

Os estudos nacionais em relação à positividade de alérgenos durante o período de 2010, considerando a bateria padrão brasileira, mostram que 59,2% a 64,68% dos pacientes tiveram pelo menos positividade para uma substância.^{4,5}

Em nosso estudo, a maioria dos pacientes avaliados foi submetida não só à bateria padrão brasileira como a baterias adicionais. Isso pode ter contribuído com a porcentagem menor de resultados negativos, quando comparado com a literatura em que se usam como referência os dados de testes apenas com a bateria padrão. Após anamnese minuciosa, os pacientes do ambulatório são submetidos a baterias complementares com o intuito de direcionar a investigação para a etiologia em questão.

A realização de testes de contato diante de uma suspeita clínica auxilia no diagnóstico de sua etiologia na maioria das vezes. Diante de resultado negativo do teste, considerar principalmente outras causas de eczema; dermatite de contato irritativa e DA além de menos frequente os diferenciais não eczematosos. Outro ponto relevante a se considerar é a possibilidade de não se ter testado a substância causadora da DCA. Neste estudo, a maioria dos pacientes foi submetida a baterias adicionais, não apenas à bateria padrão brasileira, o que contribuiu com a porcentagem menor de resultados negativos, quando comparada com a literatura.

Suporte financeiro

Nenhum.

Contribuição dos autores

Mellanie Starck: Obtenção, análise e interpretação dos dados; revisão crítica da literatura.

Nathalie Mie Suzuki: Elaboração e redação do manuscrito; revisão crítica do manuscrito.

Mariana de Figueiredo Silva Hafner: Concepção e planejamento do estudo; elaboração e redação do manuscrito; revisão crítica do manuscrito.





Rosana Lazzarini: Aprovação da versão final do manuscrito; concepção e planejamento do estudo; participação efetiva na orientação da pesquisa.

Conflito de interesses

Nenhum.

Referências

1. Lazzarini R, Duarte I, Ferreira AL. Patch tests. *An Bras Dermatol*. 2013;88:879–88.
2. Warshaw EM, Zhang AJ, Belsito DV, Fowler JF Jr, Taylor JS, Maibach HI, et al. Patients with negative patch tests: Retrospective analysis of North American Contact Dermatitis Group (NACDG) data 2001-2016. *J Am Acad Dermatol*. 2019;80:1618–29.
3. Uter W, Aberer W, Armario-Hita JC, Fernandez-Vozmediano JM, Ayala F, Balato A, et al. Current patch test results with the European baseline series and extensions to it from the 'European Surveillance System on Contact Allergy' network, 2007-2008. *Contact Dermatitis*. 2012;67:9–19.
4. Rodrigues DF, Neves DR, Pinto JM, Alves MF, Fulgêncio AC. Results of patch-tests from Santa Casa de Belo Horizonte Dermatology Clinic, Belo Horizonte, Brazil, from 2003 to 2010. *An Bras Dermatol*. 2012;87:800–3.
5. Rodrigues DF, Goulart EM. Patch test results in children and adolescents. Study from the Santa Casa de Belo Horizonte Dermatology Clinic, Brazil, from 2003 to 2010. *An Bras Dermatol*. 2015;90:671–83.

Mellanie Starck ^a, Nathalie Mie Suzuki ^{b,*}, Mariana de Figueiredo Silva Hafner ^a e Rosana Lazzarini ^a

^a *Clínica de Dermatologia, Santa Casa de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil*

^b *Faculdade de Ciências Médicas, Santa Casa de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil*

* Autor para correspondência.

E-mail: nathalie.suzuki@gmail.com (N.M. Suzuki).

Recebido em 16 de julho de 2021; aceito em 20 de setembro de 2021

<https://doi.org/10.1016/j.abdp.2022.08.002>
2666-2752/ © 2022 Publicado por Elsevier España, S.L.U. em nome de Sociedade Brasileira de Dermatologia. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Estudo proteômico do melasma facial^{☆☆}



Prezado Editor,

Melasma é hipermelanose que afeta áreas fotoexpostas, especialmente em mulheres adultas, que inflige importante

impacto na qualidade de vida por acometer áreas visíveis e ser recidivante, apesar dos tratamentos. Sua fisiopatologia não é totalmente compreendida, mas resulta da interação entre fatores de exposição (p. ex., radiação solar e hormônios sexuais) e predisposição genética. Diversos estímulos dérmicos foram apontados na manutenção da melanogênese no melasma, envolvendo atividade de fibroblastos, endotélio e mastócitos, que promovem elastonização do colágeno, dano estrutural à membrana basal, liberação de fatores de crescimento (p. ex., sSCF, bFGF, NGF, HGF) e mediadores inflamatórios (p. ex., ET1, IL1, VEGF, TGFβ).¹⁻³

Este estudo objetivou explorar proteínas diferencialmente expostas na pele com melasma em relação à pele adjacente fotoexposta, não afetada.

