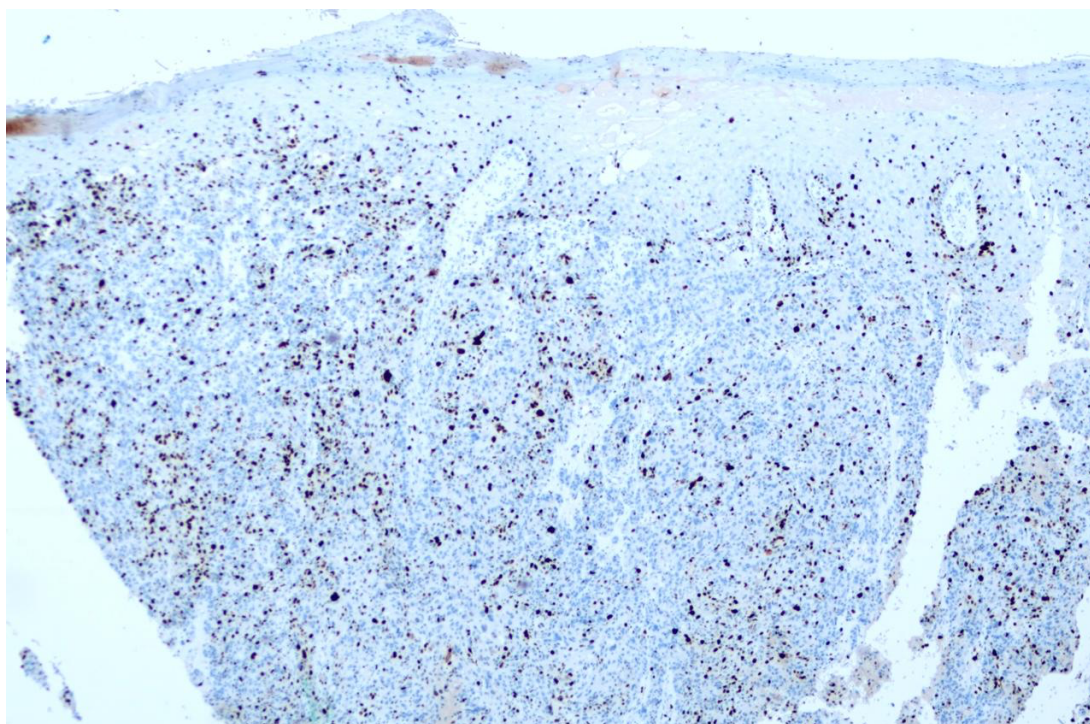
Em nosso estudo, a padronização dos procedimentos laboratoriais no AC Camargo Cancer Center, aliada à revisão das lâminas por patologistas especialistas em tumores cutâneos (exemplificado nas figuras 17, 18 e 19), com ampla experiência e seguindo rigorosamente as recomendações internacionais previamente estabelecidas, conferiu maior robustez e confiabilidade aos dados obtidos.

Figura 17 - Fotomicroscopia HE (20x): Melanoma acral lentiginoso



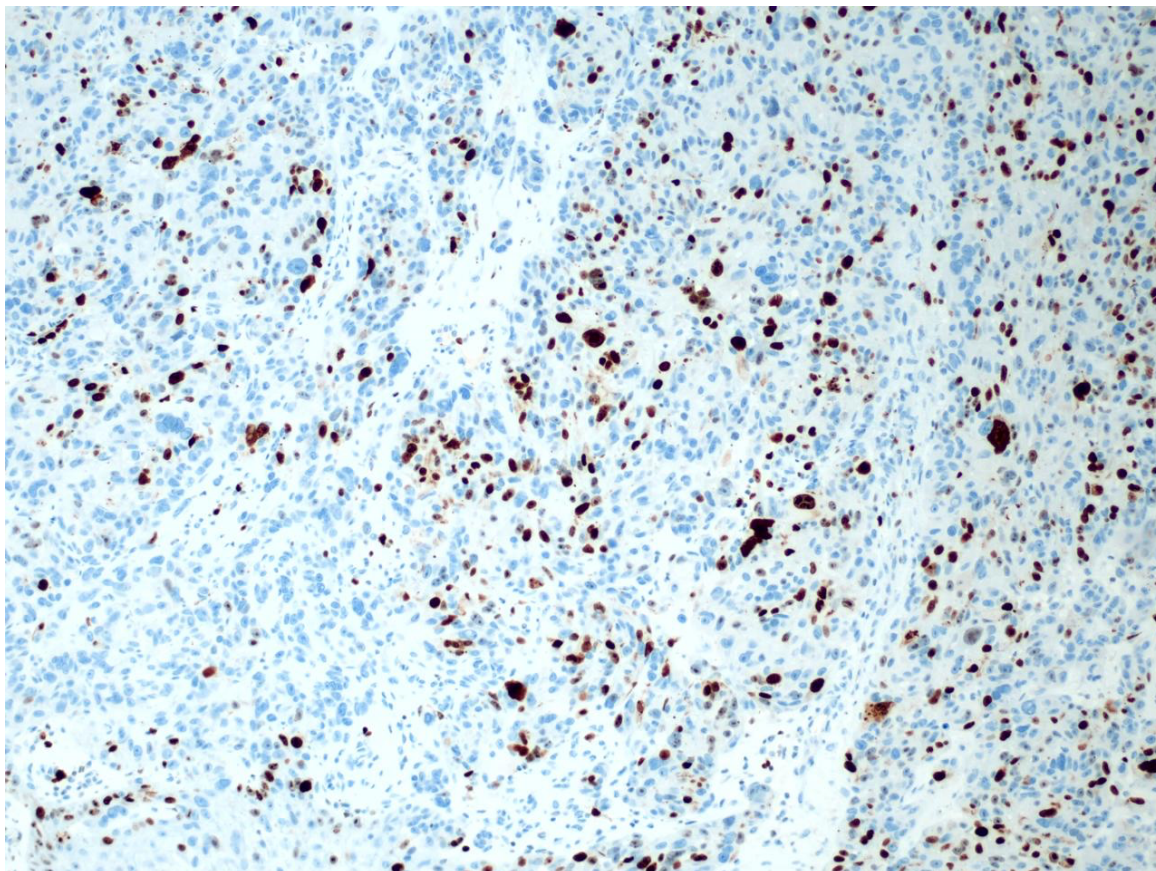
Fonte: Serviço de anatomia patológica do AC Camargo Cancer Center

Figura 18 – Fotomicroscopia IHQ Ki-67 (40x): Melanoma acral lentiginoso



Fonte: Serviço de anatomia patológica do AC Camargo Cancer Center

Figura 19 – Fotomicroscopia IHQ Ki-67 (200x): Expressão nuclear da proteína 40%, Melanoma acral lentiginoso



Fonte: Serviço de anatomia patológica do AC Camargo Cancer Center

6.4 Aplicabilidade do Ki-67 frente aos perfis de expressão gênica (GEP) e possibilidade de sua integração em normogramas que preveem a positividade do linfonodo sentinela

O século XXI tem testemunhado uma evolução tecnológica sem precedentes. A incorporação de novas informações, o uso de inteligência artificial e dados cada vez mais específicos transformam diariamente nossa percepção da medicina e da ciência.

No final dos anos 1990, algumas publicações introduziram uma nova perspectiva sobre a biologia molecular, análises prognósticas e tratamentos específicos dos tumores: o perfil de expressão gênica (GEP)⁴⁷.