Realizou-se estudo transversal envolvendo 20 mulheres com melasma facial, sem tratamentos específicos por 30 dias. Duas biópsias foram realizadas (mesmo pesqui-

DOI referente ao artigo:

<https://doi.org/10.1016/j.abdp.2021.06.010>

[☆] Como citar este artigo: Schaefer LV, Pontes LG, Cavassan NRV, Santos LD, Miot HÁ. Proteomic study of facial melasma. *An Bras Dermatol*. 2022;97:808–14.

^{☆☆} Trabalho realizado no Departamento de Dermatologia e Radioterapia, FMB-UNESP, Botucatu, SP, Brasil e no Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos (CEVAP), UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

sador), uma no limite do melasma facial e outra na pele não afetada, a 2 cm de distância da primeira, conforme padronizado anteriormente.^{1,3} Realizou-se a extração mecânica de proteínas, sua digestão enzimática e espectrometria de massa. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética institucional (n° 1.411.931).

As amostras foram analisadas em duplicata no sistema nanoACQUITY-UPLC acoplado a espectrômetro de massa Xevo-Q-TOF-G2, cujos resultados foram processados no *software* ProteinLynx GlobalServer 3.03 v. As proteínas foram indentificadas por meio do algoritmo de contagem de íons, cujos padrões espectrais foram pesquisados no banco *Homo sapiens*, no catálogo UniProt (<https://www.uniprot.org/>).

Todas as proteínas identificadas com > 95% de similaridade foram incluídas na análise. As intensidades dos picos de íons foram normalizadas, escalonadas e comparadas entre as topografias por um algoritmo bayesiano (método Monte Carlo), que retorna um valor $p \leq 0,05$ para proteínas sub-reguladas e $\geq 0,95$ para as super-reguladas, corrigido pelo procedimento de Benjamini-Hochberg.⁴

O principal desfecho do estudo foi a diferença entre as intensidades dos picos iônicos das proteínas (melasma: M; perilesional: P). O tamanho do efeito foi estimado pela razão dessas quantidades entre as topografias (M/P). Proteínas com razão M/P $\leq 0,5$ ou $\geq 2,0$ foram consideradas neste estudo.

As proteínas identificadas e suas funções biológicas foram diagramadas em mapa térmico e agrupadas por meio de procedimento de cluster (método Ward).

A idade média (desvio-padrão) das pacientes foi de 42,8 (8,9) anos; 70% eram dos fototipos III-IV e 25% exerciam profissões expostas ao sol. A idade de início do melasma foi de 29,3 (7,5) anos; 55% das mulheres referiam histórico familiar e 30% usavam anticoncepcional.

Validaram-se 256 proteínas nas amostras de pele, e as 29 proteínas diferencialmente quantificadas entre as topografias estão expostas na [tabela 1](#). As maiores discrepâncias ocorreram para as proteínas HBD, EXPH5, KRT1, KRT9, REV3L (M/S > 4,00); e ACAP9, ADGB, CA1 (M/S < 0,33).

As principais funções biológicas dessas proteínas estão dispostas na [tabela 2](#). A [figura 1](#) representa a interação entre as 29 proteínas e suas funções biológicas. As proteínas ACTG1, ALB, SERPINA1, HBD, ALDOA e FGG mostraram-se coparticipantes em diferentes processos biológicos, como consumo de oxigênio, glicólise, gliconeogênese e transporte celular, sugerindo aumento da atividade metabólica da pele com melasma.

Exofilina-5 (EXPH5) é ligada ao transporte de vesículas intracelulares. Foi super-regulada (M/S = 8,94) no melasma, o que pode decorrer da intensa transferência epidérmica de melanossomas.¹ Treze das proteínas diferencialmente identificadas no melasma foram ligadas a fenômenos de transporte intracelular, que compreendem uma série de processos que vão da endocitose à autofagia e diversas formas de exocitose. Como autofagia e senescência são fenômenos relacionados à melanogênese, a caracterização das vesículas de transporte no epitélio com melasma pode se revelar importante na fisiopatologia do melasma.^{5,6}

Citoqueratinas (como KRT1) são constituintes estruturais dos queratinócitos induzidas em resposta ao estresse oxidativo. Foram identificadas em maior razão no melasma (M/S > 4,10). A hemoglobina- δ (mas não as demais subunidades)

apresentou elevada razão (M/S = 33,12) no melasma, e, além do transporte de oxigênio, sua expressão não eritrocítica ocorre em situações de estresse celular.⁷ Da mesma maneira, o aumento da regulação de alfa 1 antitripsina (SERPINA1) e actina gama-1 (ACTG1) também é verificado em condições de estresse tecidual.^{8,9} As maiores expressões de HBD, ACTG1, SERPINA1 e KRT1 no melasma podem decorrer do estresse oxidativo sustentado pela atividade das triptases mastocitárias e do fenótipo secretório de fibroblastos da derme superior.^{3,6}

Anidrase carbônica (CA1) acidifica o meio extracelular da derme, favorecendo o processo de reparo, sendo sub-regulada (M/S < 0,33) no melasma.¹⁰ Senescência dos fibroblastos dérmicos, associada à atividade de MMP1 e MMP9, promovem um microambiente proinflamatório com degradação da matriz extracelular e da zona de membrana basal, cujo déficit de reparo pode ser fator de manutenção da melanogênese.^{1,6}

Androglobina (ADGB) tem função regulatória da cisteína-endopeptidase, e é identificada em razão menor (M/S < 0,33) no melasma. As endopeptidases participam da degradação dos melanossomas na epiderme, notavelmente reduzidas no melasma.

As proteínas de ancoragem alfa-quinase (ANCHOR9, ANCHOR13) e a subunidade z-catalítica da DNA polimerase (REV3L) apresentaram um desbalanço na pele com melasma. Elas são importantes na regulação da proteína quinase-A e na via p38-MAP-quinase, envolvidas na ativação da proteína CREB, que levam à expressão de MTIF, promotora da melanogênese.³

Aldolase-A (ALDOA) tem função glicolítica e está associada à atividade dos mastócitos, que, na derme superficial promovem alterações na membrana basal, elastose solar e dilatação endotelial, reforçando a ideia de que estímulos originários na derme desempenhem um papel central na melanogênese do melasma.^{2,3}

O fibrinogênio- γ (FFG) é uma proteína que compõe a matriz extracelular e interage em várias funções biológicas, incluindo fibrinólise, ativação do fibrinogênio e ativação da via ERK, promotora da melanogênese.

As principais limitações do estudo se referem às proteínas transmembranas, séricas e conjugadas com lipídeos que não são identificadas pelo método. Contudo, aponta de maneira consistente uma série de proteínas cujo papel fisiopatológico e potencial manipulação terapêutica devem ser explorados em ensaios específicos.

Concluindo, identificamos 29 proteínas diferencialmente reguladas no melasma, envolvidas com metabolismo energético, fenômenos de transporte celular, regulação de vias da melanogênese, homeostasia/coagulação, reparo/cicatrização e resposta ao estresse oxidativo. Isso subsidia a pesquisa de estratégias terapêuticas voltadas às proteínas identificadas e suas funções, e evidencia que o melasma não depende exclusivamente da hiperfunção dos melanócitos, mas de alterações funcionais envolvendo a unidade epidermo-melânica, zona da membrana basal e derme superior.

Suporte financeiro

FUNADERSP (048/2016).

Tabela 1 Proteínas e isoformas identificadas nas amostras de peles de melasma facial (M) e adjacente fotoexposta (P) (n = 40) com diferença ente os grupos ($p \leq 0,05$ ou $\geq 0,95$) e razão M/P $\geq 2,0$ ou $\leq 0,5$