O GEP analisa a expressão gênica de um tumor em nível de transcrição, utilizando métodos em tempo real para definir seu perfil molecular. Essas informações auxiliam na avaliação do comportamento e agressividade tumoral⁴⁸.

No contexto do melanoma, a análise prognóstica do tumor primário baseia-se atualmente na espessura (Breslow) e na presença ou ausência de ulceração. Entretanto, de forma dissociada, melanomas finos podem evoluir com recorrência, progressão e óbito. Esses desfechos inesperados indicam a necessidade de informações mais específicas que auxiliem no direcionamento do tratamento baseado na análise de risco do paciente⁴⁸.

Nesse cenário, o uso do GEP em melanoma busca detalhar e definir melhor esse risco, auxiliando a equipe médica na conduta frente à diversidade de pacientes e tumores.

Atualmente, estão disponíveis diversos testes para melanoma cutâneo, com destaque para o Decision-Dx Melanoma™ – um painel com 28 genes de assinatura e 3 genes de controle, destinado a estratificar pacientes em alto e baixo risco⁴⁸. Greenhaw et al. (2020), em sua metanálise com 1.479 pacientes derivados de três grandes estudos e uma nova coorte que utilizaram o teste GEP com 31 genes, optou por dividir os pacientes em dois grandes grupos: Classe 1 (baixo risco) e Classe 2 (alto risco). Dentro desses grupos, subdividiu em quatro classes: 1A (menor risco), 1B e 2A (risco intermediário) e 2B (alto risco).

Os resultados foram substanciais ao demonstrar uma diferença estatisticamente significativa na sobrevida livre de recorrência em 5 anos – 91,4% e 94,1% para pacientes

de Classe 1A e 43,6% e 55,5% para pacientes de Classe 2B ($P < 0,0001$). Além disso, os indivíduos classificados na Classe 2 apresentavam elevado risco de recorrência (taxa de risco 2,90; $P < 0,0001$) e metástase distante (HR 2,75; $P < 0,0001$). A regressão multivariada de Cox mostrou que a classe de perfil de expressão gênica foi um preditor de risco de recorrência, independente da espessura de Breslow, estado de ulceração, idade do paciente e resultados da biópsia do linfonodo sentinela ($P < 0,0001$; HR 2,90; IC 95% 2,01-4,19)²⁶. Tais resultados foram robustos em demonstrar uma diferença importante nos desfechos clínicos entre os grupos de baixo e alto risco.

Uma informação interessante desse estudo é a comparação dos resultados e análises prognósticas do GEP com a pesquisa do linfonodo sentinela. Nele, observa-se que o risco relativo associado a um resultado de Classe 2 no GEP 31 é semelhante ao de um resultado positivo na pesquisa do linfonodo sentinela, indicando que ambos os métodos possuem capacidade comparável de identificar pacientes com maior risco de recorrência ou metástase. Entretanto, a concordância entre os resultados do GEP 31 e da pesquisa de linfonodo sentinela é de aproximadamente 49% para recorrência e metástase distal. Essa taxa moderada de concordância sugere que o GEP 31 oferece informações prognósticas complementares às fornecidas pela pesquisa do linfonodo sentinela, mas ainda não o substitui²⁶.

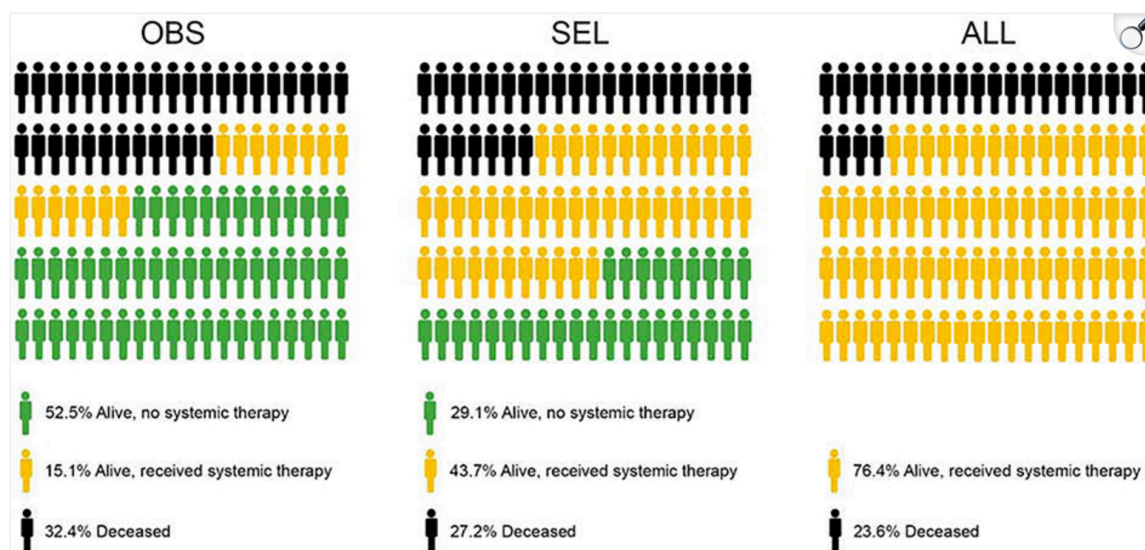
Apesar do crescente número de estudos sobre o uso do GEP para discriminação de risco e auxílio na conduta do paciente com melanoma, os principais guidelines, como o NCCN, ainda não o indicam para uso rotineiro²⁷.

No que tange à relação custo-benefício, todo teste ou tratamento precisa justificar seu custo. O trabalho publicado por Hu et al. (2020) foi específico ao avaliar o estágio IIIA. Neste estudo, foram avaliados três cenários: observação, adjuvância com pembrolizumab para todos e adjuvância com pembrolizumab apenas para aqueles com alto risco definido pelo GEP. O objetivo foi o custo por mortalidade evitada em 10 anos⁴⁹.

O custo adicional estimado por mortalidade evitada (em comparação com observação) foi de US\$ 2,1 milhões para a adjuvância seletiva e US\$ 2,4 milhões para o grupo em que todos receberam pembrolizumab (custos de US\$ 583,0 mil e US\$ 697,1 mil por ano de vida, respectivamente). Após diversas análises e ponderações, os autores concluíram que o uso do GEP 31 para estratificar pacientes de risco tem o potencial de melhorar

marginalmente a relação custo-efetividade em relação a uma abordagem adjuvante universal, com uma pequena compensação na sobrevida geral de 10 anos. Ressalta-se que o mesmo teste não está indicado para analisar o risco em pacientes estágio IIIA, por ainda não ter resultados satisfatórios na estratificação entre alto e baixo risco⁴⁹.

Figura 20 – Sobrevida geral estimada de dez anos associada às várias estratégias de tratamento.



Fonte: Hu Y et al., 2020⁴⁹

Legenda: Preto significa a proporção de pacientes falecidos aos 10 anos (independentemente das linhas de tratamento recebidas). Amarelo significa a proporção de pacientes vivos após o tratamento com pelo menos 1 terapia sistêmica. Verde significa a proporção de pacientes vivos sem nunca receber tratamento sistêmico. As estratégias SEL e ALL estão associadas a menos mortes, ao custo de mais pacientes sendo tratados com pelo menos um curso de terapia sistêmica. OBS, observação inicial; SEL, tratamento adjuvante seletivo de pacientes classificados como de alto risco pelos resultados de 31-GEP; ALL, tratamento adjuvante de todos os pacientes em estágio IIIA⁴⁹.

No estudo de Hu et al. (2020), o custo naquele ano para o teste GEP 31 era em torno de US\$ 7.000 por paciente, o que dificulta o acesso, principalmente em países em desenvolvimento ou naqueles em que a saúde é custeada pelo estado. Nosso trabalho propõe uma nova hipótese a ser futuramente investigada: a possibilidade do uso do Ki-67, sabidamente uma avaliação imuno-histoquímica com custo menor e mais acessível que o GEP, como mais um dado clínico-patológico para melhorar a estratificação de risco dos pacientes com melanoma.

A principal hipótese levantada não é que o resultado da análise imuno-histoquímica do Ki-67 isoladamente forneça os dados necessários para definir um paciente como de baixo ou alto risco de metástase, mas sim que, em associação com os demais fatores prognósticos bem definidos e utilizados pela literatura em estruturas estatísticas como nomogramas, possa aprimorar a estratificação de risco.

As análises estatísticas de nossa casuística demonstraram que o grupo com Ki-67 >12,5% apresentou maior risco de óbito (HR 6,07; IC 95%, 1,33-27,64; $p = 0,032$), recidiva (HR 2,67; IC 95%, 1,21-5,90; $p = 0,015$) e positividade do linfonodo sentinela (OR 3,11; IC 95%, 1,8–5,36; $p < 0,001$), estabelecendo-se como marcador prognóstico independente para sobrevida global e sobrevida livre de recorrência na análise multivariada de Cox.

Entretanto, ao analisarmos três nomogramas bem estabelecidos e validados na literatura, que fazem parte da rotina clínica como ferramentas para prever a positividade do linfonodo sentinela, nenhum deles utiliza o Ki-67 como variável.

O nomograma da Dra. Sandra L. Wong, do Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, publicado em 2005, foi desenvolvido para prever a positividade do linfonodo sentinela. O estudo incluiu 979 pacientes submetidos a biópsia bem-sucedida do linfonodo sentinela, e os dados foram validados com 3.286 pacientes de um grande estudo multi-institucional, com o intuito de avaliar a precisão preditiva do método. As variáveis utilizadas neste estudo foram: idade, espessura do melanoma (Breslow), nível de Clark, localização e presença ou ausência de ulceração. Os resultados demonstraram que o nomograma apresentou uma capacidade de discriminação superior à do estadiamento AJCC, com um índice de concordância de 0,694 versus 0,663, respectivamente ($P < 0,001$). Além disso, ficou evidente que o estadiamento da AJCC possuía diversas faixas de risco para o desfecho de linfonodo sentinela positivo quando analisadas as probabilidades previstas pelo nomograma dentro de cada estágio²⁹. Diante da importância prognóstica demonstrada pelo MSLT-1 na positividade do linfonodo sentinela, embora o procedimento possa acarretar morbidade ao paciente, esse nomograma mostrou ser uma ferramenta útil na estratificação do risco e auxílio na indicação da pesquisa do linfonodo sentinela.

Em 2020, o Melanoma Institute Australia (MIA) publicou seu nomograma para avaliar o risco de linfonodo sentinela positivo em melanoma cutâneo. Foram avaliados 3.477 pacientes, e os dados foram validados externamente com outros 3.496 pacientes do MD Anderson Cancer Center, no Texas, EUA. A diferença em relação ao nomograma do Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC) foi a retirada da localização do tumor e do nível de Clark, e a introdução de outros três fatores: taxa mitótica, subtipo de melanoma e invasão linfovascular. Os resultados buscaram comparar os nomogramas e evidenciaram uma melhora significativa na capacidade preditiva do risco de linfonodo sentinela positivo com as modificações realizadas pelos australianos. O modelo do MIA apresentou uma melhoria absoluta de 6,2% na estatística C em comparação com o modelo MSKCC ($P < 0,001$) e uma melhoria de 20,2% em relação aos critérios da NCCN ou ASCO/SSO (T2+)³⁰. O aumento da especificidade deste nomograma, comparado aos outros métodos, sugere uma redução no número de falsos positivos, o que pode minimizar procedimentos desnecessários em pacientes com menor risco.

Bertolli et al. (2020) realizaram um estudo nacional no AC Camargo Cancer Center para desenvolver um nomograma com o mesmo intuito de avaliar o risco de linfonodo sentinela positivo em melanoma cutâneo, diferenciando-se dos demais principalmente pela população avaliada, já que o Brasil possui um povo extremamente miscigenado. O estudo abrangeu 1.213 pacientes. As variáveis utilizadas foram: localização do tumor, espessura (Breslow), índice mitótico, regressão, invasão linfática, subtipo de melanoma e nível de Clark. Este nomograma demonstrou desempenho e calibração adequados, com um poder discriminatório aceitável (AUC de 0,767). Na validação interna, o modelo manteve seu desempenho, indicando sua robustez. Ao aplicar um ponto de corte de 0,192 de probabilidade, o modelo apresentou sensibilidade, especificidade e acurácia de 0,717, com um valor preditivo negativo de 0,910, sugerindo que é eficaz em identificar pacientes com baixa probabilidade de metástase no linfonodo sentinela. Um ponto interessante do trabalho de Bertolli é que, na análise multivariada após múltiplas regressões logísticas, a taxa mitótica sobrepôs-se à ulceração, que é parte do estadiamento TNM. Achados semelhantes já foram demonstrados em estudos anteriores realizados no AC Camargo e reforçam a importância da taxa mitótica³¹. Considerando que o Ki-67 é um índice de proliferação celular que parece ser mais fidedigno do que a taxa mitótica, e com achados

semelhantes na análise multivariada realizada em nossa casuística, essa informação reforça nossos resultados.

A evolução dos nomogramas utilizados como preditores de linfonodo sentinela positivo desde 2005, com o trabalho de Wong SL et al., até as publicações do Melanoma Institute Australia (MIA) e do AC Camargo Cancer Center em 2020, evidenciaram que a utilização e adição de fatores prognósticos mais específicos geraram um ganho na precisão preditiva do método. Com o resultado de nosso estudo evidenciando que o Ki-67 > 12,5% está associado a um risco três vezes maior de positividade do linfonodo sentinela (OR 3,11; IC 95%, 1,8–5,36; $p < 0,001$), deve-se considerar o Ki-67 um fator prognóstico relevante que pode ser introduzido em um novo nomograma, como os anteriormente citados, gerando ainda mais precisão nos resultados.

Um nomograma incorporando o Ki-67 foi publicado por Du et al. (2023), especificamente para melanomas acral, com o objetivo de prever a sobrevida específica do melanoma. O estudo incluiu 314 pacientes de uma população chinesa com melanoma acral. Os pacientes foram classificados em grupos de baixo e alto risco com base nos pontos de corte de Ki-67: $\geq 30\%$ (alto risco) e $< 30\%$ (baixo risco). As variáveis utilizadas no nomograma foram: Ki-67, sexo, ulceração, cirurgia (ressecção completa), LDH, localização do tumor primário, presença de metástase à distância, presença de metástase linfonodal e espessura de Breslow. O objetivo do nomograma era, a partir de sua pontuação, categorizar os pacientes em quatro faixas de sobrevida: 1, 3, 5 e 8 anos. O índice C foi de 0,765 na coorte de treinamento e 0,758 na coorte de validação, indicando boa precisão do modelo de previsão²³.