Código proteínas	Proteína	Score PLGS	Melasma	Perilesional	Log2 M/P (DP)	Razão M/P	p-valor ^a
P1	<i>Actin Alpha Skeletal Muscle</i> ACTA1	958,81	1,34 (0,04)	0,66 (0,04)	1,04 (0,07)	2,05	1,00
P2	<i>Actin Cytoplasmic 2</i> ACTG1	1164,96	1,40 (0,06)	0,60 (0,06)	1,23 (0,11)	2,34	1,00
	<i>Actin Cytoplasmic 2</i> ACTG1	1164,96	1,40 (0,07)	0,60 (0,07)	1,24 (0,12)	2,36	1,00
P3	<i>A-Kinase Anchor Protein 13</i> AKAP13	87,85	1,53 (0,40)	0,47 (0,40)	1,96 (1,03)	3,90	0,97
	<i>A-Kinase Anchor Protein 13</i> AKAP13	87,85	1,55 (0,37)	0,45 (0,37)	1,99 (1,13)	3,97	0,95
P4	<i>A-kinase Anchor protein 9</i> AKAP9	12,43	0,35 (0,34)	1,65 (0,34)	-2,39 (1,00)	0,19	0,03
	<i>A-kinase Anchor protein 9</i> AKAP9	13,08	0,38 (0,20)	1,62 (0,20)	-2,16 (0,50)	0,22	0,00
	<i>A-kinase Anchor protein 9</i> AKAP9	16,30	0,40 (0,24)	1,60 (0,24)	-2,06 (0,55)	0,24	0,00
P5	<i>Albumin isoform CRA k</i> ALB	542,99	0,62 (0,05)	1,38 (0,05)	-1,14 (0,08)	0,45	0,00
	<i>Serum albumin</i> ALB	5862,44	0,54 (0,18)	1,46 (0,18)	-1,44 (0,32)	0,37	0,00
	<i>Serum albumin</i> ALB	542,99	0,63 (0,04)	1,37 (0,04)	-1,14 (0,07)	0,45	0,00
	<i>Serum albumin</i> ALB	542,99	0,52 (0,07)	1,48 (0,07)	-1,50 (0,12)	0,35	0,00
	<i>Serum albumin</i> ALB	2923,53	0,62 (0,10)	1,38 (0,10)	-1,17 (0,17)	0,44	0,00
	<i>Serum albumin</i> ALB	542,99	0,63 (0,06)	1,37 (0,06)	-1,11 (0,10)	0,46	0,00
	<i>Serum albumin</i> ALB	486,61	0,64 (0,06)	1,36 (0,06)	-1,07 (0,09)	0,48	0,00
	<i>Serum albumin</i> ALB	534,91	0,66 (0,08)	1,34 (0,08)	-1,04 (0,12)	0,49	0,00
P6	<i>Alpha-1-antitrypsin</i> SERPINA1	1092,60	1,33 (0,13)	0,67 (0,13)	1,00 (0,21)	2,00	1,00
P7	<i>Androglobin</i> ADGB	69,19	0,48 (0,21)	1,52 (0,21)	-1,69 (0,40)	0,31	0,05
P8	<i>Annexin ANXA2</i>	117,73	1,33 (0,25)	0,67 (0,25)	1,01 (0,41)	2,01	0,95
	<i>Annexin ANXA2</i>	117,73	1,33 (0,26)	0,67 (0,26)	1,02 (0,44)	2,03	0,97
	<i>Annexin ANXA2</i>	117,73	1,34 (0,26)	0,66 (0,26)	1,05 (0,43)	2,08	0,95
	<i>Annexin ANXA2</i>	117,73	1,35 (0,28)	0,65 (0,28)	1,08 (0,43)	2,12	0,95
P9	<i>Beta-actin-like protein 2</i> ACTBL2	101,00	1,43 (0,07)	0,57 (0,07)	1,34 (0,12)	2,53	1,00
P10	<i>BTB/POZ domain-containing protein</i> KCTD7	53,81	1,57 (0,17)	0,43 (0,17)	1,90 (0,40)	3,74	1,00
P11	<i>Carbonic Anhydrase 1</i> CA1	1112,39	0,39 (0,17)	1,61 (0,17)	-2,09 (0,45)	0,23	0,00
	<i>Carbonic Anhydrase 1</i> CA1	1386,45	0,47 (0,13)	1,53 (0,13)	-1,70 (0,27)	0,31	0,00
P12	<i>Ceruloplasmin</i> CP	76,55	1,40 (0,17)	0,60 (0,17)	1,23 (0,30)	2,34	1,00
	<i>Ceruloplasmin</i> CP	85,85	1,37 (0,17)	0,63 (0,17)	1,13 (0,29)	2,18	1,00
	<i>Ceruloplasmin</i> CP	85,85	1,43 (0,15)	0,57 (0,15)	1,34 (0,27)	2,53	1,00
P13	<i>DNA polymerase zeta catalytic subunit</i> REV3L	73,85	1,58 (0,34)	0,42 (0,34)	2,03 (0,86)	4,10	0,95

Tabela 1 (Continuação)