Apesar do pequeno tamanho amostral e das peculiaridades do melanoma acral, já anteriormente destacadas neste trabalho, a utilização do Ki-67 para elaboração de um nomograma preditor de sobrevida específica para o melanoma representa um avanço que abre novas possibilidades para o uso deste marcador.

6.5 Análise crítica dos resultados: contribuições e limitações do estudo

Este estudo trouxe contribuições significativas para literatura acerca da expressão imuno-histoquímica de Ki-67 e os desfechos clínicos em melanoma cutâneo. Diante do que já havia sido publicado, é a maior coorte de casos com análise de Ki-67 para melanoma cutâneo, sem especificar o subtipo – há trabalhos de melanoma acral e metanálise que incluiu outros tipos de melanoma com amostras maiores e publicados.

Foram 457 pacientes avaliados em uma coorte retrospectiva no período de 2010 a 2018 em uma única instituição reconhecida pela excelência nos cuidados e atenção aos seus pacientes, o AC Camargo Cancer Center. Além disso, a população avaliada inclui um perfil miscigenado, representando um panorama mais amplo e possivelmente aplicável a outras populações, diferente dos estudos previamente publicados.

A definição do ponto de corte de 12,5% para o Ki-67, que estratificou os pacientes em grupos de baixo e alto risco, foi baseada em uma abordagem estatística robusta, utilizando a curva ROC. Esse valor demonstrou alta sensibilidade (92%) e especificidade (69,4%) na predição da sobrevida global, podendo servir como referência para estudos futuros e potencialmente ser incorporado a algoritmos prognósticos. No entanto, é importante considerar que, na prática clínica, os patologistas não costumam relatar valores fracionados de expressão de Ki-67 em seus laudos. Na amostra deste estudo, os valores observados seguiram predominantemente escalas múltiplas de 5. Assim, poderia-se argumentar que um ponto de corte mais aplicável à rotina diagnóstica seria $\leq 10\%$ e $> 10\%$. Contudo, optamos por manter o valor de 12,5% estabelecido pela análise estatística, garantindo fidelidade aos dados obtidos por meio da curva ROC.

Os resultados deste estudo demonstraram que uma expressão de Ki-67 superior a 12,5% está significativamente associada a um maior risco de óbito (HR 6,07; IC 95%, 1,33–27,64; $p = 0,032$), recidiva (HR 2,67; IC 95%, 1,21–5,90; $p = 0,015$) e positividade do linfonodo sentinela (OR 3,11; IC 95%, 1,8–5,36; $p < 0,001$). A análise multivariada para sobrevida global e sobrevida livre de recorrência confirmou que o Ki-67 $> 12,5\%$ é um fator prognóstico independente, demonstrando impacto superior a fatores amplamente estabelecidos, como a espessura de Breslow, ulceração e índice mitótico.

Importante salientar que a população estudada era majoritariamente composta por pacientes com melanoma de Breslow fino (mediana de 1,1 mm) e classificados no Estádio I (63,9%) segundo a 8ª edição da AJCC. Essa característica reduz o impacto dos fatores prognósticos tradicionais nos desfechos clínicos e diferencia este estudo de outros que avaliaram pacientes com tumores mais avançados. Tais achados reforçam a relevância do Ki-67 como um marcador clínico-patológico com potencial para aprimorar a estratificação de risco no melanoma cutâneo.

Outro ponto relevante a ser considerado é que, no período de inclusão dos pacientes neste estudo (2010-2018), as terapias sistêmicas disponíveis no AC Camargo apresentavam eficácia limitada em termos de melhora na sobrevida global e na sobrevida livre de recorrência, destacando-se o interferon alfa-2B e a quimioterapia baseada em dacarbazina. Dessa forma, é possível inferir que houve mínima influência de tratamentos sistêmicos nos desfechos analisados, o que confere maior robustez à associação observada entre Ki-67 e os desfechos clínicos.

A análise por curva ROC foi utilizada também para determinar o valor de Ki-67 com a melhor sensibilidade, especificidade e acurácia para prever a positividade do linfonodo sentinela. Mais uma vez, o valor de 12,5% de expressão de Ki-67 na imuno-histoquímica do melanoma primário demonstrou ser o ponto de corte com melhor acurácia. Para esse valor de corte, a sensibilidade foi de 64,3%, a especificidade de 63,3% e a acurácia de 63,5%. O odds ratio para Ki-67 > 12,5% e a positividade do linfonodo sentinela foi de 3,11 (IC 95%: 1,8 – 5,36; $p < 0,001$), evidenciando o potencial de Ki-67 como preditor de positividade do linfonodo sentinela. Este resultado abre portas para utilização desse fator em ferramentas preditivas, como normogramas, afim de melhorar a acurácia do método.

A adição de mais um fator clínico-patológico de relevância na avaliação prognóstica do melanoma cutâneo auxilia na estratificação de risco e, por consequente, na determinação de cuidados e tratamentos mais específicos para os pacientes. O que se traduz em maior assertividade, menor morbidade e maior custo-benefício no tratamento e seguimento dos doentes.

Entretanto, nosso trabalho também possui limitações e por se tratar de um estudo retrospectivo, pode haver viés de seleção inerente à coleta de dados a partir de registros hospitalares. Além disso, a realização do estudo em um único centro limita a generalização

dos resultados para outras instituições com diferentes protocolos de análise imuno-histoquímica.

A análise da expressão por imuno-histoquímica do Ki-67 pode variar conforme técnicas de coloração, metodologia de contagem celular e interpretação patológica. Embora os procedimentos laboratoriais tenham sido padronizados e conduzidos por patologistas experientes em dermato-patologia, a falta de um protocolo universal para quantificação do Ki-67 no melanoma pode impactar a reprodutibilidade externa dos achados.

Outro fato importante é a ausência de análise por dupla marcação imuno-histoquímica, já demonstrado como um fator que aumenta a acurácia e reprodutibilidade do resultado.

Diante dos achados deste estudo, diversas direções podem ser exploradas para futuras investigações. Uma abordagem promissora seria avaliar a correlação entre a expressão de Ki-67 e testes moleculares, como os perfis de expressão gênica, a fim de determinar o valor adicional desse marcador na estratificação prognóstica do melanoma. Além disso, é fundamental ampliar a discussão sobre a viabilidade de testes mais acessíveis, que possam ser aplicados em contextos com recursos limitados, viabilizando sua utilização em centros com menor infraestrutura e disponibilidade financeira.

Nesse contexto, conforme discutido anteriormente, outra perspectiva relevante seria o desenvolvimento de nomogramas que integrem a expressão de Ki-67 a outros fatores prognósticos já validados, potencialmente aprimorando a acurácia na predição de desfechos clínicos.

Seria interessante, também, investigar o impacto do Ki-67 no prognóstico de subgrupos em que ainda há incertezas quanto à necessidade de terapia adjuvante, como os pacientes com melanoma estágio II de alto risco e aqueles classificados como estágio IIIA na 8ª edição da AJCC. Essas análises poderiam contribuir para a otimização das estratégias terapêuticas e personalização do tratamento.

Outro aspecto fundamental é a busca pela padronização internacional da análise imunohistoquímica da expressão de Ki-67 no melanoma, a fim de garantir a reprodutibilidade dos resultados entre diferentes laboratórios e patologistas, aumentando, assim, a validade externa dos estudos.

Por fim, a realização de estudos prospectivos multicêntricos é essencial para validar o ponto de corte de 12,5% do Ki-67 e avaliar sua aplicabilidade em diferentes populações, possibilitando sua incorporação como um marcador prognóstico robusto na prática clínica.

7. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo indicam que a expressão de Ki-67 $> 12,5\%$ é um marcador prognóstico significativo e independente para sobrevida global e sobrevida livre de recorrência em pacientes com melanoma cutâneo. Além disso, esse ponto de corte demonstrou uma associação relevante com a positividade do linfonodo sentinela, reforçando seu potencial como indicador de agressividade tumoral.

Esses achados evidenciam a importância do Ki-67 como uma ferramenta complementar na estratificação de risco e no planejamento terapêutico, sugerindo sua possível incorporação em algoritmos prognósticos para aprimorar a tomada de decisão clínica no manejo do melanoma cutâneo.

8. REFERÊNCIAS

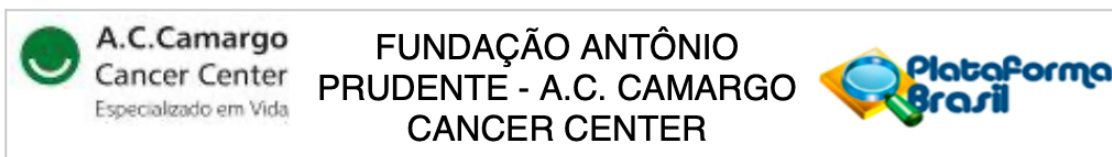
1. Peng Z, Shen L, Shen L. Prognostic and clinicopathological value of Ki-67 in melanoma: a meta-analysis. *Front Oncol.* 2021;11:737760. doi:10.3389/fonc.2021.737760.
2. American Cancer Society. Key statistics for melanoma skin cancer [Internet]. [Acesso em 10 mar. 2025]. Available from: <https://www.cancer.org/cancer/melanoma-skin-cancer/about/key-statistics.html>.
3. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2023: incidência do câncer no Brasil [Internet]. Rio de Janeiro: INCA; 2022 [Acesso em: 25 jan. 2023]. Available from: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estimativa>.
4. Gershenwald JE, Scolyer RA, Hess KR, Sondak VK, Long GV, Ross MI, et al. Melanoma staging: evidence-based changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin.* 2017;67(6):472-92. doi:10.3322/caac.21409.
5. Balch CM, Soong SJ, Gershenwald JE, Thompson JF, Coit DG, Atkins MB, Ding S, Cochran AJ, Eggermont AM, Flaherty KT, et al. Age as a prognostic factor in patients with localized melanoma and regional metastases. *Ann Surg Oncol.* 2013;20(12):3961-8. doi:10.1245/s10434-013-3100-9.
6. Scoggins CR, Ross MI, Reintgen DS, Noyes RD, Goydos JS, Beitsch PD, Urist MM, Ariyan S, Sussman JJ, Edwards MJ, et al. Gender-related differences in outcome for melanoma patients. *Ann Surg.* 2006;243(5):693-8. doi:10.1097/01.sla.0000216771.81362.6b.
7. Callender GG, Egger ME, Burton AL, Scoggins CR, Ross MI, Stromberg AJ, Hagendoorn L, Martin RC 2nd, McMasters KM. Prognostic implications of anatomic location of primary cutaneous melanoma of 1 mm or thicker. *Am J Surg.* 2011;202(6):659-64. doi:10.1016/j.amjsurg.2011.06.048.
8. Thomas NE, Edmiston SN, Alexander A, Groben PA, Parrish E, Kricker A, Armstrong BK, Anton-Culver H, Gruber SB, From L, et al. Association between NRAS and BRAF mutational status and melanoma-specific survival among patients with higher-risk primary melanoma. *JAMA Oncol.* 2015;1(3):359-68. doi:10.1001/jamaoncol.2015.0493.
9. Petrelli F, Viale G, Cabiddu M, Barni S. Prognostic value of different cut-off levels of Ki-67 in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 64,196 patients. *Breast Cancer Res Treat.* 2015;153(3):477-91. doi:10.1007/s10549-015-3559-0.

10. Ohsie SJ, Sarantopoulos GP, Cochran AJ, Binder SW. Immunohistochemical characteristics of melanoma. *J Cutan Pathol*. 2008;35(5):433-44.
11. Udovicic-Gagula D, Ahmovic A, Bilalovic N, Doric M. Expression of Ki-67 and estrogen receptor beta in primary cutaneous melanoma as a potential indicator of regional lymph node positivity. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2019;27(1):27-32.
12. Moretti S, Spallanzani A, Chiarugi A, Fabiani M, Pinzi C. Correlation of Ki-67 expression in cutaneous primary melanoma with prognosis in a prospective study: different correlation according to thickness. *J Am Acad Dermatol*. 2001;44(2):188-92.
13. Welch HG, Mazer BL, Adamson AS. The rapid rise in cutaneous melanoma diagnoses. *N Engl J Med*. 2021;384(1):72-9. doi:10.1056/NEJMSb2019760.
14. Li Z, Fang Y, Chen H, Zhang T, Yin X, Man J, et al. Spatiotemporal trends of the global burden of melanoma in 204 countries and territories from 1990 to 2019: results from the 2019 global burden of disease study. *Neoplasia*. 2022;24(1):12-21. doi:10.1016/j.neo.2021.11.013.
15. Arnold M, Singh D, Laversanne M, Vignat J, Vaccarella S, Meheus F, et al. Global burden of cutaneous melanoma in 2020 and projections to 2040. *JAMA Dermatol*. 2022;158(5):495-503. doi:10.1001/jamadermatol.2022.0160.
16. El Sharouni MA, Aivazian K, Witkamp AJ, Sigurdsson V, van Gils CH, Scolyer RA, et al. Association of histologic regression with a favorable outcome in patients with stage 1 and stage 2 cutaneous melanoma. *JAMA Dermatol*. 2021;157(2):166-73. doi:10.1001/jamadermatol.2020.5032.
17. Kitrell BM, Blue ED, Siller A Jr, Lobl MB, Evans TD, Whitley MJ, Wysong A. Gene Expression Profiles in Cutaneous Oncology. *Dermatol Clin*. 2023 Jan;41(1):89-99. doi: 10.1016/j.det.2022.07.018. Epub 2022 Oct 28. PMID: 36410986.
18. Wei X, Wu D, Chen Y, Li H, Zhang R, Yao H, et al. Prognostic value of ulceration varies across Breslow thicknesses and clinical stages in acral melanoma: a retrospective study. *Br J Dermatol*. 2022;186(6):977-87. doi:10.1111/bjd.21026.
19. Dowsett M, Nielsen TO, A'Hern R, Bartlett J, Coombes RC, Cuzick J, et al. Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer working group. *J Natl Cancer Inst*. 2011;103(22):1656-64. doi:10.1093/jnci/djr393.
20. Philips P, Kooby DA, Maithel S, Merchant NB, Weber SM, Winslow ER, et al. Grading using Ki-67 index and mitotic rate increases the prognostic accuracy of pancreatic neuroendocrine tumors. *Pancreas*. 2018;47(3):326-31. doi:10.1097/MPA.0000000000000990.

21. Liang C, Li D, Liang Y, Xie Y, Lin N, Guan H, et al. Prognostic and predictive significance of Ki67 in primary non-metastatic or recurrent acral melanoma: evidence from a multicenter retrospective study. *Ann Surg Oncol.* 2024;31(7):4594-604. doi:10.1245/s10434-024-15327-4.
22. Huang R, Shen G, Ren Y, Zheng K, Wang J, Shi Y, et al. Prognostic value of genetic aberrations and tumor immune microenvironment in primary acral melanoma. *J Transl Med.* 2023;21(1):78. doi:10.1186/s12967-022-03856-z.
23. Du Y, Li C, Mao L, Wei X, Bai X, Chi Z, et al. A nomogram incorporating Ki67 to predict survival of acral melanoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2023;149(14):13077-85. doi:10.1007/s00432-023-05127-w.
24. LeQuang JA. Using Gene Expression Profiling to Personalize Skin Cancer Management. *J Clin Aesthet Dermatol.* 2022 Nov;15(11 Suppl 1):S3-S15. PMID: 36405422; PMCID: PMC9664966.
25. Bittner M, Meltzer P, Chen Y, Jiang Y, Seftor E, Hendrix M, et al. Molecular classification of cutaneous malignant melanoma by gene expression profiling. *Nature.* 2000;406(6795):536-40. doi:10.1038/35020115.
26. Greenhaw BN, Covington KR, Kurley SJ, Yeniyay Y, Cao NA, Plasseraud KM, et al. Molecular risk prediction in cutaneous melanoma: a meta-analysis of the 31-gene expression profile prognostic test in 1,479 patients. *J Am Acad Dermatol.* 2020;83(3):745-53. doi:10.1016/j.jaad.2020.03.053.
27. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®): Melanoma: Cutaneous. Version 1.2025, December 20, 2024 [Internet]. [Acesso em: 29 dez. 2024.]. Available from: <https://www.nccn.org/>.
28. Sun J, Karasaki KM, Farma JM. The use of gene expression profiling and biomarkers in the diagnosis of melanoma and prediction of recurrence: implications for surveillance and treatment. *Cancers (Basel).* 2024;16(3):583. doi:10.3390/cancers16030583.
29. Wong SL, Kattan MW, McMasters KM, Coit DG. A nomogram that predicts the presence of sentinel node metastasis in melanoma with better discrimination than the American Joint Committee on Cancer staging system. *Ann Surg Oncol.* 2005;12(4):282-8. doi:10.1245/ASO.2005.05.016.
30. Lo SN, Ma J, Scolyer RA, Haydu LE, Stretch JR, Saw RP, et al. Improved risk prediction calculator for sentinel node positivity in patients with melanoma: the Melanoma Institute Australia nomogram. *J Clin Oncol.* 2020;38(24):2719-27. doi:10.1200/JCO.19.02362.

31. Bertolli E, Calsavara VF, de Macedo MP, Pinto CAL, Duprat Neto JP. Development and validation of a Brazilian nomogram to assess sentinel node biopsy positivity in melanoma. *Tumori*. 2020 Nov 3. doi:10.1177/0300891620969827.
32. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer*. 1983 Jan 15;31(1):13-20. doi:10.1002/ijc.2910310104.
33. Finkelman BS, Zhang H, Hicks DG, Turner BM. The evolution of Ki-67 and breast cancer: past observations, present directions, and future considerations. *Cancers (Basel)*. 2023 Jan 28;15(3):808. doi:10.3390/cancers15030808.
34. Ramsay JA, From L, Iscoe NA, Kahn HJ. MIB-1 proliferative activity is a significant prognostic factor in primary thick cutaneous melanomas. *J Invest Dermatol*. 1995 Jul;105(1):22-6. doi:10.1111/1523-1747.ep12312431.
35. Böni R, Doguoglu A, Burg G, Müller B, Dummer R. MIB-1 immunoreactivity correlates with metastatic dissemination in primary thick cutaneous melanoma. *J Am Acad Dermatol*. 1996 Sep;35(3 Pt 1):416-8. doi:10.1016/s0190-9622(96)90607-6.
36. Henrique R, Azevedo R, Bento MJ, Domingues JC, Silva C, Jerónimo C. Prognostic value of Ki-67 expression in localized cutaneous malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol*. 2000 Dec;43(6):991-1000. doi:10.1067/mjd.2000.109282.
37. Robinson EM, Rosenbaum BE, Zhang Y, Rogers R, Tchack J, Berman RS, et al. Association between Ki-67 expression and clinical outcomes among patients with clinically node-negative, thick primary melanoma who underwent nodal staging. *J Surg Oncol*. 2018 Jul;118(1):150-6. doi:10.1002/jso.25111.
38. Ilmonen S, Hernberg M, Pyrhönen S, Tarkkanen J, Asko-Seljavaara S. Ki-67, Bcl-2 and p53 expression in primary and metastatic melanoma. *Melanoma Res*. 2005 Oct;15(5):375-81. doi:10.1097/00008390-200510000-00005.
39. Hazan C, Melzer K, Panageas KS, Li E, Kamino H, Kopf A, et al. Evaluation of the proliferation marker MIB-1 in the prognosis of cutaneous malignant melanoma. *Cancer*. 2002 Aug 1;95(3):634-40. doi:10.1002/cncr.10685.
40. Morton DL, Thompson JF, Cochran AJ, et al. Final trial report of sentinel-node biopsy versus nodal observation in melanoma. *N Engl J Med*. 2014 Feb 13;370(7):599-609. doi:10.1056/NEJMoa1310460.
41. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Censo Demográfico 2022: resultados preliminares. Rio de Janeiro: IBGE; 2023. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv102153.pdf>. Acesso em: 30 dez. 2024.

42. Mengel M, von Wasielewski R, Wiese B, Rüdiger T, Müller-Hermelink HK, Kreipe H. Inter-laboratory and inter-observer reproducibility of immunohistochemical assessment of the Ki-67 labelling index in a large multi-centre trial. *J Pathol.* 2002 Nov;198(3):292-9. doi: 10.1002/path.1218. PMID: 12375261
43. Raap M, Ließem S, Rüschoff J, Fisseler-Eckhoff A, Reiner A, Dirnhofer S, et al. Ensaios de garantia de qualidade para avaliação Ki67 em patologia. *Virchows Arch.* 2017 Oct;471(4):501-8. doi: 10.1007/s00428-017-2142-y. Epub 2017 May 11. PMID: 28497316.
44. Nielsen PS, Riber-Hansen R, Steiniche T. Immunohistochemical double stains against Ki67/MART1 and HMB45/MITF: promising diagnostic tools in melanocytic lesions. *Am J Dermatopathol.* 2011 Jun;33(4):361-70. doi: 10.1097/DAD.0b013e3182120173. PMID: 21610457.
45. Nielsen PS, Riber-Hansen R, Jensen TO, Schmidt H, Steiniche T. Proliferation indices of phosphohistone H3 and Ki67: strong prognostic markers in a consecutive cohort with stage I/II melanoma. *Mod Pathol.* 2013 Mar;26(3):404-13. doi: 10.1038/modpathol.2012.188. Epub 2012 Nov 23. PMID: 23174936.
46. Puri PK, Valdes CL, Burchette JL, Grichnik JM, Turner JW, Selim MA. Accurate identification of proliferative index in melanocytic neoplasms with Melan-A/Ki-67 double stain. *J Cutan Pathol.* 2010 Sep;37(9):1010-2. doi: 10.1111/j.1600-0560.2009.01487.x. Epub 2009 Dec 8. PMID: 20002650.
47. Chibon F. Cancer gene expression signatures - the rise and fall? *Eur J Cancer.* 2013 May;49(8):2000-9. doi: 10.1016/j.ejca.2013.02.021. Epub 2013 Mar 13. PMID: 23498875.
48. Bollard SM, Casalou C, Potter SM. Gene expression profiling in melanoma: A view from the clinic. *Cancer Treat Res Commun.* 2021 Aug 19;29:100447. doi: 10.1016/j.ctarc.2021.100447. PMID: 34450405.
49. Hu Y, Briggs A, Marchetti MA, Ariyan CE, Coit DG, Bartlett EK. Cost-effectiveness implication of gene expression profile and adjuvant therapy in stage IIIA melanoma. *J Am Coll Surg.* 2020 Nov;231(5):547-554.e1. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2020.08.750. Epub 2020 Sep 1. PMID: 32889093; PMCID: PMC7854824.
50. Uxa S, Castillo-Binder P, Kohler R, Stangner K, Müller GA, Engeland K. Ki-67 gene expression. *Cell Death Differ.* 2021 Dec;28(12):3357-70. doi: 10.1038/s41418-021-00823-x.
51. Kalantri S, Bakshi P, Verma K. Grading of pancreatic neuroendocrine tumors on endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration using Ki-67 index and 2017 World Health Organization criteria: an analysis of 32 cases. *Cytojournal.* 2020 Sep 18;17:21. doi: 10.25259/Cytojournal_4_2020. PMID: 33014123.