Código proteínas	Proteína	Escore PLGS	Melasma	Perilesional	Log2 M/P (DP)	Razão M/P	p-valor ^a
	DNA polymerase zeta catalytic subunit REV3L	153,25	1,52 (0,06)	0,48 (0,06)	1,66 (0,12)	3,16	1,00
P14	Exophilin-5 EXPH5	40,12	1,79 (0,12)	0,21 (0,12)	3,16 (0,48)	8,94	1,00
P15	Fibrinogen Gamma chain FG3	211,06	1,33 (0,16)	0,67 (0,16)	1,01 (0,25)	2,01	1,00
P16	Fibrinogen Gamma chain FG3	211,06	1,34 (0,14)	0,66 (0,14)	1,04 (0,24)	2,05	1,00
	Fructose-bisphosphate Aldolase A ALDOA	153,06	1,46 (0,07)	0,54 (0,07)	1,43 (0,14)	2,69	1,00
	Fructose-bisphosphate aldolase A ALDOA	296,85	1,45 (0,07)	0,55 (0,07)	1,41 (0,13)	2,66	1,00
	Fructose-bisphosphate aldolase ALDOA	295,30	1,46 (0,10)	0,54 (0,10)	1,43 (0,17)	2,69	1,00
	Fructose-bisphosphate aldolase ALDOA	295,30	1,47 (0,08)	0,53 (0,08)	1,46 (0,14)	2,75	1,00
P17	G Patch domain-containing protein 1 GPATCH1	95,48	1,37 (0,14)	0,63 (0,14)	1,13 (0,25)	2,18	1,00
	G patch domain-containing protein 1 GPATCH1	88,85	1,60 (0,28)	0,40 (0,28)	2,15 (0,66)	4,44	1,00
P18	Heat shock protein 75 kDa mitochondrial TRAP1	124,78	1,43 (0,13)	0,57 (0,13)	1,34 (0,24)	2,53	1,00
P19	Hemoglobin subunit alpha HBA1	8552,23	1,57 (0,02)	0,43 (0,02)	1,88 (0,04)	3,67	1,00
P20	Hemoglobin subunit beta HBB	91,85	0,65 (0,05)	1,35 (0,05)	-1,07 (0,08)	0,48	0,00
P21	Hemoglobin subunit delta HBD	42,06	1,94 (0,02)	0,06 (0,02)	5,05 (0,31)	33,12	1,00
P22	Keratin type I cytoskeletal 9 KRT9	340,12	1,61 (0,13)	0,39 (0,13)	2,05 (0,27)	4,14	1,00
	Keratin type I cytoskeletal 9 KRT9	190,36	1,60 (0,26)	0,40 (0,26)	2,06 (0,62)	4,18	1,00
P23	Keratin type II cytoskeletal 1 KRT1	55,74	1,62 (0,06)	0,38 (0,06)	2,08 (0,14)	4,22	1,00
P24	POTE ankyrin domain family member F POTEF	101,00	1,47 (0,07)	0,53 (0,07)	1,49 (0,14)	2,80	1,00
P25	Putative beta-actin-like protein 3 POTEKP	101,00	1,47 (0,09)	0,53 (0,09)	1,47 (0,16)	2,77	1,00
P26	RNA-binding protein 25 RBM25	29,17	1,57 (0,12)	0,43 (0,12)	1,86 (0,25)	3,63	1,00
P27	Splicing Regulatory glutamine/Lysine-rich protein 1 SREK1	79,89	1,41 (0,26)	0,59 (0,26)	1,28 (0,48)	2,44	1,00
P28	Tetratricopeptide repeat protein 37 TTC37	443,53	1,45 (0,21)	0,55 (0,21)	1,44 (0,42)	2,72	1,00
	Tetratricopeptide repeat protein 37 TTC37	449,05	1,46 (0,18)	0,54 (0,18)	1,47 (0,36)	2,77	1,00
P29	Triosephosphate isomerase TPI1	475,34	1,39 (0,25)	0,61 (0,25)	1,23 (0,41)	2,34	0,97
	Triosephosphate isomerase TPI1	475,34	1,41 (0,22)	0,59 (0,22)	1,28 (0,40)	2,44	0,97
	Triosephosphate isomerase TPI1	576,90	1,43 (0,19)	0,57 (0,19)	1,34 (0,37)	2,53	1,00

^a p-valor corrigido pelo false discovery rate.

Tabela 2 Principais vias funcionais envolvidas com as 29 proteínas identificadas como diferenciais entre melasma e pele perilesional

Funções	Proteínas envolvidas	n (%)	FDR ^a
1. Glicólise canônica	p16, p29	2 (7)	< 0,0001
2. Gluconeogênese	p16, p29	2 (7)	< 0,0001
3. Fibrinólise	p8, p15, p23	2 (10)	< 0,0001
4. Degranulação plaquetária	p2, p5, p6, p15, p16	5 (17)	< 0,0001
5. Regulação de fluídos corporais	p2, p5, p6, p8, p15, p16, p21, p22, p23	8 (28)	< 0,0001
6. Transporte de oxigênio	p7, p19, p20, p21	4 (14)	< 0,0001
7. Transporte mediado por vesículas	p2, p5, p6, p10, p14, p15, p16, p19, p20	9 (31)	< 0,0001
8. Ativação plaquetária	p5, p6, p15, p16	4 (14)	< 0,0001
9. Regulação positiva da adesão celular	p15	1 (3)	0,0001
10. Hemostasia	p2, p5, p6, p15, p16, p21	6 (20)	0,0001
11. Agregação plaquetária	p2, p15	2 (7)	0,0002
12. Ativação do plasminogênio	p15	1 (3)	0,0003
13. Transporte de organismo único	p2, p5, p6, p7, p8, p10, p11, p12, p14, p15, p16, p19, p20, p21	14 (48)	0,0004
14. Coagulação sanguínea	p2, p5, p6, p15, p16, p21	6 (21)	0,0008
15. Síntese de translesão propensa a erros	p13	1 (3)	0,0010
16. Cascata de ativação de proteínas	p15, p23	2 (7)	0,0014
17. Homeostase da retina	p2, p5, p23, p24	4 (14)	0,0015
18. Regulação negativa de resposta a trauma	p8, p10, p15	3 (10)	0,0015
19. Regulação positiva da exocitose	p14, p15	2 (7)	0,0016
20. Regulação da exocitose	p10, p14, p15	3 (10)	0,0017
21. Regulação negativa do processo endotelial de apoptose celular	p15	1 (3)	0,0022
22. Coagulação sanguínea, formação de coágulo de fibrina	p15	1 (3)	0,0024
23. Regulação negativa da via de sinalização da apoptose extrínseca por meio da morte de receptores de domínio	p15	1 (3)	0,0024
24. Transporte	p2, p4, p5, p6, p7, p10, p11, p12, p15, p16, p19, p20, p21	13 (45)	0,0029
25. Processo metabólico do ácido monocarboxílico	p5, p16, p29	3 (10)	0,0030
26. Regulação da disseminação de células dependentes da adesão	p15	1 (3)	0,0033
27. Cicatrização de feridas	p2, p5, p6, p15, p16, p21	6 (20)	0,0035
28. Transporte de bicarbonato	p11, p19, p20	3 (10)	0,0044
29. Regulação positiva da vasoconstrição	p15	1 (3)	0,0044
30. Resposta ao íon cálcio	p2	1 (3)	0,0075
31. Regulação do transporte por vesículas	p8, p10, p14, p15	4 (14)	0,0083
32. Secreção	p5, p6, p8, p15, p16	5 (17)	0,0092
33. Regulação negativa a estímulos externos	p8, p10, p15	3 (10)	0,0098
34. Resposta ao estresse	p2, p5, p6, p13, p16, p19, p20, p21, p23	9 (31)	0,0100

^a False discovery rate estimado de acordo com o número de proteínas esperadas para a função.

Contribuição dos autores

Luiza Vasconcelos Schaefer: Concepção e planejamento do estudo; Elaboração e redação do manuscrito; Obtenção, análise e interpretação dos dados; Participação intelectual em conduta propedêutica e/ou terapêutica de casos estudados; Revisão crítica da literatura.

Leticia Gomes de Pontes: Obtenção, análise e interpretação dos dados.

Nayara Rodrigues Vieira Cavassan: Obtenção, análise e interpretação dos dados.

Lucilene Delazari dos Santos: Revisão crítica da literatura; Revisão crítica do manuscrito; Obtenção, análise e interpretação dos dados.

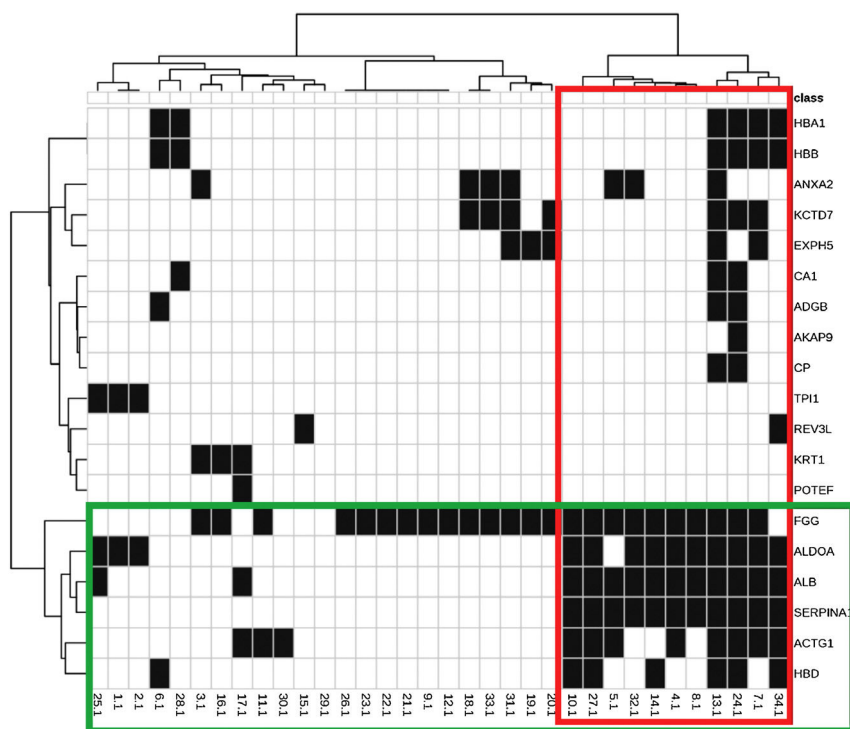


Figura 1 Mapa térmico e dendrogramas entre proteínas identificadas (linhas) e funções biológicas (colunas). Destaques em verde: agrupamento de proteínas com padrão de ocorrência semelhante de acordo com as funções que exercem; e em vermelho: as funções com padrão de expressão semelhante, de acordo com as proteínas indicadas.