ANEXO 1 – Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Avaliação da aplicabilidade da expressão imunohistoquímica do Ki67 como fator prognóstico em melanoma cutâneo

Pesquisador: EDUARDO BERTOLLI

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 67078123.3.0000.5432

Instituição Proponente: FUNDACAO ANTONIO PRUDENTE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.923.943

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos itens "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa", "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do documento "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2081655.pdf", gerado pela Plataforma Brasil em 06/02/2023; e do documento "projeto_CEP.pdf", postado na PB em 06/02/2023.

Introdução:

Melanomas são tumores embriologicamente originários da crista neural e podem acometer pele e mucosa¹. Mesmo sendo responsável por 1% dos tumores de pele, é considerado um dos mais letais dentre eles, segundo a American Cancer Society². No Brasil, segundo dados do Instituto Nacional do Câncer, foi responsável por 1.835 óbitos no ano de 2017, com estimativa de 8.980 novos casos/ano para o triênio 2023-2025³. O prognóstico do Melanoma cutâneo depende do seu estadiamento ao diagnóstico, sendo a sua espessura, presença de ulceração, taxa mitótica, a presença de metástase linfática regional ou outras metástases à distância os principais fatores que interferem na sobrevida do paciente segundo os dados da AJCC 8a edição⁴. Outros fatores também interferem no prognóstico, como idade, sexo, localização anatômica, fatores patológicos e status mutacional^{5, 6, 7, 8}. No entanto, vivemos a era dos marcadores biológicos dos quais poucos são utilizados na avaliação prognóstica do melanoma. O Ki67 é uma proteína nuclear expressa apenas durante as fases ativas do ciclo celular de proliferação, estando ausente na fase quiescente¹⁰. Sua taxa de expressão é bem estabelecida como marcador de atividade proliferativa

Endereço: Rua Professor Antônio Prudente, 211, Liberdade, Atrium - Subsolo

Bairro: Liberdade

CEP: 01.509-900

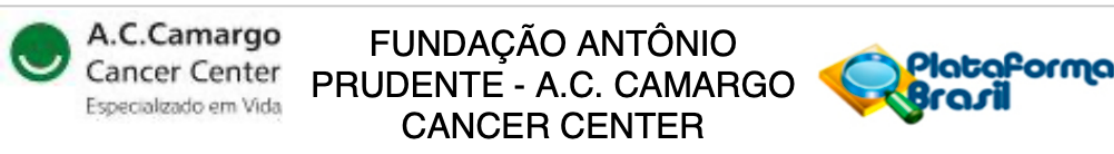
UF: SP

Município: SÃO PAULO

Telefone: (11)2189-5020

Fax: (11)2189-5020

E-mail: cep_accamargo@accamargo.org.br



Continuação do Parecer: 5.923.943

celular estudada em diversos tipos tumorais, dentre eles, como valor prognóstico independente para sobrevida global no câncer de mama.⁹ Estudos têm mostrado correlação positiva entre expressão do Ki67 e pior sobrevida sugerindo que este marcador poderia ser útil como fator prognóstico independente no melanoma maligno¹¹. Investigações prévias mostraram associação entre a expressão de Ki67 e prognóstico do paciente com melanoma, mas os resultados têm sido contraditórios¹². Entretanto, os dados que correlacionam a expressão de Ki67 com melanoma derivam de estudos com número de amostragem pequena, o que dificulta a utilização destes trabalhos como base para utilização desta proteína como fator prognóstico no melanoma cutâneo. Diante da necessidade de tornar mais robusto o conhecimento acerca da relação entre a expressão do Ki67 com os desfechos clínicos e demais fatores prognósticos em melanoma cutâneo, bem como, aumentar o arsenal de marcadores biológicos, propomos a realização desta coorte transversal retrospectiva, unicêntrica com número amostral elevado para sedimentar o conhecimento acerca do tema.

Hipótese:

A hipótese é de que há correlação entre a taxa de expressão de Ki67 com pior sobrevida global, sobrevida melanoma específica e sobrevida livre de recorrência em melanoma cutâneo.

Metodologia Proposta:

Estudo observacional tipo coorte retrospectiva com dados de uma única instituição no período de 2010 a 2020.

Critério de Inclusão:

Pacientes diagnosticados e tratados por melanoma cutâneo invasivo no período de Janeiro de 2010 a Dezembro de 2020 no AC Camargo Cancer Center; Realização de imunohistoquímica com porcentagem de expressão de Ki67 na análise patológica;

Critério de Exclusão:

Melanomas não-cutâneos;

Diagnóstico primário fora do período previamente estabelecido; Ausência de avaliação do Ki67;

Objetivo da Pesquisa:

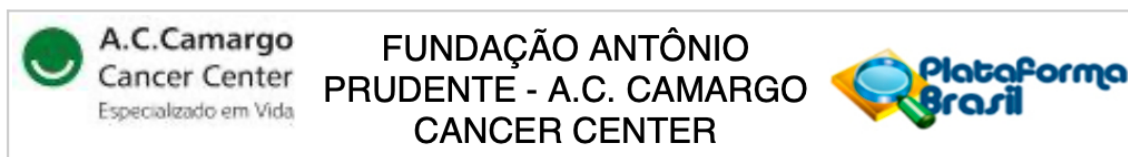
Objetivo Primário:

Avaliar a relação entre a porcentagem de expressão do Ki67 através da análise por imunohistoquímica com os desfechos clínicos em melanoma cutâneo (sobrevida global, sobrevida melanoma específica, sobrevida livre de doença);

Objetivo Secundário:

Correlacionar a porcentagem de expressão do Ki67 através da análise por imunohistoquímica com

Endereço: Rua Professor Antônio Prudente, 211, Liberdade, Atrium - Subsolo
Bairro: Liberdade **CEP:** 01.509-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2189-5020 **Fax:** (11)2189-5020 **E-mail:** cep_accamargo@accamargo.org.br



Continuação do Parecer: 5.923.943

os demais fatores prognósticos já estabelecidos para o melanoma cutâneo. Avaliar a relação entre a porcentagem de expressão do Ki67 através da análise por imunohistoquímica com o risco de metástase linfonodal durante a pesquisa do linfonodo sentinela;

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os dados serão coletados de um banco de dados previamente anonimizado pelo departamento de Oncologia Cutânea do AC Camargo Cancer Center pelos alunos envolvidos na pesquisa de forma codificada, pelo registro hospitalar, minimizando assim o risco – que já é baixo – de perda de confidencialidade. Apenas os alunos envolvidos e o pesquisador responsável tiveram acesso aos dados. Por se tratar de trabalho retrospectivo em registro de dados permanente do departamento, foi solicitado dispensa do termo de consentimento livre e esclarecido junto ao Comitê de Ética em Pesquisa institucional.