Hélio Amante Miot: Revisão crítica da literatura; Revisão crítica do manuscrito; Análise estatística; Aprovação da versão final do manuscrito; Concepção e planejamento do estudo.

Conflito de interesses

Nenhum.

Referências

- Esposito ACC, Brianezi G, Souza NP, Miot LDB, Miot HA. Exploratory Study of Epidermis, Basement Membrane Zone Upper Dermis Alterations and Wnt Pathway Activation in Melasma Compared to Adjacent and Retroauricular Skin. *Ann Dermatol*. 2020;32:101–8.
- Lee AY. Recent progress in melasma pathogenesis. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2015;28:648–60.
- Esposito ACC, Brianezi G, Souza NP, Miot LDB, Marques MEA, Miot HA. Exploring pathways for sustained melanogenesis in facial melasma: an immunofluorescence study. *Int J Cosmet Sci*. 2018;40:420–4.
- Knight JM, Ivanov I, Dougherty ER. MCMC implementation of the optimal Bayesian classifier for non-Gaussian models: model-based RNA-Seq classification. *BMC Bioinformatics*. 2014;15:401.
- Esposito ACC, Souza NP, Miot LDB, Miot HA. Deficit in autophagy: A possible mechanism involved in melanocyte hyperfunction in melasma. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2021:1–3.
- Kim M, Kim SM, Kwon S, Park TJ, Kang HY. Senescent fibroblasts in melasma pathophysiology. *Exp Dermatol*. 2019;28:719–22.
- Saha D, Patgaonkar M, Shroff A, Ayyar K, Bashir T, Reddy KV. Hemoglobin expression in nonerythroid cells: novel or ubiquitous? *Int J Inflamm*. 2014;2014:803237.
- Reiss MJ, Han YP, Garner WL. Alpha1-antichymotrypsin activity correlates with and may modulate matrix metalloproteinase-9 in human acute wounds. *Wound Repair Regen*. 2009;17:418–26.
- Dong X, Han Y, Sun Z, Xu J. Actin Gamma 1, a new skin cancer pathogenic gene, identified by the biological feature-based classification. *J Cell Biochem*. 2018;119:1406–19.
- Barker H, Aaltonen M, Pan P, Vähätupa M, Kaipainen P, May U, et al. Role of carbonic anhydrases in skin wound healing. *Exp Mol Med*. 2017;49:e334.

Luiza Vasconcelos Schaefer ^{ID} a,b,* ,
 Leticia Gomes de Pontes ^{ID} c,d ,
 Nayara Rodrigues Vieira Cavassan ^{ID} c,d ,
 Lucilene Delazari dos Santos ^{ID} c,d
 e Hélio Amante Miot ^{ID} e

^a Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil

^b Departamento de Dermatologia, Universidade do Oeste Paulista, São Paulo, SP, Brasil

^c Departamento de Pesquisa, Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil

^d Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil

^e Departamento de Dermatologia, Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil

* Autor para correspondência.

E-mail: luzivasconcelos12@hotmail.com (L.V. Schaefer).

Recebido em 19 de abril de 2021; aceito em 1 de junho de 2021

<https://doi.org/10.1016/j.abdp.2022.09.007>

2666-2752/ © 2022 Publicado por Elsevier España, S.L.U. em nome de Sociedade Brasileira de Dermatologia. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Melanoma cutâneo fino: expressão imuno-histoquímica da endogлина, do VEGF-C e da nestina^{☆,☆☆}



Prezado Editor,

A incidência do melanoma está aumentando em todo o mundo, e mesmo tumores pequenos e finos podem metastatizar.^{1,2} A progressão tumoral inclui proliferação, neovascularização e linfangiogênese,³ e muitos mediadores são importantes nessa patogênese. A nestina (importante na proliferação), a endogлина (importante na neovascularização) e o VEGF-C (importante na infangiogênese) já foram descritos no melanoma cutâneo em geral, mas com pouca ênfase em melanomas finos.

Descrevemos os dados clínicos de pacientes com melanoma fino com metástases e melanoma fino sem metástases e a expressividade imuno-histoquímica à nestina, endogлина e VEGF-C. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética da Instituição (número do parecer: 332.405).