Benefícios:

Diante da necessidade de tornar mais robusto o conhecimento acerca da relação entre a expressão do Ki67 com os desfechos clínicos e demais fatores prognósticos em melanoma cutâneo, bem como, aumentar o arsenal de marcadores biológicos, propomos a realização desta coorte transversal retrospectiva, unicêntrica com número amostral elevado para sedimentar o conhecimento acerca do tema.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo observacional tipo coorte retrospectiva com dados de uma única instituição no período de 2010 a 2020. Tamanho de amostra igual a 1400.

. Solicita dispensa de TCLE. Justificativa: Os dados serão coletados de um banco de dados previamente anonimizado pelo departamento de Oncologia Cutânea do AC Camargo Cancer Center pelos alunos envolvidos na pesquisa de forma codificada, pelo registro hospitalar, minimizando assim o risco – que já é baixo – de perda de confidencialidade. Apenas os alunos envolvidos e o pesquisador responsável tiveram acesso aos dados.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações"

Recomendações:

Vide item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações"

Endereço: Rua Professor Antônio Prudente, 211, Liberdade, Atrium - Subsolo
Bairro: Liberdade **CEP:** 01.509-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2189-5020 **Fax:** (11)2189-5020 **E-mail:** cep_accamargo@accamargo.org.br



**FUNDAÇÃO ANTÔNIO
PRUDENTE - A.C. CAMARGO
CANCER CENTER**



Continuação do Parecer: 5.923.943

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa - CEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS no 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Considerações Finais a critério do CEP:

O projeto em referência (registro CEP nº. 3370/23) será desenvolvido por Victor Carmine De Siervi, aluno de Mestrado.

NOTA: Informações a respeito do andamento do referido projeto deverão ser encaminhadas ao CEP dentro de 06 meses a partir desta data em relatório (modelo CEP).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2081655.pdf	06/02/2023 11:07:14		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	dispensa_tcle.pdf	06/02/2023 11:04:46	EDUARDO BERTOLLI	Aceito
Solicitação Assinada pelo Pesquisador Responsável	formulario_submissao.pdf	06/02/2023 11:04:35	EDUARDO BERTOLLI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_CEP.pdf	06/02/2023 11:04:06	EDUARDO BERTOLLI	Aceito
Orçamento	orcamento.pdf	06/02/2023 11:03:39	EDUARDO BERTOLLI	Aceito
Outros	declaracao_anatomia.pdf	06/02/2023 11:03:23	EDUARDO BERTOLLI	Aceito
Declaração de concordância	ciencia_cutanea.pdf	06/02/2023 11:02:22	EDUARDO BERTOLLI	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracao_pesquisador.pdf	06/02/2023 11:02:10	EDUARDO BERTOLLI	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Infraestrutura.pdf	06/02/2023 11:01:06	EDUARDO BERTOLLI	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	06/02/2023	EDUARDO	Aceito

Endereço: Rua Professor Antônio Prudente, 211, Liberdade, Atrium - Subsolo

Bairro: Liberdade

CEP: 01.509-900

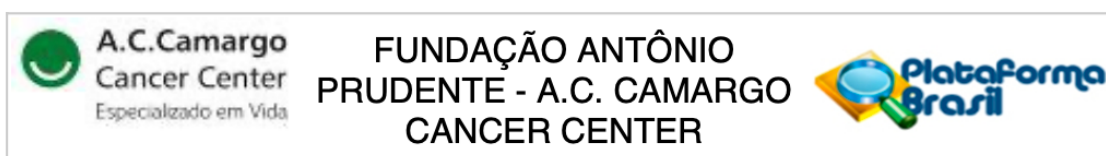
UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2189-5020

Fax: (11)2189-5020

E-mail: cep_accamargo@accamargo.org.br



Continuação do Parecer: 5.923.943

Cronograma	Cronograma.pdf	10:59:38	EDUARDO	Aceito
Folha de Rosto	Folha_rostoassinada.pdf	06/02/2023 10:54:26	EDUARDO BERTOLLI	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 03 de Março de 2023

Assinado por:
MAURO DANIEL SPINA DONADIO
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Professor Antônio Prudente, 211, Liberdade, Atrium - Subsolo
Bairro: Liberdade **CEP:** 01.509-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2189-5020 **Fax:** (11)2189-5020 **E-mail:** cep_accamargo@accamargo.org.br

APÊNDICE 1 - Variáveis de interesse do estudo

- Registro hospitalar
- Data de Nascimento
- Idade ao diagnóstico
- Gênero
- Peso
- Altura
- IMC
- Topografia (Cabeça e pescoço; tronco; membros superiores; membros inferiores - se acral, especificar onde)
- Situação da lesão primária na primeira consulta (Biopsia não realizada; Biopsia incisional realizada; Biopsia excisional realizada; Já ampliado);
- Data da primeira biópsia
- Tipo histológico
- Tipo de crescimento (horizontal e vertical);
- Espessura (Breslow)
- Clark
- Índice mitótico CGA e mm²
- Invasão vascular
- Ulceração
- Estadiamento AJCC 8ª edição
- Presença de regressão
- Infiltrado inflamatório peritumoral
- Infiltrado inflamatório intratumoral
- Invasão linfática;
- Invasão perineural;
- Margens
- Presença de satelitose
- Ki-67 (%);
- BRAF (Tipo de mutação)
- NRAS

- KIT
- Realização de linfonodo sentinela;
- Primeira base de migração do linfonodo sentinela;
- Presença de mais de uma base linfonodal de migração do linfonodo sentinela
- Segunda base de migração do linfonodo sentinela;
- Data da realização do linfonodo sentinela;
- Número de linfonodos sentinela;
- Número de linfonodos sentinela acometidos;
- Diâmetro da metástase linfonodal no sentinela;
- Realização de linfadenectomia;
- Data da Linfadenectomia;
- Local da linfadenectomia;
- Presença de linfonodo não-sentinela positivo;
- Número de linfonodos retirados na linfadenectomia;
- Número de linfonodos positivos;
- Realização de radioterapia adjuvante;
- Realização de interferon adjuvante;
- Realização de imunoterapia adjuvante;
- Realização de terapia alvo adjuvante;
- Presença de recidiva;
- Data da primeira recidiva;
- Local da recidiva (local ou sistêmica);
- Local (Pele e subcutâneo ou Linfonodos regionais)
- Sistêmica (Linfonodos não regionais; Pulmão; Visceras; SNC)
- Presença de recidiva linfonodal exclusiva;
- Tratamento da recidiva com cirurgia? (sim/não)
- Tratamento da recidiva com radioterapia? (sim/não)
- Tratamento da recidiva com terapia sistêmica? (sim/não)
- Status atual do paciente (Vivo sem doença; Vivo com doença; Morto pela doença; Morto por outra causa);
- Data da última informação
- Tempo de sobrevida global

- Tempo de sobrevida livre de recidiva;
- Possui tomografia computadorizada