Foi realizado um estudo caso-controle com 85 pacientes: 20 deles no grupo caso e 65 no grupo controle.

O grupo caso foi constituído por pacientes que apresentavam metástase de melanoma a partir de uma lesão cutânea primária de melanoma fino (até 1 mm de espessura). Os controles foram pacientes com melanoma fino, mas sem metástase. Foram coletados dados quanto ao sexo, idade, topografia e subtipo histológico do melanoma.

Dos 85 pacientes, 37 expressaram marcadores (sete do grupo caso e 30 do grupo controle). No grupo caso, foram realizadas três lâminas de imuno-histoquímica para cada marcador. No grupo controle, duas lâminas para cada marcador, visando a análise estatística de dados em *clusters*. Foram utilizados os anticorpos nestina (ABCAM[®]), endogлина (CD105) (NOVO CASTRA[®]) e VEGF-C (IN VITRO GEN[®]) com a técnica padrão de imunoperoxidase. A substância cromógena foi o 3-amino-9-etilcarbazol (AEC), como já utilizada em estudo prévio de melanoma.⁴

Para endogлина, foram determinados os *hots spots* de neovascularização das lesões em campos de dez aumentos. Foram consideradas positivas as reações imuno-histoquímicas de moderada a forte intensidade. Foram

fotografados até quatro *hot spots* por lâmina. A captura da imagem foi em objetiva de 40 aumentos. Em seguida, contou-se o número de microvasos de cada lesão. Áreas de fibrose foram evitadas, pois poderiam corresponder à neovascularização de reparo, e não à neovascularização da lesão.

Para a avaliação das diferenças dos marcadores imuno-histoquímicos, utilizamos uma análise com base no procedimento de equações de estimativas generalizadas (*Generalized Estimating Equations* – GEE). Essa técnica leva em consideração o efeito de dados em conglomerados (*clusters*) no qual um determinado paciente pode contribuir com um número maior de observações do que outro. Assim, é feito um ajuste para as medidas correlacionadas obtidas em um mesmo indivíduo. De acordo com os pressupostos de distribuição dos dados, foram utilizadas funções de ligação por identidade (Gaussiana), log e Poisson.

Quanto à análise estatística, os dados quantitativos foram descritos por média e erro-padrão, e as variáveis categóricas foram apresentadas por contagens e percentuais. Comparações iniciais entre os grupos foram realizadas pelo teste *t* de *Student* ou pelo teste exato de Fisher. O nível de significância adotado foi de $\alpha = 0,05$. Os dados foram digitados em planilha de Excel e analisados com o auxílio do programa IBM-SPSS versão 22.0.

A maioria dos pacientes no grupo caso era de homens (75%). Nos controles, 47% dos pacientes eram do sexo masculino. Essa diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0,041$). A média de idade no grupo caso foi de 52 anos, e no grupo controle de 55 anos. Nos dois grupos, a localização topográfica mais frequente do melanoma primário foi o tronco. Também nos dois grupos o subtipo histológico mais frequente foi o melanoma de espalhamento superficial. Esses dados não apresentaram diferença estatística (tabela 1).

As reações imuno-histoquímicas dos marcadores estão ilustradas na figura 1 (A: nestina, B: nestina, C: endogлина, D: endogлина, E: VEGF-C, F: VEGF-C).

A reação imuno-histoquímica positiva para endogлина foi considerada moderada a forte. No grupo caso, a média do número de estruturas vasculares identificadas foi de 11,47 com erro padrão de 1,27. No grupo controle foi de 9,22, com erro padrão 0,59. Essa diferença, não foi significativa ($p = 0,088$). Nestina e VEGF-C não apresentaram diferenças entre os grupos.

O sexo masculino já é reconhecido como o que apresenta pior prognóstico nos doentes com melanoma.² Neste estudo, os pacientes com melanoma fino e metástases do sexo masculino prevaleceram quando comparados ao feminino.

A nestina, importante na proliferação celular, e o VEGF-C, importante na infangiogênese, já foram descritos no melanoma cutâneo em geral.

A endogлина (também conhecida como CD105) participa da angiogênese por meio da proliferação e migração das

DOI referente ao artigo:

<https://doi.org/10.1016/j.abd.2021.11.005>

☆ Como citar este artigo: Rey MC, Roehe A, Riccardi F, Souza BS, Bevilaqua M, Bonamigo RR. Thin cutaneous melanoma: investigation of the immunohistochemical expression of endoglin, VEGF-C and nestin. *An Bras dermatol.* 2022;97:814-6.

☆☆ Trabalho realizado no Programa de Pós-Graduação em Patologia e Dermatologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre; Hospital Santa Casa de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil.