

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE POSGRADO EN ESPECIALIDADES MÉDICAS



REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA ACERCA DEL MELANOMA, CON ÉNFASIS HISTOPATOLÓGICO Y EN
BIOLOGÍA MOLECULAR

Revisión bibliográfica sometida a la consideración de la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Especialidades Médicas para optar por el grado y título de Especialista en Anatomía Patológica

TIBISAY VILORIA GONZÁLEZ
SERVICIO DE PATOLOGÍA, HOSPITAL RAFAEL ÁNGEL CALDERÓN GUARDIA

CIUDAD UNIVERSITARIA RODRIGO FACIO

SAN JOSÉ, COSTA RICA

2019

DEDICATORIA

A mi difunto padre, por enseñarme que la educación es el mejor legado para un hijo.

A mi madre, por ser mi bastión incondicional y mi principal impulsora.

A mi hermana, por siempre confiar en mí.

AGRADECIMIENTOS

A una persona a la que considero una excelente profesora, la Dra. Campos, quien sin saberlo, me motivó a escribir sobre este tema, y a mi tutor el Dr. Rodríguez, cuya paciencia y transferencia de conocimiento de manera desinteresada, dignifican la profesión.

A mis compañeros, quienes constituyen mi ilusión diaria para ir a laborar cada día con entusiasmo.

“Esta tesis fue aceptada por la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Especialidades Médicas de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado y título de Especialidad en Anatomía Patológica.”

Dr. Greivin Rodríguez.

Director de tesis invitado

Dra. Marcela Campos Hidalgo

Asesora de tesis

Dra. Eva Moreno.

Directora de Programa de Posgrado en Especialidad en Anatomía Patológica

Tibisay Viloría González

Candidata

TABLA DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
TABLA DE CONTENIDOS	iv
OBJETIVO GENERAL	vi
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	vi
METODOLOGÍA	vi
RESUMEN	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE TABLAS	xiii
INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEÓRICO	4
MELANOCITOS: HISTOLOGÍA.....	4
MELANOMA: GENERALIDADES.....	6
ASPECTOS CLÍNICOS RELEVANTES	8
DERMATOSCOPIA	8
UTILIDAD DE LA CIRUGÍA DE MOHS EN MELANOMA	10
MICROSCOPIA CONFOCAL.....	13
HISTOPATOLOGÍA	15
LESIONES PRECURSORAS	15
LESIONES INVASORAS.....	17
CRITERIOS HISTOPATOLÓGICOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE MELANOMA.....	18
TÉCNICAS DE APOYO DIAGNÓSTICO	20
INMUNOHISTOQUÍMICA	20
MELANOMA PRIMARIO VS. METASTÁSICO.....	21
PAPEL DIAGNÓSTICO DE LA CITOLOGÍA.....	22

EL REPORTE PATOLÓGICO DE MELANOMA.....	23
CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA DE MELANOMA.....	26
VARIANTES RARAS (MISCELÁNEAS).....	33
MELANOMA EN SITIOS ANATÓMICOS ESPECIALES.....	40
BIOPSIA DE GANGLIO CENTINELA.....	55
BIOLOGÍA MOLECULAR	59
FACTORES GENÉTICOS DE SUSCEPTIBILIDAD	59
VÍAS MOLECULARES IMPLICADAS EN LA PATOGÉNESIS DEL MELANOMA.....	64
CORRELACIÓN CITOGÉNÉTICA DE ALGUNOS TIPOS DE MELANOMA	68
TÉCNICAS MOLECULARES.....	72
TRATAMIENTO DEL MELANOMA.....	76
CONCLUSIONES	86
BIBLIOGRAFÍA	88
ANEXOS	96

OBJETIVO GENERAL

Efectuar una revisión bibliográfica del melanoma, con énfasis en la histopatología y la biología molecular de este tipo de neoplasia.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Reseñar el contexto histórico del melanoma, junto con un repaso de la epidemiología.
2. Efectuar una revisión de la clasificación histopatológica del melanoma.
3. Discutir brevemente los síndromes hereditarios relacionados con melanoma, así como los principales factores etiológicos de esta neoplasia.
4. Mencionar los principales elementos que se deben tomar en cuenta a la hora de elaborar un reporte patológico de esta entidad.
5. Citar las últimas actualizaciones en el reporte de melanoma dadas por la AJCC y la OMS.
6. Evaluar algunas consideraciones especiales en el estudio de melanoma según sitio anatómico.
7. Establecer el uso de otras herramientas diagnósticas como: la dermatoscopia, microscopia confocal, la citología, la aplicación de criterios histopatológicos, la inmunohistoquímica y la biología molecular en el diagnóstico del paciente con melanoma.
8. Repasar las principales indicaciones para realizar estudio de ganglio centinela en melanoma y explicar los principales protocolos existentes.
9. Exponer las principales vías moleculares implicadas en la oncogénesis del melanoma, así como su implicación pronóstica y terapéutica.

METODOLOGÍA

Tratándose de una revisión bibliográfica, se obtendrá la información más relevante en el campo de estudio a partir de un universo de documentos actuales, desde una perspectiva estructurada y profesional, incluyendo los hallazgos más substantivos en la materia. También se mencionarán y discutirán conceptos teóricos.

Este trabajo se cataloga como una fuente secundaria de información y si bien no reporta descubrimientos experimentales o nuevos, podría convertirse en la base para una investigación o disertación académica en el tema en cuestión.

Resumen: este trabajo brinda un abordaje amplio del melanoma, aplicando la metodología de investigación conocida como revisión bibliográfica. Se eligió este tema por ser un tópico actual, con alta repercusión en la salud. Al inicio se discute un poco acerca de la historia de esta neoplasia, así como la epidemiología y otros aspectos generales. El grueso del trabajo se centra en los aspectos histopatológicos de esta neoplasia, ahondando desde las lesiones pre-malignas, hasta los criterios histopatológicos para su diagnóstico y los factores pronósticos importantes a reportar por parte del patólogo. También se discute sobre la biología molecular, haciendo hincapié en los principales genes y vías de señalización implicadas en su oncogénesis, con la finalidad de explicar seguidamente las principales modalidades de tratamiento. Se concluye acotando que la información aquí recopilada puede servir para efectuar estudios epidemiológicos o descriptivos en nuestro país.

Abstract: the present work gives a detailed explanation on melanoma by performing a bibliographic compilation of different academic sources such as: papers, meta-analysis, etc. This topic was chosen because it is a trending topic with a high repercussion in the health of the patients who suffer of this condition. Several aspects are discussed in this revision: first, a brief description of melanoma's history, epidemiology and general aspects are given. However, most of the review is centered on the main histopathological aspects of this type of cancer. Examples of pre-malignant lesions are cited, as well as the histopathological criteria when diagnosing melanoma. The most important prognostic factors to be included in the synoptic report done by the pathologist are also alluded to. Moreover, the molecular biology and the main signaling pathways leading to the oncogenesis of this disease are considered, in order to understand the principal therapeutic targets. Finally, it is concluded that the information hereby gathered could be used for future reasearch.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Melanocito, apariencia histológica.	Página 4
Figura 2. Maduración del melanosoma.	Página 5
Figura 3. Paciente con múltiples nevus melanocíticos pigmentados en abdomen, denominado “fenotipo guepardo”.	Página 7
Figura 4. Correspondencia de algunas características explicadas en la tabla 3.	Página 10
Figura 5. Representación esquemática de la cirugía de Mohs para melanoma.	Página 12
Figura 6. Fotografía pre-operatoria de un melanoma in situ situado en la cara.	Página 13
Figura 7. Microscopía confocal	Página 14
Figura 8. Comparación entre la dermatoscopia y la microscopía confocal para una lesión de difícil diagnóstico.	Página 15
Figura 9. Localización histológica de las células nevoides en un melanoma.	Página 16
Figura 10. Nevus displásico.	Página 17

Figura 11. Citología del melanoma.	Página 23
Figura 12. Lentigo maligno.	Página 28
Figura 13. Histopatología del melanoma de extensión superficial.	Página 29
Figura 14. Melanoma nodular: histopatología.	Página 30
Figura 15. Melanoma acral lentiginoso.	Página 32
Figura 16. Melanoma desmoplásico.	Página 33
Figura 17. Melanoma de células balonizadas.	Página 35
Figura 18. Sarcoma de células claras: apariencia macroscópica	Página 36
Figura 19. Sarcoma de células claras apariencia microscópica	Página 36

Figura 20. Comparación entre las características citológicas del sarcoma de células claras y un nevus azul celular.	Página 37
Figura 21. Nevus de Spitz.	Página 39
Figura 22. Melanoma Spitzoide del muslo posterior en una femenina de 50 años.	Página 40
Figura 23. Melanoma amelanótico de mucosa oral.	Página 42
Figura 24. Melanoma conjuntival	Página 43
Figura 25. Cortes microscópicos del iris y de la coroides.	Página 45
Figura 26. Melanoma derivado de la coroides, con forma “fungiforme”.	Página 46
Figura 27. Interacciones entre los tejidos oculares, el melanoma uveal y las células inflamatorias.	Página 48
Figura 28. Anatomía y corte del globo ocular.	Página 50
Figura 29. Expresión del receptor PPAR- γ en el melanoma uveal.	Página 53

Figura 30. Melanoma meníngeo	Página 54
Figura 31. Ganglio centinela: técnicas de manejo de la pieza quirúrgica por parte del patólogo en el Instituto del Cáncer MD Anderson.	Página 56
Figura 32. Representación esquemática de la evaluación histológica de las metástasis de melanoma en un ganglio centinela.	Página 56
Figura 33. Nevus nodal penetrante profundo.	Página 57
Figura 34. Ejemplificación de lo expuesto en la figura 32.	Página 58
Figura 35. Principales vías moleculares implicadas en la génesis de melanoma.	Página 68
Figura 36. Agrupación de genes involucrados con el melanoma acral lentiginoso.	Página 70
Figura 37. Biología molecular del melanoma de mucosas.	Página 71
Figura 38. Pasos y reacciones químicas de la pirosecuenciación.	Página 74

Figura 39. Detección de mutaciones de BRAF^{V600E} por medio de pirosecuenciación.

Página 75

Figura 40. Medicamentos aprobados por la FDA para el tratamiento de melanoma.

Página 76

Figura 41. Terapias blanco aprobadas por la FDA, o que se encuentran en ensayos clínicos para el tratamiento del melanoma cutáneo.

Página 79

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Factores de riesgo clínicos para el desarrollo de melanoma.	Página 7
Tabla 2. Clasificación de melanoma según daño acumulativo de radiación ultravioleta.	Página 8
Tabla 3. Criterios dermatoscópicos de melanoma, junto con sus debidos hallazgos clínicos.	Página 9
Tabla 4. Niveles anatómicos de Clark.	Página 18
Tabla 5. Criterios histopatológicos de melanoma.	Página 19
Tabla 6. Panel de anticuerpos propuesto para distinguir un melanoma primario cutáneo de una lesión metastásica cutánea.	Página 21
Tabla 7. Desglose de los elementos que componen un reporte sinóptico patológico de melanoma cutáneo.	Página 24
Tabla 8. Actualizaciones en melanoma.	Página 26

Tabla 9. Estratificación de los 6 principales tipos de melanoma según su incidencia.	Página 27
Tabla 10. Variantes histológicas raras de melanoma.	Página 34
Tabla 11. Melanoma de mucosa genitourinaria: distribución.	Página 41
Tabla 12. Melanoma uveal: tipos de tumor según microambiente tumoral.	Página 49
Tabla 13. Categoría de tamaño tumoral en melanoma uveal originado en el cuerpo ciliar o la coroides.	Página 51
Tabla 14. Características fenotípicas y genotípicas de melanoma en familias con detección de mutaciones germinales del gen CDK4.	Página 61
Tabla 15. Factores de riesgo genéticos para el desarrollo de melanoma	Página 64
Tabla 16. Ejemplos de avances en el estudio de la biología molecular del melanoma.	Página 73

INTRODUCCIÓN

La palabra “melanoma” deriva del griego: “melas” =oscuro y “oma” =tumor. Los primeros registros históricos de esta enfermedad se remontan a las descripciones que aparecen en los escritos de Hipócrates de Cos en el siglo V a.c, mientras que la principal evidencia arqueológica (aunque escasa), corresponde a metástasis óseas de melanoma en momias de las culturas Chancay y Chinga del Perú, que datan de 2400 años de antigüedad. Fue Sir Robert Carswell, un distinguido patólogo, quien acuñara el término de “melanoma” en 1838.¹

Los avances más notables de este padecimiento aparecieron en la literatura médica europea de los siglos XVIII y XIX, donde los médicos se referían a esta enfermedad como “melanosis” y a los tumores como excrecencias fungiformes de color negruzco.²

Cabe destacar el trabajo de un médico inglés, el Dr. William Norris, quien en 1820 siguió durante 3 años el caso de un paciente de 59 años con melanoma, documentando tanto el progreso de su enfermedad como los principales hallazgos anatomopatológicos cuando efectuó la autopsia de dicho paciente tras su muerte¹.

Él concluyó lo siguiente: “Hallo notable el hecho de que el padre de este caballero falleciera de una condición similar. Este tumor pareciera originarse de un lunar, y tanto mi paciente como sus hijos presentan múltiples lunares, tienen cabello claro y una complexión pálida. Es probable que dicha enfermedad tenga algún patrón hereditario.”¹

Probablemente fue este galeno quien describiera por primera vez el síndrome de melanoma familiar ligado a nevus displásicos múltiples, el cual constituye el 10% de los melanomas y se debe a una mutación en el gen CDKN2A.³

Si bien mucho del trabajo desarrollado en el siglo XIX sentó las bases para el conocimiento actual de melanoma, muchos de estos estudios eran meramente descriptivos y brindaban poca información acerca de la etiología y el mecanismo de oncogénesis.⁴

Fue gracias a Wallace Clark y a Alexander Breslow, quienes en 1966 y 1970 respectivamente, desarrollaron escalas pronósticas de melanoma cutáneo basadas en la profundidad anatómica de invasión tumoral y en el grosor tumoral.⁴

Así, se vio que tumores con un nivel II de Clark (los que invaden parcialmente la dermis papilar) y un espesor de Breslow de 0.76 mm, tenían un pronóstico más favorable, obteniendo avances en el tratamiento quirúrgico de esta patología. También se logró realizar excisiones quirúrgicas más conservadoras, en comparación con los 5 cm de margen quirúrgico propuestos por William Handley en 1907.⁵

Además, gracias a las observaciones de Donald Morton, se implementó la técnica de ganglio centinela para melanoma, restringiendo la disección ganglionar a los pacientes que tuvieran metástasis nodales comprobadas.⁶

Habiendo destacado el contexto histórico de esta enfermedad, conviene acotar que sigue siendo una enfermedad potencialmente letal, cuya incidencia ha aumentado considerablemente en los últimos 50 años, no sólo en adultos mayores sino en adultos jóvenes.⁶

Con respecto a su epidemiología, el registro estadístico más reciente es del año 2017, señalando que solamente en Estados Unidos se diagnosticaron 87110 casos.⁷ En Costa Rica, la última estadística proporcionada por el Ministerio de Salud en materia de cáncer de piel data del 2014, e indica que la tasa de cáncer de piel es de 58.04 por 100.000 habitantes. De éstos, el melanoma representa un 4%, sin embargo, acarrea un 50% de mortalidad.⁸

La demanda de diagnósticos histopatológicos adecuados para lesiones pigmentadas de piel ha aumentado considerablemente en los últimos 20 años, siendo el estándar dorado la valoración histológica de características arquitecturales y citológicas, lo cual no deja de ser un reto importante para el patólogo. Por tal motivo, el presente trabajo pretende abordar la clasificación histórica de melanoma en: lentigo maligno, nodular, de extensión superficial y acral lentiginoso, así como otros subtipos histológicos reconocidos en la clasificación de la WHO del 2006. Asimismo, se hará mención de los aspectos básicos a incluir en un reporte patológico, con el fin de lograr un consenso y un abordaje sistemático entre patólogos.⁹

La localización anatómica del melanoma juega un papel importante, al tener una incidencia que depende de factores como el género. Por ejemplo, se conoce bien la relación entre la aparición de melanoma en las extremidades inferiores en mujeres y en el torso en hombres, por lo que se expondrá brevemente dicho tema en esta revisión bibliográfica.¹⁰

Otro ejemplo claro es el del melanoma uveal, el cual constituye una entidad con consideraciones patológicas distintivas.¹¹

Por último, en esta revisión se tocarán dos temas de suma importancia: la técnica del ganglio centinela y las vías moleculares implicadas en la oncogénesis del melanoma. El primero, porque actualmente no existe un protocolo universal para la valoración de ganglio centinela en melanoma cutáneo¹². El segundo porque, si bien es cierto el tratamiento del melanoma temprano sigue siendo quirúrgico, el tratamiento de la enfermedad avanzada se ha vuelto complejo, gracias al descubrimiento de mutaciones puntuales, siendo una de las más estudiadas la del gen BRAF.¹³

MARCO TEÓRICO

MELANOCITOS: HISTOLOGÍA

Los melanocitos son células dendríticas que derivan de la cresta neural. Se localizan en la capa basal de la epidermis y en otros epitelios. Con tinción de hematoxilina-eosina, las prolongaciones dendríticas no son aparentes y los melanocitos se ven como células más pequeñas que los queratinocitos adyacentes. Poseen un núcleo de forma redonda a oval, rodeado de un halo claro, siendo la proporción de melanocitos 1 por cada 4 a 10 queratinocitos (figura 1). Su función es la de producir y secretar melanina, la cual protege la piel contra los efectos deletéreos de los rayos UV. Esto se logra mediante un proceso catabólico complejo a partir del aminoácido tirosina y ocurre en organelas similares a lisosomas denominados melanosomas. Los melanosomas poseen 4 estadios de maduración: en el primero, las organelas son redondas, mientras que, del segundo al cuarto, son fusiformes, empezando la síntesis de melanina en el segundo estadio (figura 2). Es interesante que en el melanoma de células balonizadas, las células malignas son parecidas morfológicamente a melanosomas en el primer estadio de maduración.¹⁴

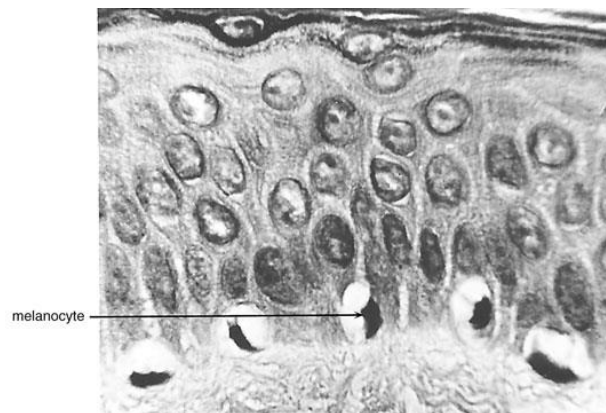


Figura 1. Melanocito, apariencia histológica (www.derm101.com).

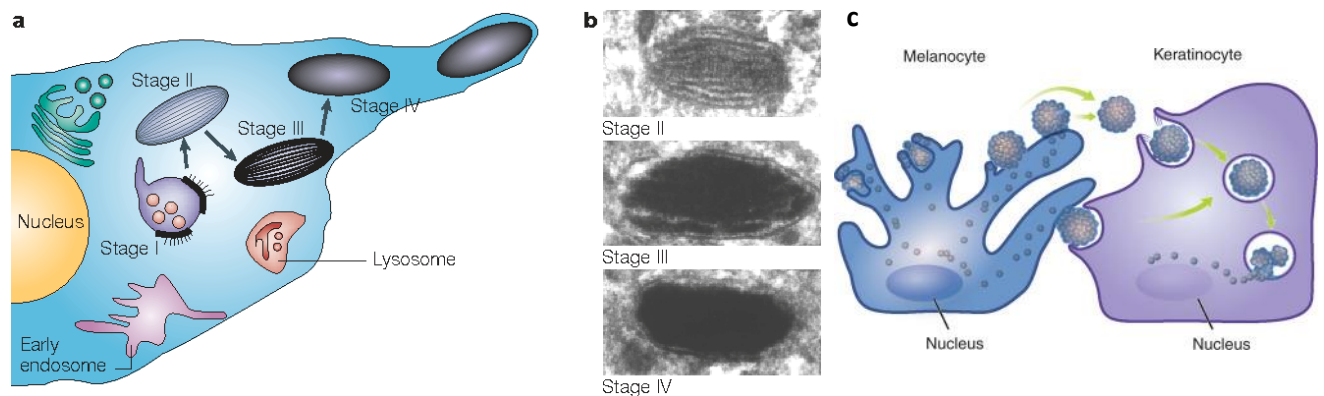


Figura 2. Maduración del melanosoma. A. Diagrama esquemático del cuerpo celular y una prolongación dendrítica de un melanocito. Las vesículas en verde muestran endosomas con tirosinasa (enzima crítica en la formación de melanina), originados a partir del Aparato de Golgi. B. Melanosomas vistos en microscopía electrónica. C. Donación de pigmento. (<https://www.semanticscholar.org>. Universidad Imperial de Londres, Reino Unido)

El color de la piel va a estar determinado por la cantidad de melanosomas y no por la cantidad de melanocitos, la cual es constante. La transferencia de melanina a los queratinocitos vecinos y a las células del folículo piloso se da por medio de un proceso denominado “donación de pigmento”, donde las puntas dendríticas del melanocito que contienen los melanosomas son fagocitadas por dichas células.¹⁴

La melanina es argenta-fílica y se puede ver en tinciones de histoquímica como la Fontana Mason, la cual contiene plata.⁴

Los melanocitos también expresan la proteína S100 con tinciones de inmunohistoquímica, sin embargo, este anticuerpo es sensible pero poco específico, siendo expresado a su vez por células de Langerhans, adipocitos, glándulas ecrinas y apocrinas.¹⁴

Otros marcadores de diferenciación melanocítica son: el antígeno de melanoma reconocido por linfocitos T (MART-1), también conocido como Melan-A, el HMB45, el SOX10 y el factor de transcripción de microftalmia (MITF).¹⁴

MELANOMA: GENERALIDADES

El melanoma no es una entidad única, sino un grupo heterogéneo de tumores que comparten la característica en común de originarse de un melanocito.¹⁵

FACTORES DE RIESGO

Los principales factores de riesgo son debidos al medio ambiente, del huésped y genéticos.

Factores ambientales y del huésped

Sin duda, el mayor factor de riesgo es la exposición a los rayos ultravioleta, siendo mayor el riesgo con la exposición alta intermitente a los rayos UV (riesgo relativo de 2-2.5 veces, p.e, en maratonistas), mientras que la exposición crónica al sol no tiene injerencia en el riesgo y hasta se ha visto que podría ser más bien protectora para melanoma.⁴

En un estudio realizado en los Estados Unidos en 2003 a 207.726 pacientes con melanoma, se determinó que el 39% aquejaba haber tenido por lo menos una quemadura solar en los 12 meses previos a la aparición de la lesión.⁴

La exposición a radiación UV artificial también acarrea un riesgo; en pacientes con psoriasis a quienes se les aplica terapia PUVA, está bien establecido la aparición de melanoma 15 años después del tratamiento, así como en personas que asisten a salas de bronceado.⁴

Otras sustancias químicas asociadas son: el polivinilcloruro, insecticidas y arsénico. También se describe la enfermedad en pacientes que hayan recibido algún tipo de trasplante, lo cual se asocia principalmente a inmunosupresión.⁴

Uno de los trabajos más completos sobre los factores de riesgo de melanoma fue publicado en 2005 en el Journal Europeo de Oncología por Sara Gandini y colaboradores, y ahonda un poco en los factores fenotípicos de riesgo, de los cuales el ser pelirrojo confiere un riesgo relativo considerable (RR3.6)⁶. También existe un riesgo independiente en individuos con más de 100 nevus pigmentados pequeños, (denominado el fenotipo “guepardo”, figura 3), con nevus mayores a 6 mm de diámetro y con más de 5 nevus displásicos. A pesar de que se sabe algo de estos riesgos relativos, poco se sabe de la tasa de transformación de un nevus en melanoma,

aunque nuevos datos arrojan que la mayoría de melanomas se originan de novo y que el riesgo de transformación de un nevus en melanoma es muy bajo (0.0005%).¹⁶



Figura 3. Paciente con múltiples nevus melanocíticos pigmentados en abdomen, denominado “fenotipo guepardo” (*Phung et al. Numerous, small, darkly pigmented melanocytic nevi: The cheetah phenotype. 2003*).

A continuación, se resumen los principales riesgos clínicos para el desarrollo de melanoma.

Factor de riesgo	Riesgo
5 o más nevus displásicos	10 RR
Melanoma previo	9 RR
>100 nevus en total	7 RR
Pelirrojo	4 RR
Historia familiar, 1 nevus displásico, 14-60 nevus en total, piel clara, ojos claros, cabello claro, pecas, uso de cámaras de bronceado, historia de quemaduras, terapia con PUVA, inmunosupresión	1.5-2.5 RR

Tabla 1. Factores de riesgo clínicos para melanoma. El riesgo relativo se define como el riesgo de desarrollar melanoma en comparación con la población normal. Un factor de riesgo de 1 implica que no hay aumento del riesgo, mientras que uno de 2 implica el doble de probabilidad. (*Patterson, James. Weedon's Skin Pathology. 2016*)

ASPECTOS CLÍNICOS RELEVANTES

La lesión más dominante es el melanoma de extensión superficial, pues posee la mayor incidencia. Se localiza por lo general en las piernas de las mujeres o en el torso de los hombres, con un rango de edad entre los 30 y 50 años. Clínicamente, se observa como una lesión fungiforme, irregular, con áreas blanquecinas (las cuales pueden dar un indicio de regresión tumoral), o áreas de aspecto nodular que orienten al patólogo hacia una fase de crecimiento vertical. Se pueden citar algunos rasgos que se vinculan a otros tipos de melanoma. Por ejemplo, el melanoma lentigo maligno tiene una progresión lenta y se ubica en zonas de la piel foto expuestas (cara, cabeza), el melanoma acral lentiginoso se localiza en palmas, plantas y región subungueal y es más característico de personas con piel oscura. Asimismo, el melanoma nodular tiene una presentación clínica variable y el melanoma desmoplásico se da más en adultos mayores.¹⁷

Existen múltiples maneras de clasificar a esta neoplasia. La siguiente tabla aparece en los protocolos de reporte patológico propuestos por el Colegio Americano de Patólogos y toma en cuenta la cantidad de radiación ultravioleta acumulada.¹⁸

Cantidad o acúmulo de la radiación UV	Subtipo de melanoma
<i>Melanomas en pieles con poco daño acumulativo</i>	Melanoma de extensión superficial
<i>Melanomas en pieles con alto daño acumulativo</i>	Lentigo maligno y desmoplásico
<i>Melanomas en sitios no expuestos al sol o sin asociación etiológica con la exposición a rayos UV</i>	Melanoma acral, melanoma de mucosas, melanoma originado en un nevus congénito, melanoma originado en un nevus azul, melanoma uveal.
<i>Melanoma en pieles con exposición variable al sol</i>	Nodular, nevoide

Tabla 2. Clasificación de melanoma según daño acumulativo de radiación ultravioleta. Colegio Americano de Patólogos. Actualizado en agosto del 2019.

Dermatoscopia

La combinación entre la clínica (los criterios básicos que utiliza el médico, ABCDE) y mejor aún, la dermatoscopia, vienen a ser una herramienta diagnóstica no sólo porque brindan diagnósticos precisos, sino porque evitan biopsias que carezcan de fundamento clínico. Lo que se ha observado es que, conforme la lesión avanza clínicamente, ésta tiende a volverse asimétrica y por lo tanto, se

detalla más criterios con la utilización del dermatoscopio. Dichos criterios se resumen en la siguiente tabla, junto con su correspondencia en la figura 4.¹⁹

Criterio	Descripción
Red de pigmento atípico	Malla café a negruzca con líneas gruesas y bordes irregulares
Polígonos o líneas anguladas	Líneas anguladas y pigmentadas que forman figuras geométricas poligonales y que se ven en la piel crónicamente expuesta al sol.
Manchas irregulares	Áreas café, negruzcas o blanquecinas sin una estructura obvia, distribuidas irregularmente en la lesión.
Puntillero/glóbulos	Estructuras globoides dentro de la lesión.
Rayas o pseudópodos	Líneas radiales (pseudópodos) o proyecciones bulbosas o digitiformes.
Zonas de regresión tumoral	Corresponden clínicamente a una lesión plana con las siguientes dos características: i Áreas despigmentadas similares a una cicatriz. ii Gránulos azulados “tipo pimienta”
Estructuras cristalinas	Este criterio sólo se ve con un dermatoscopio polarizado. Son líneas blancas, cortas y brillantes.
Despigmentación reticular	Líneas hipopigmentadas, irregulares conectadas entre sí que rodean vasos sanguíneos.
Patrón vascular atípico	Vasos sanguíneos irregulares

Tabla 3. Criterios dermatoscópicos de melanoma, junto con sus debidos hallazgos clínicos. (Verena Ahlgrimm et al. *Confocal Microscopy in Skin Cancer*. 2018)

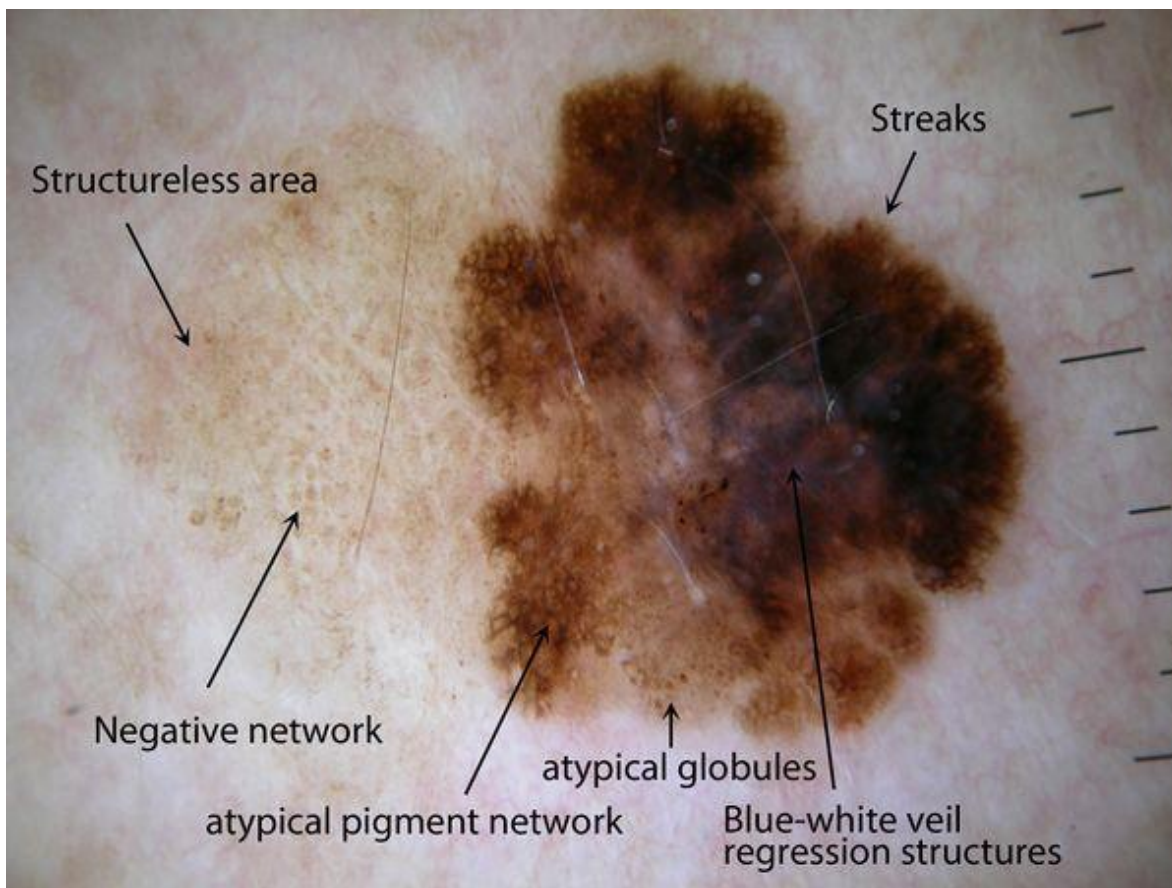


Figura 4. Correspondencia de algunas características explicadas en la tabla 3, vistas en dermatoscopia. (Verena Ahlgrim et al. *Confocal Microscopy in Skin Cancer*. 2018)

¿Cuál es la utilidad de la cirugía de Mohs en melanoma?

La cirugía de Mohs es una técnica de excisión quirúrgica especializada que se utiliza en el tratamiento de cáncer de piel. Su efectividad se basa en que provee un óptimo control de márgenes, al evaluar el 100% de los márgenes periférico y profundo del tejido a retirar.²⁰

Tiene aplicaciones bien establecidas en el control de carcinomas basocelulares y tumores derivados de queratinocitos, sin embargo, en años recientes ha ganado adeptos para el control de melanoma in situ y melanoma invasor, pues combina el reconocimiento del tumor en cortes de tejido fresco congelado teñidos con hematoxilina-eosina y marcadores de inmunohistoquímica específicos. Por ejemplo, del 2003 al 2008, la utilización de la cirugía de Mohs en melanoma tuvo

un incremento neto del 60%. La gran desventaja es que estas condiciones solamente se logran en centros muy especializados.²¹

El MART-1 (antígeno de melanoma reconocido por linfocitos T), conocido también como Melan-A, ha sido considerado por muchos el antígeno idóneo en el estudio microscópico del melanoma. El MART-1 tiene una excelente sensibilidad para melanomas tanto primarios como metastásicos (97% y 84% respectivamente).²¹

Adicionalmente, existen protocolos automatizados de pruebas de inmunohistoquímica que pueden lograr un resultado bastante veraz en 20 minutos, tiempo promedio que tarda en procesarse un tejido para biopsia por congelación.²⁰

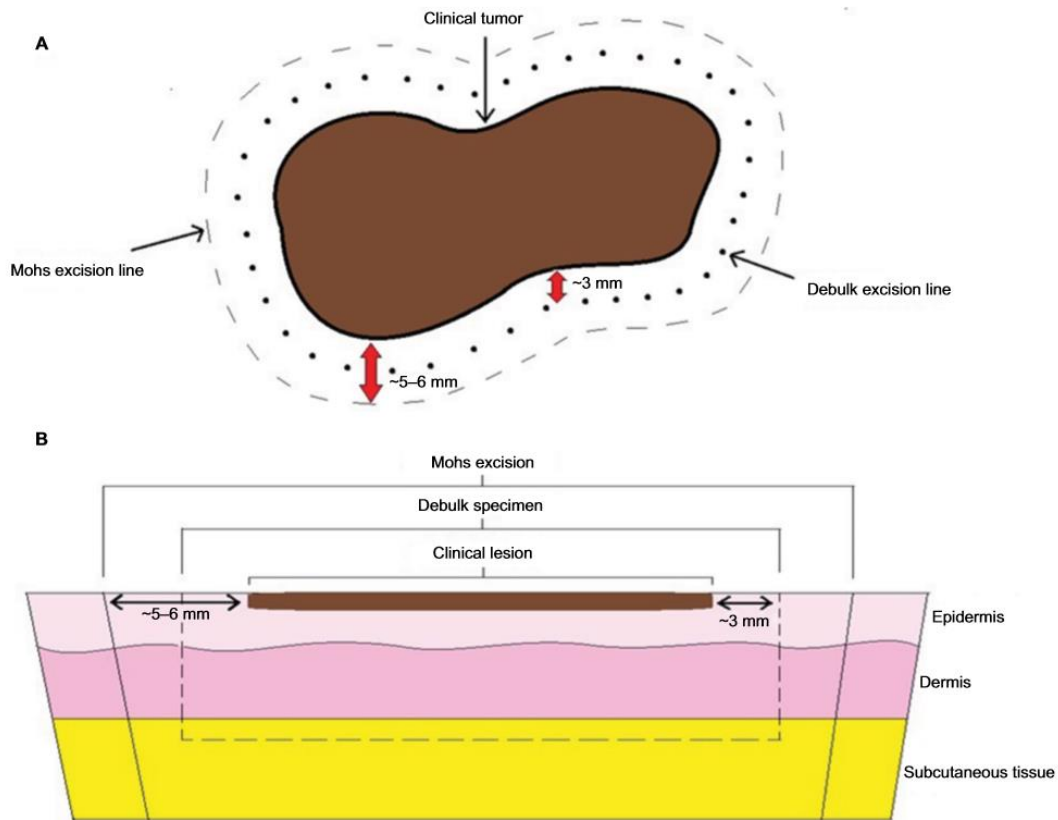


Figura 5. Representación esquemática de la cirugía de Mohs para melanoma. A. Punto de vista clínico. B. Un corte representativo del tejido. (Beaulieu, Derek et al. *Current Perspectives on Mohs Micrographic Surgery for Melanoma*. Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology. 2018)

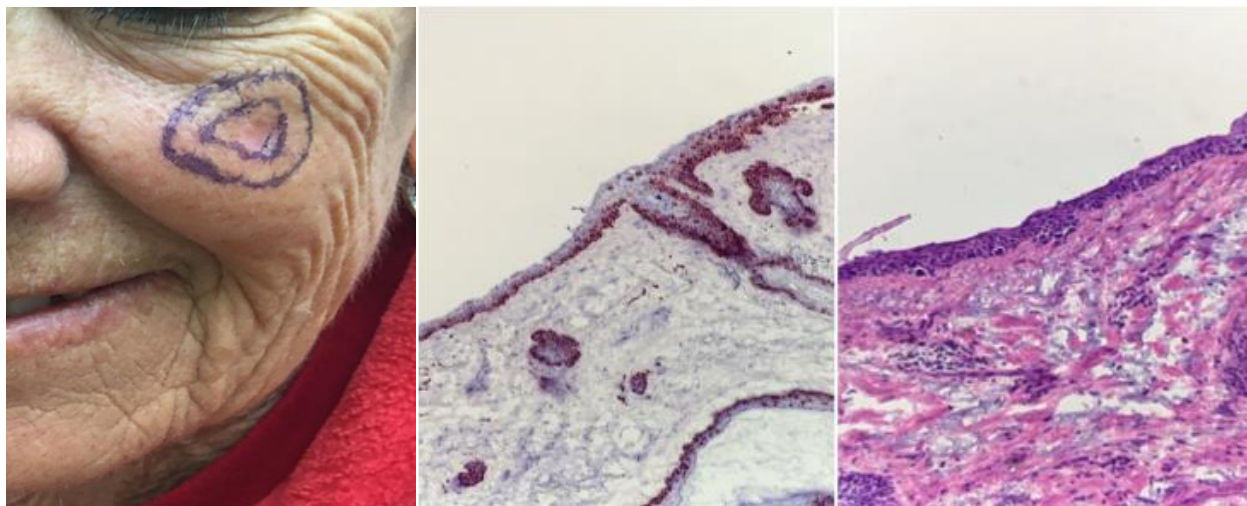


Figura 6. Fotografía pre operatoria de un melanoma in situ situado en la cara. El primer paso es que el cirujano identifique y marque los bordes clínicos. Se recomienda el uso de una lámpara de Wood, particularmente en lesiones de bordes pobremente definidos (p.e lentigo maligno). Luego, se definirán los márgenes, que oscilan entre 2 a 10 mm dependiendo del tamaño de la lesión, localización anatómica y estadio tumoral. También se puede ver el margen quirúrgico microscópicamente, el cual está positivo (figura del centro corresponde a inmunohistoquímica MART-1, mientras que la figura de la derecha es la congelación con tinción básica de hematoxilina eosina).

Microscopía confocal

Otra herramienta de uso clínico que está en voga en el diagnóstico de melanoma es la del microscopio confocal. Dicho microscopio fue inventado por Marvin Lee Minsk en 1957. Su estructura, basada en el microscopio de fluorescencia, permite obtener imágenes tridimensionales de células y tejidos.²²

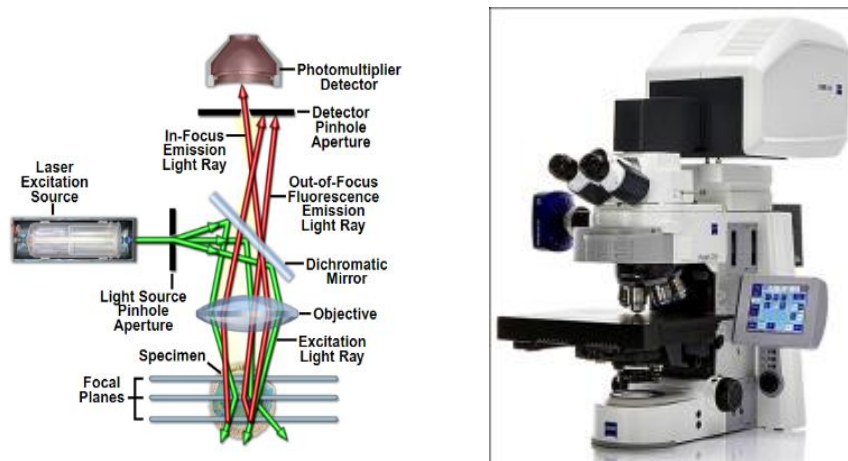


Figura 7. A la izquierda, se muestran las principales rutas que toma la luz en el microscopio confocal. A la derecha, se señala un microscopio confocal. (<https://histoptica.com/microscopio-confocal-o-laser-de-barrido/>)

El microscopio confocal (MCF) ofrece diversas ventajas, incluyendo la posibilidad de tener un campo de visión con una profundidad mayor, la eliminación del deslumbramiento que a su vez disminuye el foco, así como la posibilidad de obtener muestras de tejido fijado o células en vivo que hayan sido previamente marcadas con una sonda fluorescente.²²

Concretamente en lo que respecta a melanoma, con el MCF se logran identificar células cuyos núcleos son brillantes (propio de los melanocitos atípicos), y se pueden ver procesos dendríticos en las capas suprabasales de la epidermis (p.e, en un patrón pagetoide). Los melanocitos dispuestos en el patrón pagetoide pueden adoptar diferentes formas: redonda, triangular, fusiforme, o asemejar células nucleadas dendríticas. A su vez, encontrar melanocitos de distintas formas, tamaños y brillo en una sola muestra, es sugerente de pleomorfismo.²²

Se han realizado algunos intentos de aplicar la MCF para valorar los márgenes quirúrgicos en melanomas con bordes mal definidos, empero, se trata de estudios compuestos de pocos casos. Las dos principales limitantes de este método diagnóstico son: el contraste en blanco y negro de la imagen y que la imagen pierde resolución conforme la profundidad de la lesión aumenta.²²

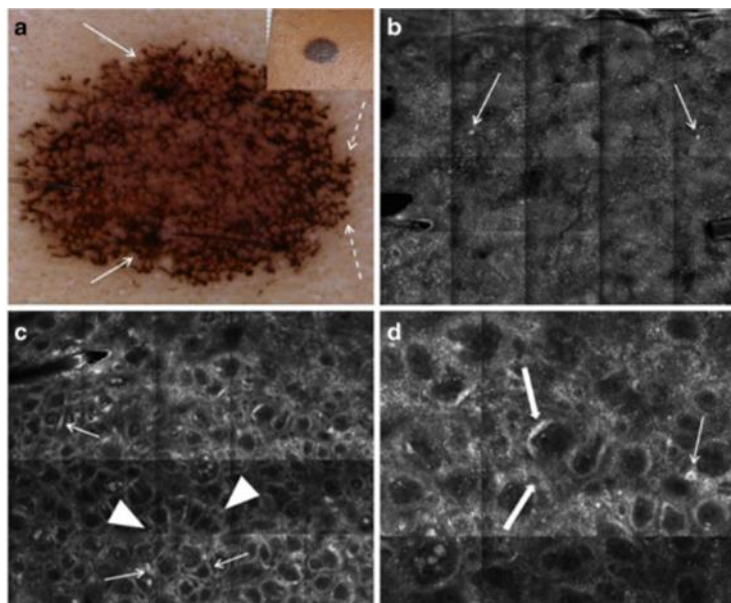


Figura 8. Lesión diagnosticada clínicamente como un nevus de Clark (nevus displásico), pero que demostraba características de melanoma si se compara con la dermatoscopia y la microscopía confocal. A. La lesión era una pápula de 4x5mm, café oscuro, de superficie levemente aplanada. Con el dermatoscopio se identifica una red atípica de pigmento y pseudópodos en la periferia. B. Microscopía confocal (campo de visión de 2.5x2 mm), donde se aprecian algunas células luminiscentes en el estrato espinoso de la epidermis, correspondientes a melanocitos con un patrón de dispersión pagetoide. C. Estructuras “tubulares” en la unión dermoepidérmica, que correlacionan con nidos confluentes de melanocitos neoplásicos. D. Melanocitos atípicos solitarios. Según la escala de microscopía confocal propuesta por Pellacani, esta lesión caería en una categoría 5. - papilas sin borde bien definido, patrón de diseminación pagetoide y melanocitos atípicos en la unión dermoepidérmica. En conclusión, esta lesión es altamente indicativa de melanoma. (Verena Ahlgrim-Siess¹ et al., *Confocal Microscopy in Skin Cancer*. 2018.)

HISTOPATOLOGÍA

Lesiones precursoras

Este tema es muy polémico, pues hay muchos estudios que relacionan la aparición de melanoma cutáneo con lesiones névicas precursoras. Muchos pacientes con melanoma maligno alegan haber tenido una lesión precursora similar a un lunar en la piel. Además, del 40 al 72% de los melanomas presentan células nevoides detectadas histopatológicamente, en particular en el melanoma de extensión superficial y los melanomas situados en tronco en pacientes jóvenes. Sin embargo, se ha

visto que muchas de estas células no son más que subclonas de células de melanoma invasor que semejan histológicamente a células névicas. Dichas células tienen una baja expresión de receptores o antígenos reconocidos por los linfocitos T citotóxicos, por lo que escapan al fenómeno de regresión tumoral.¹⁵

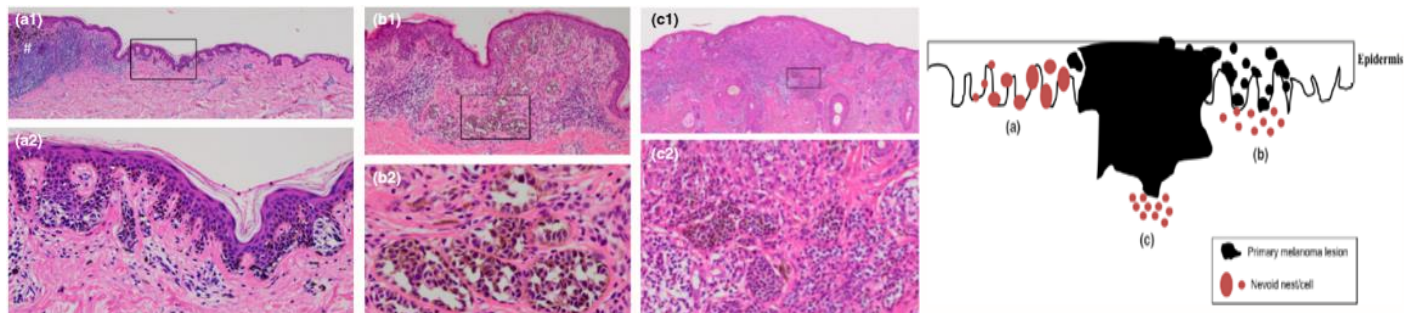


Figura 9. Localización histológica de las células nevoides en un melanoma. A. En la epidermis, lateral al melanoma. B. En la dermis, debajo del componente epidérmico del melanoma. C. En la dermis, debajo del componente invasor. (Saida Toshiaki. *Histogenesis of Cutaneous Malignant Melanoma: The Vast Majority Do Not Develop from Melanocytic Nevus but Arise de Novo as Melanoma in Situ*. 2019)

Si bien el riesgo de desarrollo de melanoma en las lesiones névicas existe, esto es muy raro en el caso de los nevos adquiridos y es más común en los nevos congénitos medianos (los que miden 1.5-20cm) y grandes (más de 20 cm).²³

Lo anterior concuerda con la bibliografía que menciona que casi un 70% de los melanomas cutáneos se originan de novo, mientras que 30% pueden asociarse a lesión névicas precursoras y a nevos displásicos.⁴

Nevus displásico

Término controversial utilizado para denominar a lesiones de melanocitos atípicos que aparecen en la adolescencia y adultez temprana. Los también denominados nevos de Clark, son nevos que miden más de 5 mm, tienen una forma irregular o varias tonalidades. Algunas hipótesis apoyan que el nevus de Clark se trate de un paso intermedio entre un nevus y un melanoma.⁴

Típicamente, contienen atipia arquitectural y citológica. Histológicamente, son nevos compuestos con una marcada proliferación lentiginosa de melanocitos en la unión dermoepidérmica, que se

extiende por lo menos 3 crestas epidérmicas más allá del componente dérmico del nevus (fenómeno de hombro). Los nidos son irregulares en forma y tamaño y se observa fusión de crestas epidérmicas. La atipia citológica se aprecia en forma de: hiper cromasia nuclear, nucléolos prominentes o la distribución irregular del pigmento melánico. La dermis papilar contiene fibrosis laminar (fibras paralelas de tejido conjuntivo), un infiltrado inflamatorio alrededor de vasos sanguíneos dilatados y los melanocitos pueden adquirir una configuración fusiforme o epitelioides. Puede haber hiperqueratosis epidermolítica (vacuolización de queratinocitos acompañada de engrosamiento del estrato córneo), pero lo anterior no es un hallazgo específico²⁴.

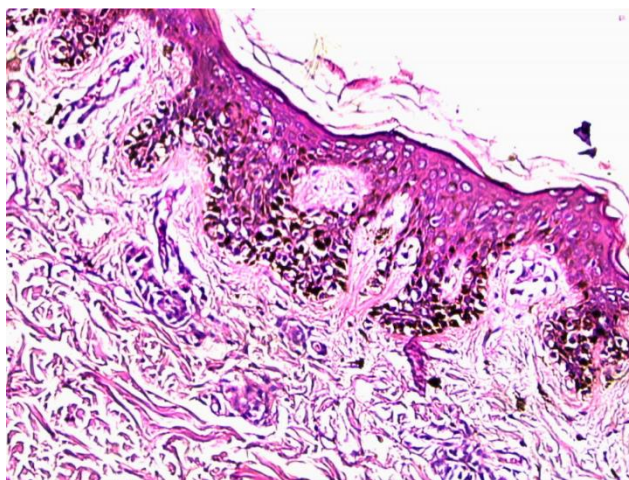


Figura 10. Nevus displásico. Lesión névica pigmentada tipo parche en la espalda de una mujer de 30 años. La biopsia muestra un nevus melanocítico compuesto con actividad de unión en donde hay fusión de crestas epidérmicas. (<https://www.omicsonline.org>. Dr. Asmaa Gaber Abdou. Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad Menoufiya, Egipto.)

Lesiones invasoras

Aspectos a tomar en cuenta al definir invasión tumoral

Los niveles de Clark son un sistema de estadificación que evalúa los niveles anatómicos de invasión de melanoma en la piel, y fueron desarrollados por Wallace H. Clark Jr. en la década de 1960 en el Massachusetts General Hospital (tabla 4). Actualmente, el sistema de estadificación propuesto por el American Joint Committee on Cancer no considera los niveles de Clark por tener un valor pronóstico bajo, ser poco reproducibles y más subjetivos que otras alternativas, como la profundidad de Breslow.²⁵

Tabla 4. Niveles anatómicos de Clark (documents.cap.org.)

Nivel 1 Melanoma confinado a la epidermis
Nivel 2 Melanoma en la dermis papilar, pero no abarca todo su espesor
Nivel 3 Melanoma llena la dermis papilar pero no se extiende a la dermis reticular
Nivel 4 Melanoma en la dermis reticular
Nivel 5 Invasión al tejido subcutáneo

La profundidad de Breslow tiene una mayor connotación en el estadificación de melanoma en la actualidad. Esta mide el espesor tumoral microscópicamente, que va desde la primera línea (más superficial) de células de la capa granulosa (o desde la base de la úlcera en un melanoma ulcerado) hasta el sitio de mayor profundidad. Dicha medida se expresa en milímetros y se redondea al decimal más cercano. Numerosos estudios avalan esta práctica, pues tiene peso como factor pronóstico independiente, correlacionando un mayor espesor a una supervivencia menor.²⁶ Por ejemplo, un meta-análisis que incluía 10928 pacientes, determinó que melanomas con una profundidad de Breslow mayor a 0.75 mm se asociaban a un riesgo mayor de tener un ganglio centinela positivo. Por lo tanto, en la 8va edición de la AJCC (American Joint Committee on Cancer) se subió de categoría a T1b los tumores con medidas de Breslow entre 0.8 y menos de 1 mm.²⁷

Además, se ha dado importancia a melanomas con profundidades de Breslow menores a 1 mm, apodados “melanomas delgados”, ya que componen un 75% de la incidencia de melanoma, pero acarrear el 25% de las muertes por esta enfermedad. Esto a pesar de tener un pronóstico excelente, con supervivencias a 12 años del 85%.²⁷

Criterios histopatológicos de melanoma

Si bien la falla en diagnosticar correctamente un melanoma resulta perjudicial para el paciente, el catalogar una lesión névica como un tumor melanocítico maligno también acarrea un aumento en la morbilidad para el paciente, si se suma al hecho de que la variabilidad interobservador para lesiones intermedias puede ser de hasta un 25%.²⁸

En la tabla 5 se resumen los principales criterios histopatológicos para diagnóstico de melanoma.

Criterios arquitecturales
Asimetría
Lesión poco circunscrita
Consumo de la epidermis*
Nidos epidérmicos de melanocitos que muestren: <ul style="list-style-type: none"> - Confluencia - Variabilidad en tamaño y forma - Disposición al azar Melanocitos solitarios que muestren: <ul style="list-style-type: none"> - Distribución al azar - Predominancia sobre nidos - Diseminación pagetoide** Nidos dérmicos de melanocitos que muestren: <ul style="list-style-type: none"> - Variabilidad en tamaño y forma - Confluencia - Falta de maduración conforme aumenta la profundidad - Variabilidad en la distribución de la melanina
Melanocitos dentro de espacios linfovascuales
Criterios citológicos
Pleomorfismo nuclear, variabilidad en el núcleo, mitosis (a veces atípicas), aumento de figuras apoptóticas.

Tabla 5. Criterios histopatológicos de melanoma. * Adelgazamiento de la epidermis con atenuación de las capas basal y suprabasal, además de pérdida del patrón de crestas epidérmicas. ** Proliferación celular ascendente de los melanocitos hacia los estratos más superficiales de la epidermis, simulando la distribución vista en la enfermedad de Paget. (*Patterson, James. Weedon's Skin Pathology. 2016*)

Dos conceptos que conviene acotar en este apartado son: la fase de crecimiento radial y vertical. Estos fueron acuñados por Clark y colegas para describir la evolución natural del melanoma. La fase de crecimiento radial se refiere a una diseminación centrífuga de un área que clínicamente se ve como una lesión tipo placa en la piel. Las células crecen de manera horizontal y se diseminan en la epidermis. Aunque la fase radial suele considerarse un predecesor de la fase de crecimiento vertical, en el melanoma nodular no existe la fase de crecimiento radial. La fase radial incluye también invasión a la dermis, siempre y cuando las células no ocupen la dermis reticular y no haya mitosis dérmicas.²¹

La fase de crecimiento vertical se debe a angiogénesis y expresión del factor de crecimiento endotelial vascular, dando al tumor el potencial biológico para producir invasión linfovascular y

metástasis. En dicha fase el pleomorfismo celular es mayor al de la fase de crecimiento radial y es frecuente encontrar apoptosis tumorales. Puede verse regresión tumoral, aunque usualmente no se encuentra presente en la base del tumor.⁹

La fase vertical es en sí un factor pronóstico adverso y se da cuando se encuentra alguno de los siguientes: el componente de nidos dérmicos es más grande que el de unión, existe actividad mitótica en la dermis, o las células ocupan todo el espesor de la dermis papilar (nivel de Clark III). Existen lesiones intermedias que reúnen algunas pero no todas las características anteriormente citadas. Por ejemplo, ante una lesión difícil de catalogar, si se observa diseminación pagetoide de melanocitos en la periferia de la lesión o el hallazgo de mitosis en el componente dérmico, se favorece el diagnóstico de melanoma.²¹

TÉCNICAS DE APOYO DIAGNÓSTICO

Inmunohistoquímica

El melanoma es un tumor con un amplio espectro de características histológicas que simula tumores de estirpe epitelial, mesenquimal neural y hematológica. La inmunohistoquímica se ha convertido en una herramienta de ayuda en el diagnóstico diferencial de melanoma con estos tumores. Por ejemplo, suelen haber esquemas que combinan anticuerpos como ki67-p16 y HMB45. El ki67 es un marcador eficiente y se ha propuesto un intervalo de entre 2-10% para los nevus y mayor a 15% para melanoma, sin embargo, se han reportado melanomas con ki67 bajos. El p16 se interpreta como una pérdida de expresión nuclear en las lesiones malignas, no obstante, este marcador por sí sólo no resulta suficientemente específico.²⁹

El HMB45 o anticuerpo anti p100 se expresa en el citoplasma de melanocitos inmaduros o activados. Normalmente se observa un gradiente de expresión en las lesiones névicas donde la tinción va disminuyendo conforme las células alcanzan profundidad en la dermis y van madurando. Dicho gradiente no se ve en lesiones malignas, donde más bien se observa una tinción celular difusa, aunque hay que tener precaución al evaluar lesiones como: nevus azul, nevus penetrante profundo y el nevus esclerosante, los cuales también demuestran una tinción difusa. A su vez, el uso de HMB45 carece de utilidad en el melanoma nevoide, donde las células malignas simulan el gradiente usual observado en un nevus.²⁹

Uso de la inmunohistoquímica para la distinción de melanomas cutáneos primarios de metastásicos

Este aspecto queda plasmado en un estudio publicado en el American Journal of Pathology en el año 2004; siendo Guerriere Kovak, Pamela et al los autores.³⁰

A través de una cuidadosa correlación clinicopatológica se identificaron 37 melanomas metastásicos de una base de datos.³⁰

Todos estos melanomas tenían un componente intraepidérmico. Posteriormente, se efectuó un estudio comparativo entre los 37 melanomas metastásicos y 43 melanomas primarios con características similares, apoyando los resultados con un panel de inmunohistoquímica que incluía los siguientes anticuerpos: la proteína antiapoptótica bcl2, una proteína mutante p53, el ki-67 (marcador de proliferación celular), antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA), la isoforma α de la actina y el CD117 (c-kit).³⁰

Los resultados demostraron que no hubo diferencia en los patrones de expresión entre melanoma primario y metastásico en lo que concernía a bcl2 y a la isoforma α de la actina. La positividad o expresión de ki67 y de p53 fue mucho mayor en los tumores metastásicos, aunque se vio cierto fenómeno de traslape con el p53. El anticuerpo de inmunohistoquímica CD117 se expresó en 24 de los 37 tumores metastásicos, lo cual representó un 65% de la muestra total, y se perdía en casi todos los demás melanomas primarios. Si bien este algoritmo de pensamiento no era definitivo, puede ser de utilidad para distinguir entre melanomas primarios y metastásicos cutáneos.³⁰

Anticuerpo	Casa comercial	Clona	Dilución
CD117	DAKO, Santa Bárbara, California	104D2	1:40
p53 (mezcla)	Oncogene Science, Boston, MA, Dako	D01 y D07	1:160 y 1:240
Ki-67	AMAC, Westbrook	MIB-1	1:200
PCNA	Novocastra, Newcastle	PC10	1:400
Isoforma de actina α	DAKO	1A4	1:400
Bcl-2	DAKO	124	1:40

Tabla 6. Panel de anticuerpos propuestos para distinguir un melanoma cutáneo primario de una metastásis cutánea. (Guerriere-Kovach, Pamela M. et al. *Primary Melanoma of the Skin and Cutaneous Melanomatous Metastases*. 2004)

Citología

Siendo estrictos, la citología no cumple ningún rol diagnóstico en melanoma. Más bien resulta ser una herramienta muy útil, pero en el melanoma metastásico. Un diagnóstico adecuado de melanoma por citología puede reducir el riesgo de cirugía innecesaria o bien puede guiar al clínico acerca de la conducta quirúrgica a seguir.³¹

Así lo confirma un estudio retrospectivo publicado en el 2008. Se realizaron 1416 biopsias por aguja fina (FNA) a 2204 pacientes con sospecha de melanoma metastásico. Los resultados arrojaron una sensibilidad del 92.1% y una especificidad total del 99.2%, identificándose 69 falsos negativos y 5 falsos positivos.³⁰

La principal característica citológica observada en el melanoma maligno es la presencia de células neoplásicas de variables tamaños y configuraciones. Estas poseen núcleos grandes, prominentes, con cromatina fina o granular, un nucléolo visible, único o múltiple y a veces se observan células gigantes multinucleadas, o inclusive células de aspecto plasmocitoide, con el núcleo rechazado a la periferia. También se observan inclusiones intranucleares citoplasmáticas. La gran variedad de formas que adoptan las células convierten al melanoma en una neoplasia camaleónica.³⁰

El común denominador en casi todos los melanomas, es decir, el pigmento, no es fiable en citología, pues la hemosiderina, fagocitada por los macrófagos, puede dar la falsa impresión de pigmento melánico. Son las características citológicas de malignidad las que deberían prevalecer a la hora de dar un diagnóstico.³¹

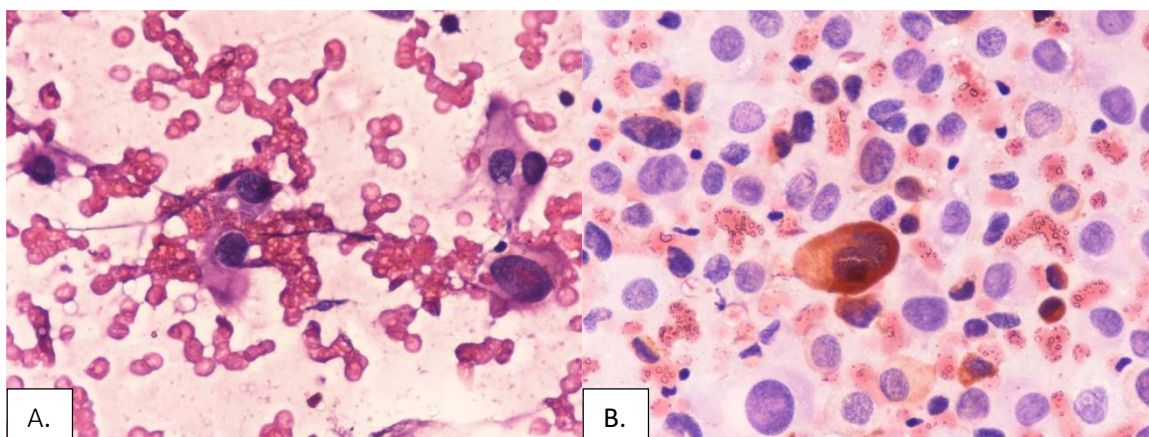


Figura 11. Citología del melanoma. A. Ganglio linfático donde aparecen células atípicas con las características antes mencionadas, sin embargo, no se aprecia pigmento melánico, como sí se aprecia en una célula binucleada en B. (Kiran, Alan et al. *FNA Diagnosis of Malignant Melanoma : Recurrent and Metastatic Disease*. 2012)

EL REPORTE PATOLÓGICO EN MELANOMA

Un reporte patológico completo es crítico para el manejo adecuado del paciente con melanoma. Históricamente, los reportes para el diagnóstico histopatológico de esta neoplasia han sido desarrollados de forma independiente por parte de distintas entidades, como: el Colegio Real de Patólogos de Australasia (RCPA), El Colegio Real de Patólogos (Reino Unido, RCPATH) y el Colegio Americano de Patólogos.⁹

Actualmente, los elementos a tomar en consideración son aquellos aspectos histopatológicos con un nivel de evidencia científica por lo menos de grado III (un nivel III está dado generalmente por estudios de tipo cohorte y casos de control. El I, nivel más alto, está dado por meta-análisis o estudios clínicos randomizados).⁹

El uso de protocolos tiene la ventaja de que provee un marco común para una estandarización en el reporte, además de que agiliza el tiempo de diagnóstico al brindar una lista, donde el patólogo va rellenando casillas según sea el caso. A pesar de esto, se promueve también a los patólogos a que utilicen el texto y la narrativa en los reportes de manera libre, con el fin de que brinden la mayor cantidad de información útil para los clínicos en el tratamiento de su paciente.²⁵

Para un adecuado estadiaje patológico es necesario incluir los siguientes elementos: el espesor de Breslow, la presencia o no de ulceración, lesiones microsatélite, los linfocitos intratumorales, el

neotropismo, la invasión linfovascular, especificar si hay o no metástasis a ganglios linfáticos regionales, la extensión extranodal, la enfermedad metastásica no nodal locorregional y las metástasis a distancia.²⁵

Otros factores que se recomienda mencionar por su importancia pronóstica, pero no con carácter obligatorio son: el nivel sérico de deshidrogenasa láctica, el rango mitótico del tumor primario, la regresión tumoral y el nivel de invasión de Clark.

La presencia y localización de depósitos tumorales en la biopsia de ganglio centinela (en caso de haberse realizado), posee relevancia pronóstica, pero no se toma en consideración en la octava edición de la AJCC para el estadiaje ganglionar.²⁵

La tabla 7 resumen estos aspectos, obtenidos de las recomendaciones dadas por el Colegio Americano de Patólogos. Conviene aclarar que el reporte difiere un poco cuando se trata ya sea de una biopsia incisional o una excisional. A su vez, el lector podrá encontrar en el anexo 1 una explicación más pormenorizada de los conceptos que se explican a continuación.¹⁸

Procedimiento	Excisión, re-excisión, ganglio centinela, linfadenectomía, etc.
Lateralidad del espécimen o sitio anatómico	Derecho, izquierdo, línea media, no especificado.
Nódulo satélite macroscópico	Presente, no identificado, no se puede determinar.
Tipo histológico	Melanoma de extensión superficial, acral lentiginoso, melanoma congénito, nevoide...
Melanoma in situ	Presencia o no de melanoma in situ y nivel de Clark correspondiente.
Espesor de Breslow máximo	mm
Ulceración	Presente o no (se puede incluir el grado de ulceración en mm, aunque no es obligatorio)

Estado de los márgenes	Periférico y profundo
Mitosis	Especificar mitosis /mm ²
Nivel de Clark	Del I al V
Invasión linfovascular	Presente o no
Neurotropismo	Identificado o no
Linfocitos intratumorales	Presentes o no. Si están presentes, se debe decir si son muchos o no.
Regresión tumoral	En caso de encontrarse regresión tumoral, puede especificarse si es mayor o menor al 75%, aunque no está estandarizado en el reporte de la AJCC.
Ganglios linfáticos regionales	Número de ganglios examinados, medida en mm del depósito metastásico más grande, extensión extranodal (sí o no).

Tabla 7. Desglose de elementos que componen el reporte sinóptico de melanoma cutáneo. (documents.cap.org.)

El resumen de los cambios más relevantes al efectuar un reporte patológico para melanoma se describe seguidamente. Dichos cambios fueron propuestos en la octava edición de la AJCC (American Joint Committee on Cancer) y se resaltan en la tabla 8.

Definición del tumor primario (T)	Todas las categorías pT se mantienen, no obstante, ahora los melanomas T1 se subcategorizan en: T1a (melanomas no ulcerados con grosor <0.8 mm, y T1b: melanomas con un grosor entre 0.8 y menos de 1mm independientemente de la ulceración, o bien, melanomas ulcerados con grosor <0.8 mm)
Mitosis	El número de mitosis se removió como un criterio de estadificación para los melanomas T1, sin embargo, continúa siendo un factor pronóstico importante.
Estadio T0 (se clarificó el concepto)	Se puede utilizar este término cuando no hay evidencia de tumor primario (p.e, en un paciente que se presenta a la consulta con metástasis axilar sin tumor primario diagnosticado). La estadificación puede realizarse con la sospecha clínica de melanoma cutáneo.
Medición del grosor tumoral	La medición del grosor tumoral ahora se redondea a 0.1mm y no a 0.01mm, por ser esta última medida poco práctica e imprecisa.

Tabla 8. Actualizaciones en melanoma. (AJCC Cancer Staging Manual. 8va edición. 2017)

Clasificación histopatológica del melanoma

La clasificación histopatológica del melanoma ha evolucionado o ha sido categorizada dentro de 6 grupos (extensión superficial, lentigo maligno, nodular, acral lentiginoso, desmoplásico y una categoría miscelánea, donde se encajaba a los melanomas con características histopatológicas raras o poco distintivas).⁴

Esta clasificación se basó en la tipificación propuesta por Clark et al y Mc Govern et al hace más de 40 años. La incidencia relativa de cada grupo varía geográficamente. Por ejemplo, hay una proporción más alta de melanomas lentigo maligno en población de piel blanca que vive en el trópico y subtropico (fototipos de Fitzpatrick II ó III), y de melanoma acral lentiginoso en japoneses y en población afroamericana. A continuación, se ilustra un esquema que correlaciona los diferentes subtipos histológicos con sus porcentajes (incidencia relativa).⁴

Tipo histológico	Incidencia relativa, expresada como %
Extensión superficial	30-60% (la incidencia puede variar según la fuente consultada)
Lentigo maligno	10-40%
Nodular	15-35%
Acral lentiginoso	5-10%
Desmoplásico	Raro
Misceláneo	Raro

Tabla 9. Estratificación de los 6 principales tipos de melanoma según su incidencia. (*Patterson, James. Weedon's Skin Pathology. 2016*)

Lentigo maligno

Es el prototipo del melanoma in situ, pues se confina a la epidermis (Clark I). Suelen ser lesiones grandes de bordes pobremente definidos ubicados en la cabeza y cuello de individuos de la tercera edad. Por la falta de estudios prospectivos, el riesgo de progresión tumoral a melanoma lentigo maligno se desconoce, no obstante, algunos estudios estadísticos y epidemiológicos sugieren que el riesgo es de 1.2% si se hace el diagnóstico a los 65 años, tomando en cuenta que esta lesión crece lentamente.³²

Realizar una excisión quirúrgica completa es difícil, pues el lentigo maligno es pobremente circunscrito y se encuentra por lo general en áreas cosméticamente sensibles. Se prefiere muestrear las zonas más pigmentadas o la periferia para valorar los márgenes. Usualmente, la lesión tumoral se extiende más allá de los márgenes clínicos aparentes. Un estudio realizado por Kunishige y colegas en 1120 pacientes con melanoma in situ tratados con cirugía de Mohs, determinó que un margen de 6 mm eliminó el 86% de los melanomas, mientras que 9 mm eliminaban más del 99%.³²

A la examinación histológica, el lentigo maligno se caracteriza por: un crecimiento continuo de melanocitos atípicos en la capa basal, individualmente o en nidos, con extensión a los anexos. Las células suelen mostrar retracción citoplasmática. También se observa hiperpigmentación de queratinocitos vecinos, atrofia epidérmica y elastosis solar en la dermis.³³

Muchos de los hallazgos histopatológicos se superponen con los encontrados en la hiperplasia melanocítica de pieles crónicamente expuestas al sol y a la queratosis actínica, por lo que se recomienda realizar mapeos comparativos en un mismo paciente de zonas de apariencia normal.²⁷

Un anticuerpo de inmunohistoquímica recientemente descubierto contra la adenilil ciclasa, el R21, se detecta en el 90% de lentigo maligno, no así en las lesiones névicas, y podría utilizarse en conjunto con el MITF, MART-1 (Melan-A) y SOX10.²⁷

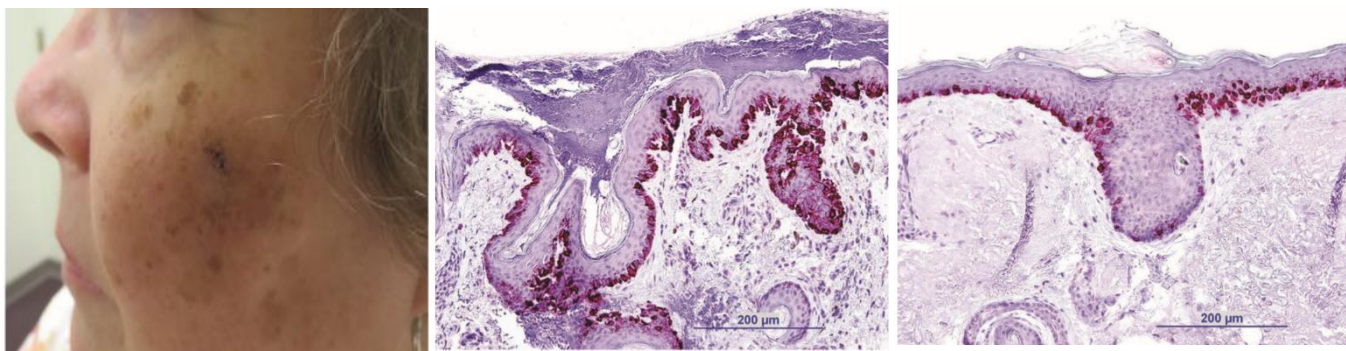


Figura 12. Lentigo maligno. Izquierda. Parche pigmentado en mejilla izquierda, compuesto por máculas de distintos tamaños, varias tonalidades y bordes mal definidos. Centro. Aumento en el número de melanocitos atípicos y confluentes en la unión dermoepidérmica, con afectación de los anexos. Derecha. Hiperplasia melanocítica en la piel de la mejilla contralateral. Se identifica un aumento en el número de melanocitos, pero estos no tienen atipia. (Kasprzak y Yaohui. *Diagnosis and Management of Lentigo Maligna: a Review*. 2015)

Melanoma de extensión superficial

Es el tipo histológico más común, constituyendo del 50 al 75% de la incidencia total de tumores melanocíticos malignos, y es el que se discutirá con un grado mayor de profundidad. El sitio de aparición más frecuente es la piel del tronco y extremidades.¹⁷

Contiene células con gran pleomorfismo nuclear, depósito de pigmento melánico, apoptosis individual de células tumorales y presencia de paraqueratosis con pigmento.¹⁷

Se clasifica según la fase de crecimiento radial (concepto mencionado previamente en este trabajo). Las áreas no invasoras son: pobremente circunscritas, con acantosis irregular, proliferación de melanocitos en nidos o lentiginosa y con migración transepidérmica.¹⁷

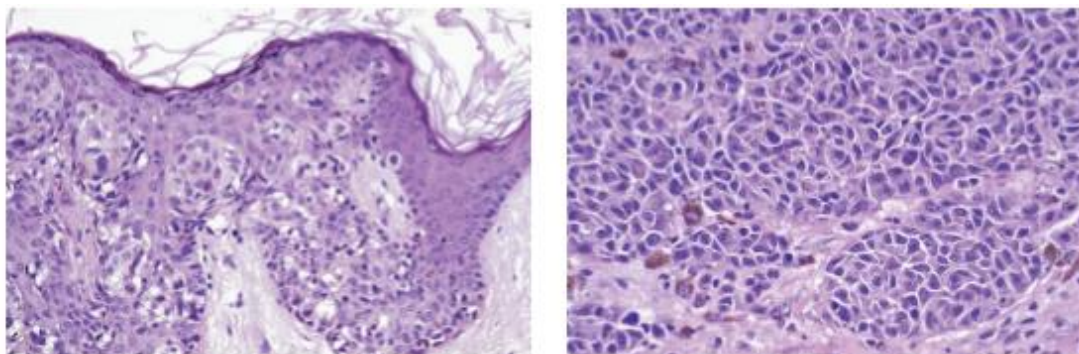


Figura 13. Histopatología del melanoma de extensión superficial. A la izquierda, se observa nidos de melanocitos atípicos y se identifica a las células neoplásicas ascendiendo hacia la epidermis superficial. A la derecha, se observa el borde invasor más profundo. Las células muestran una atipia notable. (Wolter J. Mooi, Krauz, Thomas. *Pathology of Melanocytic Disorders*. 2ed. 2007)

Melanoma lentigo maligno

Por definición, el melanoma lentigo maligno debe de tener por lo menos una célula infiltrando la dermis papilar, pues de lo contrario, estamos frente a un lentigo maligno o mancha melanótica de Hutchinson (melanoma in situ). Esta lesión ya fue discutida con anterioridad. El riesgo de progresión de un lentigo maligno a un melanoma lentigo maligno es muy bajo (alrededor del 5%).⁴

Melanoma nodular

Muchos autores consideran a este tumor como la forma más agresiva de melanoma, pues ya tiene una fase vertical bien establecida para el momento del diagnóstico y no hay antecedente de fase radial. Adquieren formas nodulares, polipoides y en ocasiones hasta pedunculadas. El color de la lesión varía de café a negro, a veces siendo inclusive amelanótica. Debido a que son nódulos por lo general bien circunscritos, no cumplen con el ABCDE de los melanomas, por lo que el dermatólogo debe de ser acucioso en su sospecha clínica.⁴

Estos melanomas pueden tener ulceración y se han reportado tumores de hasta 12 cm. Constituyen hasta el 34% de los denominados “melanomas gruesos” (aquellos con un grosor mayor a 2mm).⁴

Un reporte de caso que ilustra este tipo de lesión se resume seguidamente. Se trata de una paciente de 34 años, la cual fue diagnosticada con un melanoma nodular amelanótico en la semana 19 de su segunda gesta, muriendo la misma de su condición 5 meses después de dar a luz. El tumor se ubicaba en el glúteo derecho, medía 0.5 cm y tenía un espesor de 2.5 mm, con metástasis a ganglios linfáticos inguinales derechos. A la semana 29 de gestación, se interrumpió el embarazo, dando a luz la paciente a un producto sano y se inició la quimioterapia inmediatamente. A pesar de esto, el resultado fue ominoso, tomando en cuenta que el embarazo contraindica el uso concomitante de la quimioterapia con inmunoterapia.³⁴

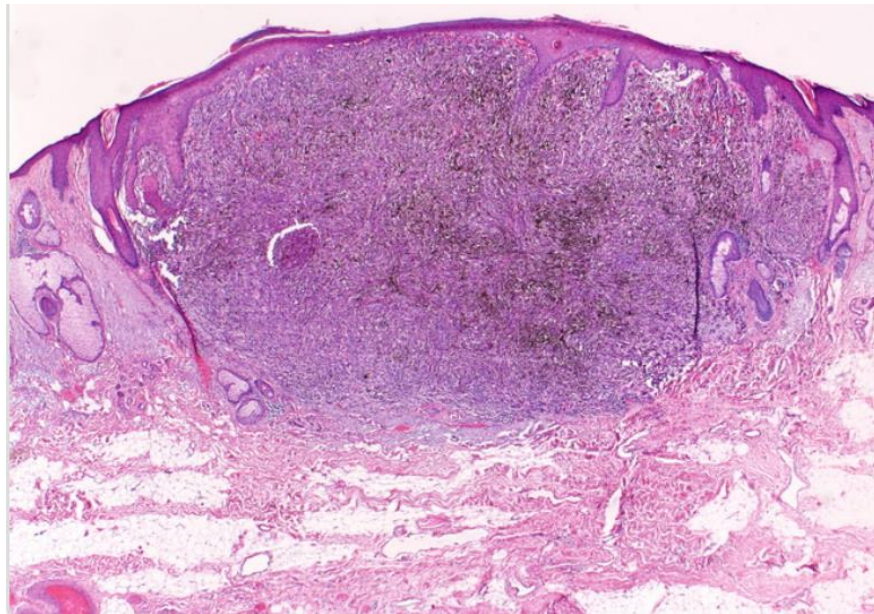


Figura 14. Melanoma nodular, histopatología. Los melanomas nodulares suelen ser bien circunscritos, demostrando una fase de crecimiento vertical bien definida que no es precedida por una fase de crecimiento radial. En esta imagen, se observa que no hay células tumorales más allá de las crestas epidérmicas que delimitan la lesión. (www.webpathology.com/images/case_704)

Melanoma acral lentiginoso

Pertenece al grupo de melanomas cutáneos menos comunes. Se nombró tomando en cuenta su predilección por áreas acrales del cuerpo (palmar, plantar, lecho subungueal) y su predominante patrón de crecimiento lentiginoso.²

Si bien es un tipo raro de melanoma, tiene una localización anatómica bien definida en el pie. También es el tipo de melanoma que más se observa en asiáticos, población afroamericana y es relativamente infrecuente en caucásicos, con un pico de incidencia a los 60 años en mujeres y 70 años en hombres.³⁵

La lesión elemental es una placa o nódulo café, el cual puede estar ulcerado. Histológicamente, el tumor se caracteriza por su fase de crecimiento radial lentiginosa, con formación de nidos de melanocitos grandes y atípicos (ver figura 15). Puede haber diseminación pagetoide, pero no es tan frecuente como en el melanoma de extensión superficial. Los melanocitos pueden estar rodeados de un halo claro, dando la apariencia de un espacio lacunar, o tener procesos dendríticos.⁴

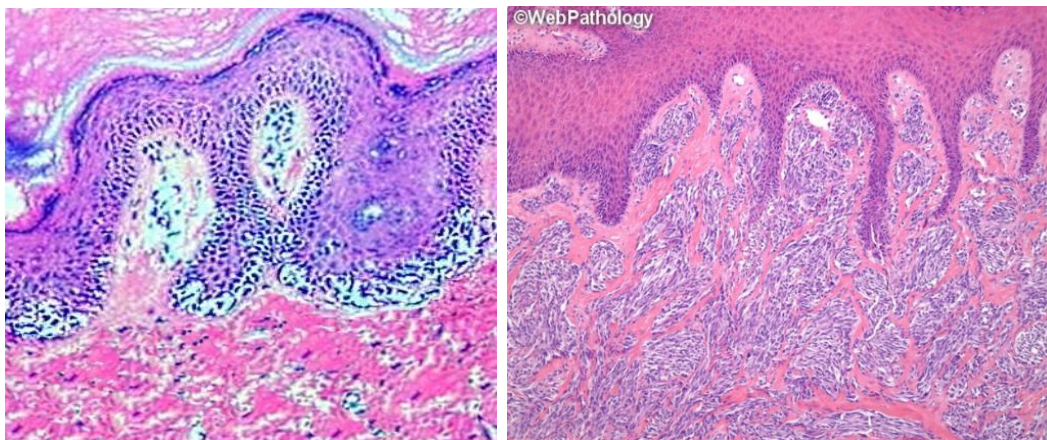


Figura 15. Melanoma acral lentiginoso. En la imagen de la izquierda se aprecia las características previamente descritas. A la derecha, se observa el mismo tumor en otro paciente. Durante la fase de crecimiento radial, la epidermis es hiperplásica, con acantosis marcada y elongación de las crestas epidérmicas. En este caso, el componente invasor adquiere una morfología fusiforme. (<http://www.histopathology-india.net/ALM.htm>, www.webpathology.com)

El componente invasor dérmico puede presentarse en la forma de melanocitos de apariencia fusiforme, epitelioides o nevoide. Cuando el grado de desmoplasia o el porcentaje de regresión tumoral son marcados, se dificulta obtener el grosor de Breslow.³⁶

Melanoma desmoplásico

El melanoma desmoplásico tiene una distribución anatómica usual en cabeza y cuello y adquiere la forma de una tumefacción firme. Son tumores que tienden a recurrir fácilmente, con un estadio localmente avanzado al momento del diagnóstico. En una serie de casos, la supervivencia a 5 años era del 68%. Un aspecto importante a tomar en cuenta en este tipo de tumores es el neurotropismo, el cual, cuando está presente, disminuye considerablemente la supervivencia del paciente.³⁷

Microscópicamente, se compone de grupos de células fusiformes rodeadas de bandas de colágeno maduro. Estas características son más patentes en las recurrencias, mientras que las metástasis viscerales y linfáticas asemejan más un melanoma convencional. Las células del melanoma desmoplásico se parecen a fibroblastos, pero entremezcladas, hay células dispersas con núcleos hiper cromáticos y bizarros, así como células multinucleadas. Se pueden ver pequeños focos de

transformación neural y neurotropismo. El primer término se refiere a un fenómeno que se da cuando las células tumorales adquieren un aspecto citológico similar al de las células neurales.⁴

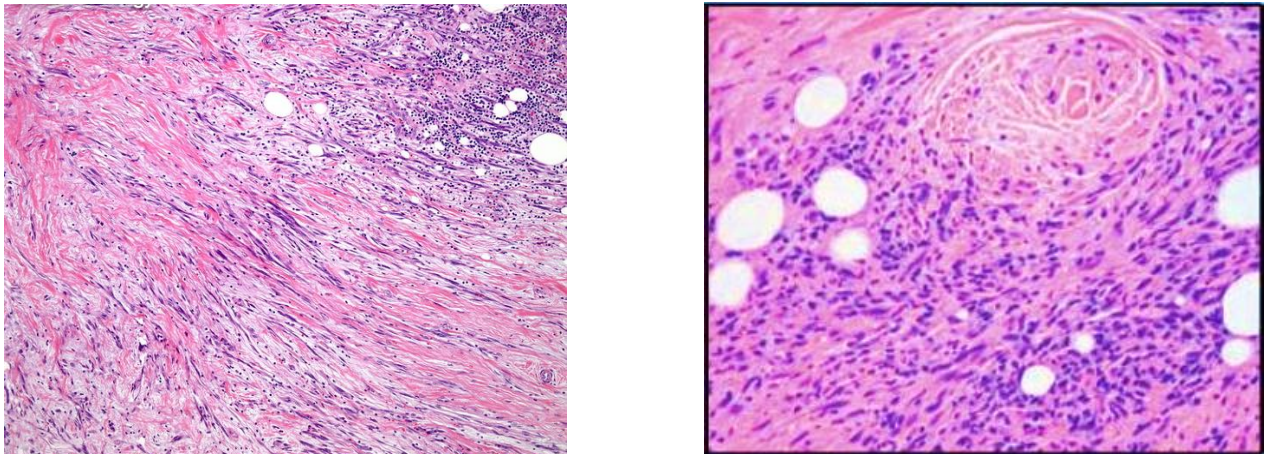


Figura 16. Melanoma desmoplásico. A la izquierda, se ven grupos de células fusiformes en la dermis, mezcladas con colágeno maduro y vasos sanguíneos. También se identifican algunos agregados linfoides. A la derecha, se observa un melanoma desmoplásico con neurotropismo. (webpathology.com, medscape.com)

Misceláneos (variantes histopatológicas raras)

La siguiente es una tabla extraída del libro Weedon's Skin Pathology, la cual resume casi todas las variantes histológicas raras descritas en melanoma.⁴

Tipo acantolítico	Melanoma con rosetas
Angiomatoide	Melanoma con sebocitos
Angiotrópico	Melanoma mixoide
Melanocitoma pigmentado epitelioides	Melanoma neuroendocrino
Melanoma de células balonizadas	Melanoma osteogénico
Melanoma buloso	Melanoma plasmocitoide
Melanoma condroide	Melanoma pseudoglandular
Melanoma de partes blandas (células claras)	Melanoma pseudolipoblástico
Melanoma adenoide quístico	Melanoma rabdoide
Melanoma dérmico	Melanoma sarcomatoide
Melanoma folicular	Melanoma schwannoide
Melanoma ganglioneuroblástico	Melanoma de células en anillo de sello
Melanoma lentiginoso	Melanoma de células pequeñas
Melanocarcinoma	Melanoma de diámetro pequeño
Melanoma que simula carcinoma de células de Merkel	Melanoma Spitzoide
Melanoma similar al tumor maligno de la vaina nerviosa periférica	Melanoma siringotrópico
Melanoma de células monstruosas	Melanoma parecido a vitiligo
Melanoma con cuerpos de psammoma	

Tabla 10. Variantes histológicas raras de melanoma. (*Patterson, James. Weedon's Skin Pathology. 2016*)

Seguidamente, se discutirá brevemente acerca de dos de estos melanomas que caen dentro de la categoría de misceláneos: el de células balonizadas y el Spitzoide.

Melanoma de células balonizadas

La variante de células balonizadas comprende la más rara dentro del melanoma. Se compone de células grandes, poligonales, con citoplasma abundante y espumoso (ver figura 17). Estas características pueden verse en un nevus de células balonizadas, empero, la atipia, el pleomorfismo, las mitosis y la falta de maduración de los melanocitos presentes en la dermis ayuda a distinguirlo de un nevus.³⁸

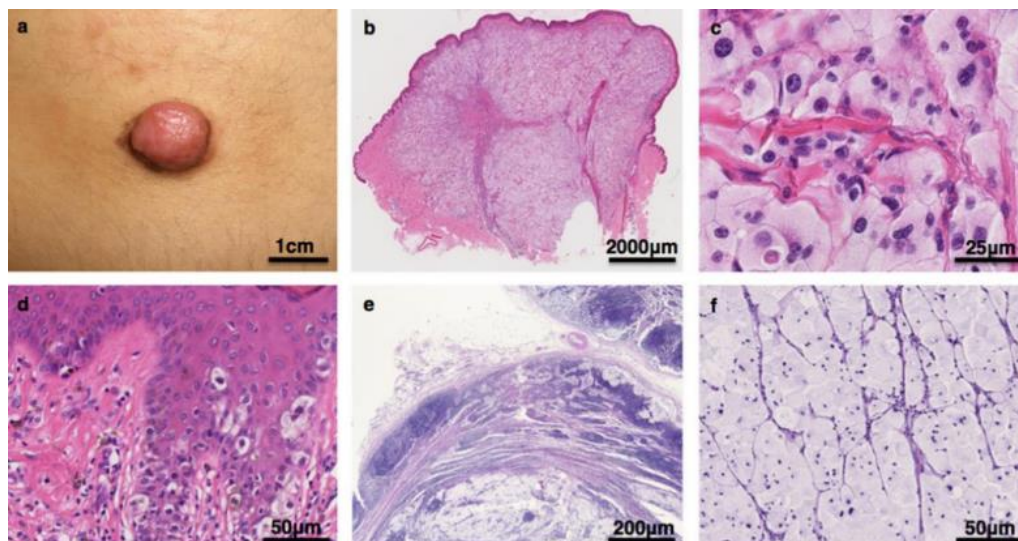


Figura 17. Melanoma de células balonizadas. A. Nódulo eritematoso en la región lumbar izquierda de una mujer de 32 años. B. Bajo aumento de la lesión, donde se observan abundantes células tumorales epitelioides de citoplasma claro. C. Alto aumento, donde se observa el componente de células balonizadas. Nótese la aparente atipia y pleomorfismo. D. El componente intraepidérmico compuesto de nidos y melanocitos atípicos. E. Metástasis ganglionar. F. Presencia de células tumorales en el parénquima del ganglio linfático. (Hattori et al. *Balloon Cell Malignant Melanoma in a Young Female: A Case Report and Review of the Literature*. 2016. Case Report in Oncology.)

En algunos melanomas se encuentran cambios focales de balonización de las células tumorales, sin embargo, esto no representa un diagnóstico de melanoma de células balonizadas. El porcentaje de células malignas de citoplasma espumoso deben comprender más del 50% para hablar de melanoma de células balonizadas.³⁸

En un principio se pensó que este cambio celular representaba un defecto en la formación de melanosomas, pero la microscopía electrónica ha confirmado que esta alteración responde a una vacuolización progresiva de dichas organelas (melanosomas).³⁹

Diagnóstico diferencial del melanoma de células balonizadas

Cabe aclarar que en el diagnóstico diferencial de esta neoplasia entran gran cantidad de neoplasias con células claras, pero más concretamente el nevus de células balonizadas y el sarcoma de células claras.

El sarcoma de células claras, un tumor que también deriva de melanosomas pero que se observa en tejidos blandos, posee una celularidad variable, y puede formar estructuras microacinares que simulen un adenocarcinoma. También presenta positividad de marcadores melanocíticos (S100,

HMB45, MIFT en un 75% de los casos, y Melan A en un 43% de los casos).

En las figuras 18, 19 y 20 se compilan las principales características del sarcoma de células claras.

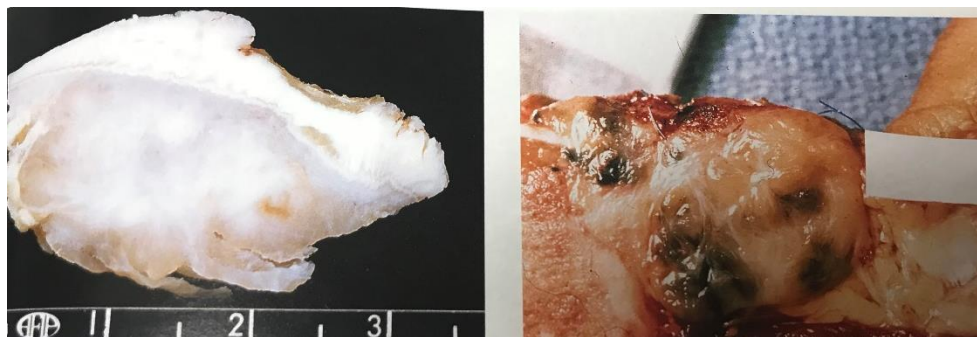


Figura 18. Sarcoma de células claras, aspecto macroscópico. A la izquierda, se observa un tumor que infiltra de manera difusa un tendón. Arriba en blanco se aprecia el tendón y abajo el tejido muscular esquelético. A la derecha, se ve un tumor que posee áreas con pigmento. (Goldblum, John R. *Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors*. Edición 6.2014)

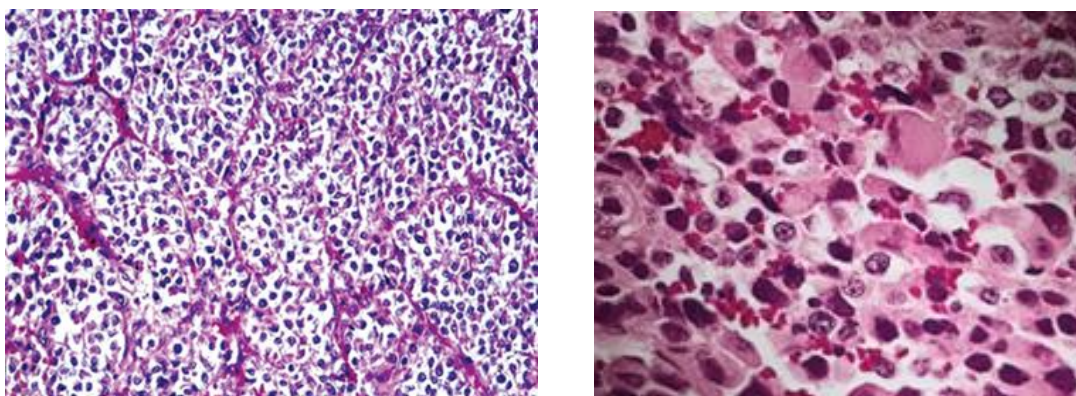


Figura 19. Sarcoma de células claras, aspecto microscópico. A la izquierda, varios septos de tejido fibroso separan al tumor en nidos bien definidos de células tumorales con citoplasma claro. A la derecha, un sarcoma de células claras metastásico, con marcado pleomorfismo. Los depósitos tumorales metastásicos de este tipo asemejan un carcinoma o un melanoma. (Goldblum, John R. *Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors*. Edición 6.2014)

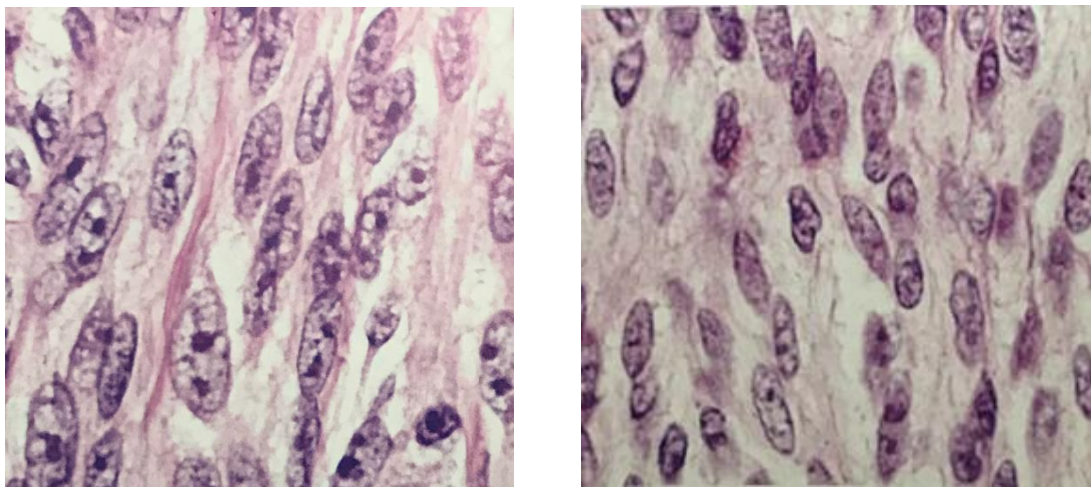


Figura 20. Comparación entre las características citológicas del sarcoma de células claras (izquierda) y un nevus azul (derecha). El sarcoma de células claras tiene núcleos prominentes, con cromatina vesicular y con un nucléolo visible. Las células del nevus azul son más pequeñas, la cromatina es menos vesiculosa y el nucléolo es inconspicuo. (Goldblum, John R. *Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors*. Edición 6.2014)

Melanoma Spitzoide

En 1948, Sophie Spitz, una patóloga del Memorial Hospital en Nueva York, describió un tipo de “melanoma” de la infancia por primera vez.⁴¹

La Dra. Spitz notó que las características citológicas de estas lesiones en niños eran idénticas a las de melanoma en adultos. En su momento, ella pensó que se trataba de melanomas juveniles. Sin embargo, se notó que el curso clínico de estos pacientes era indolente. Después de la muerte de esta ilustre patóloga, se requirieron 10 años de observación y correlación clínico patológica para darse cuenta de que este tumor, compuesto por melanocitos epitelioides y fusiformes, se trataba de un nevus, y se decidió nombrar a la lesión de acuerdo a su predecesora.⁴²

Curiosamente, no todos los pacientes de la serie de 13 casos que reportó la Dra. Spitz originalmente presentaban neoplasias benignas, pues uno de ellos murió de enfermedad metastásica, con lo que se confirmó que ese caso en particular se trataba de un melanoma. Esto sólo refuerza el hecho de lo difícil que resulta a veces para el patólogo diferenciar entre un nevus de Spitz y un melanoma Spitzoide.⁴³

Los principales criterios (aunque no todos), para diagnosticar un melanoma Spitzoide son los siguientes: asimetría, patrón de crecimiento en nidos o sólido, crecimiento nodular expansivo,

falta de maduración de los melanocitos, ulceración de la epidermis, presencia de figuras mitóticas numerosas, atípicas y localizadas profundo en la dermis, extensión de la lesión en el tejido subcutáneo y un tamaño de la lesión mayor a 1 cm.⁴¹

Por último, cuando no hay una unificación de criterios para llamar a la neoplasia nevus de Spitz ni melanoma Spitzoide, es decir, cuando se trata de un intermedio, se puede recurrir al término de neoplasia Spitzoide atípica. En estos casos la variabilidad interobservador es grande y el diagnóstico debe hacerse preferiblemente en un centro especializado que cuente con experiencia en la materia.⁴²

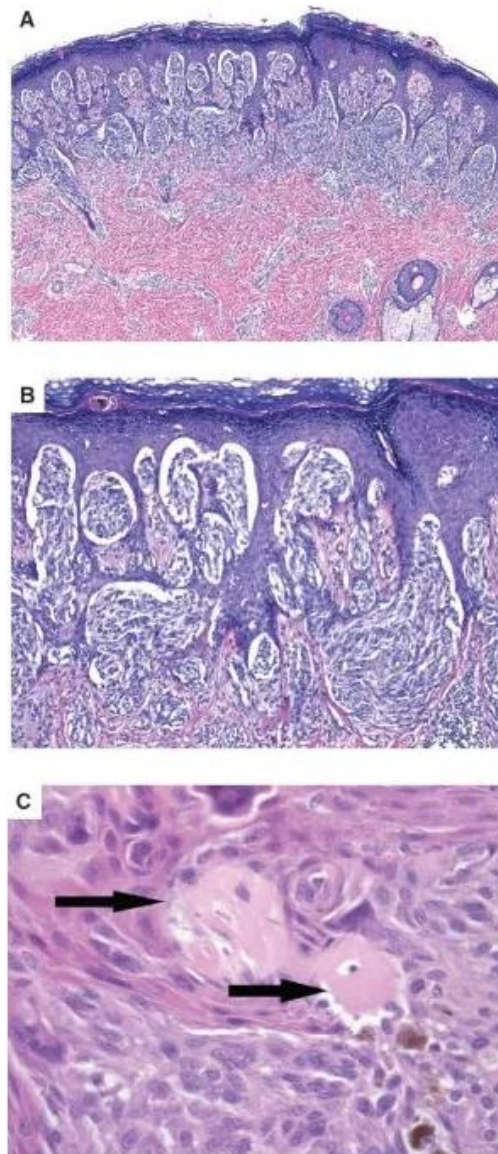


Figura 21. Nevus de Spitz. A. A bajo poder, este nevus exhibe una distribución simétrica de los melanocitos, los cuales forman nidos en la epidermis y dermis superficial. B. Los nidos de melanocitos varían ligeramente en tamaño y forma. Muchos se orientan verticalmente. También se observan hendiduras entre los nidos y la epidermis, la cual es hiperplásica, con hipergranulosis e hiperqueratosis concomitantes. C. Las flechas señalan dos glóbulos rosado pálido, compuestos por material de membrana basal. Éstos se conocen como los cuerpos de Kamino. (<https://musculoskeletalkey.com/spitz-nevus-spitzoid-melanoma-and-atypical-spitzoid-neoplasm/2019>)

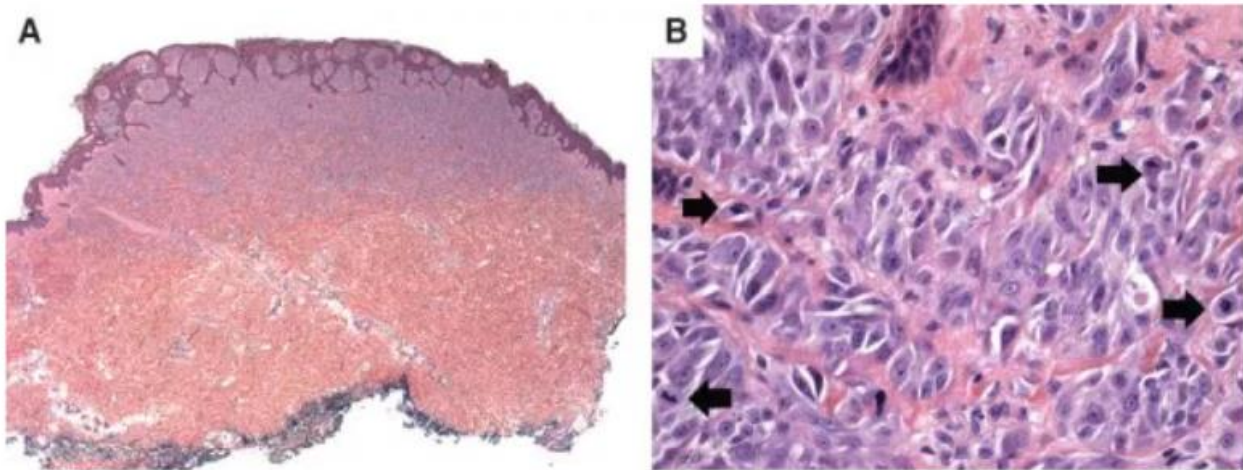


Figura 22. A. Melanoma Spitzoide ubicado en el muslo posterior de una paciente femenina de 50 años. La lesión creció paulatinamente en el curso de un año y medio. A. A bajo poder, se observa una proliferación asimétrica de melanocitos, principalmente en la dermis. La epidermis es marcadamente hiperplásica y muestra hiperqueratosis. B. Las flechas resaltan las mitosis en este tumor. (<https://musculoskeletalkey.com/spitz-nevus-spitzoid-melanoma-and-atypical-spitzoid-neoplasm/2019>)

MELANOMAS EN SITIOS ANATÓMICOS ESPECIALES

Melanoma de mucosas

Es un melanoma raro, que abarca solamente el 0.03% de los nuevos diagnósticos de cáncer.⁴⁴

De los 87.110 casos de melanoma diagnosticados en Estados Unidos en 2017, menos del 2% pertenece a melanoma de mucosas. La vasta mayoría se origina del tejido mucoso de: cabeza y cuello (31-55%), región anorrectal (17-24%) y vulvovaginal (18-40%).⁴⁴

La edad de diagnóstico de este tipo de melanoma es mayor a la de melanoma cutáneo (70 años vs 55 años). Además, si bien el melanoma cutáneo es más común en hombres que mujeres, la incidencia de melanoma de mucosas es 87% más alta en mujeres. La sobrevida del melanoma de mucosas es muy baja, con porcentajes que oscilan entre 17- y 35%. No obstante, el pronóstico varía según sitio anatómico, siendo los pacientes que tienen tumores de cavidad sinusal los que poseen una mejor sobrevida.⁴⁵

Específicamente, en lo que concierne a los melanomas de cabeza y cuello, se observa una melanosis pre-existente en un tercio de los casos.⁵²

En cuanto a los melanomas de tracto genitourinario, la incidencia es 10 veces más alta en mujeres (2 casos por millón de mujeres al año en comparación con 0.2 por millón en hombres).⁴⁵

La aparición de melanoma de mucosas en el tracto genitourinario femenino sigue la siguiente distribución anatómica.

Sitio anatómico	Porcentaje
Vulva	77%
Vagina	5-20%
Cérvix	1-3%

Tabla 11. Melanoma de mucosa genitourinaria: distribución. La sobrevida es mayor para el melanoma vulvar, en comparación con el melanoma vaginal. (A. Lerner Benjamin et al. *Mucosal Melanoma: New Insights and Therapeutic Options for a Unique and Aggressive Disease*. Vol 31. Nov 2017.)

Al considerar la fisiopatogenia de este tipo especial de melanoma, conviene referirse al sistema inmune de mucosas, el cual puede dividirse según el sitio en inductor y efector.

Los sitios inductores incluyen regiones como: el MALT (tejido linfoide asociado a mucosas), así como los ganglios linfáticos locales, donde los antígenos de superficie activan a los linfocitos T y B, de ahí el nombre de inductor.⁴⁵

Los sitios efectores, más bien se encuentran en áreas como: la lámina propia, el estroma glandular exocrino y el epitelio de superficie, donde los linfocitos maduros realizan sus funciones, tales como producir citoquinas y secretar anticuerpos.⁴⁵

Cuando se toma en consideración que la mucosa oral no contiene MALT, sino que las respuestas inmunes se inducen en los ganglios linfáticos adyacentes, se tiene por consiguiente que hay una mayor expresión de la inmunidad innata, representada por una mayor expresión de receptores "Toll like", específicamente los TLR tipo 2 y 4. Este fenómeno ocasiona que las células de Langerhans presentes en la mucosa oral produzcan por medio de regulación a la alta, moléculas co-inhibitorias como: B7-H1 y B7H3, mientras que la expresión de moléculas co-estimuladoras (CD86, B7-2) está disminuida. La traducción final de este proceso fisiológico es una mayor producción de interleucina 10, factor de crecimiento transformante beta y en última instancia, una supresión de la respuesta inmune, lo cual podría explicar o avalar el hecho de que el melanoma de mucosas tenga un comportamiento clínico tan agresivo desde un inicio⁴⁴.

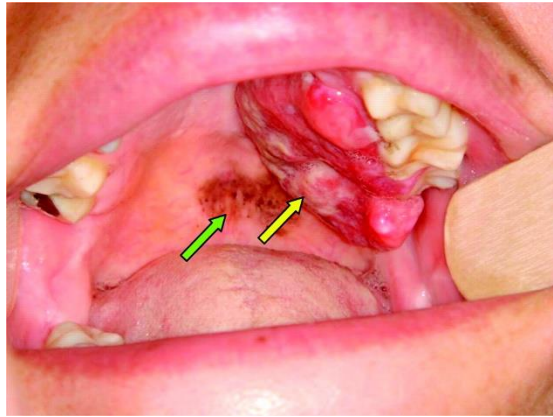


Figura 23. Melanoma amelanótico de mucosa oral. La flecha de la izquierda indica un área adyacente de melanosis, mientras que la derecha resalta el tumor. (Seetharamu, N. Mucosal Melanoma: A Case-Based Review of the Literature. *The Oncologist*. June 22, 2010.)

Melanoma de conjuntiva

Es el segundo tumor conjuntival más frecuente después del carcinoma escamoso. Pueden originarse ya sea de un nevus conjuntival, una melanosis adquirida o de novo. Microscópicamente, la morfología es fusiforme o epiteliode, y el citoplasma puede variar desde claro hasta eosinofílico abundante con nucléolos rojizos. Las células infiltran el tejido conectivo y adelgazan la mucosa de recubrimiento. La presencia de linfocitos en la periferia y la base tumoral es común.⁴⁶

Los tumores localizados en la conjuntiva bulbar son de mejor pronóstico. Algunos factores pronósticos adversos son: ubicación en el fórnix, carúncula o conjuntiva palpebral, grosor tumoral mayor a 4 mm, morfología celular epiteliode o más de 5 mitosis en 10 campos de alto poder. Las metástasis más comunes involucran los ganglios linfáticos parotídeos o submandibulares y suelen darse en tumores que miden más de 1.5 cm. El diagnóstico diferencial incluye el carcinoma de células fusiforme o la infiltración de un melanoma extraocular.⁴⁶

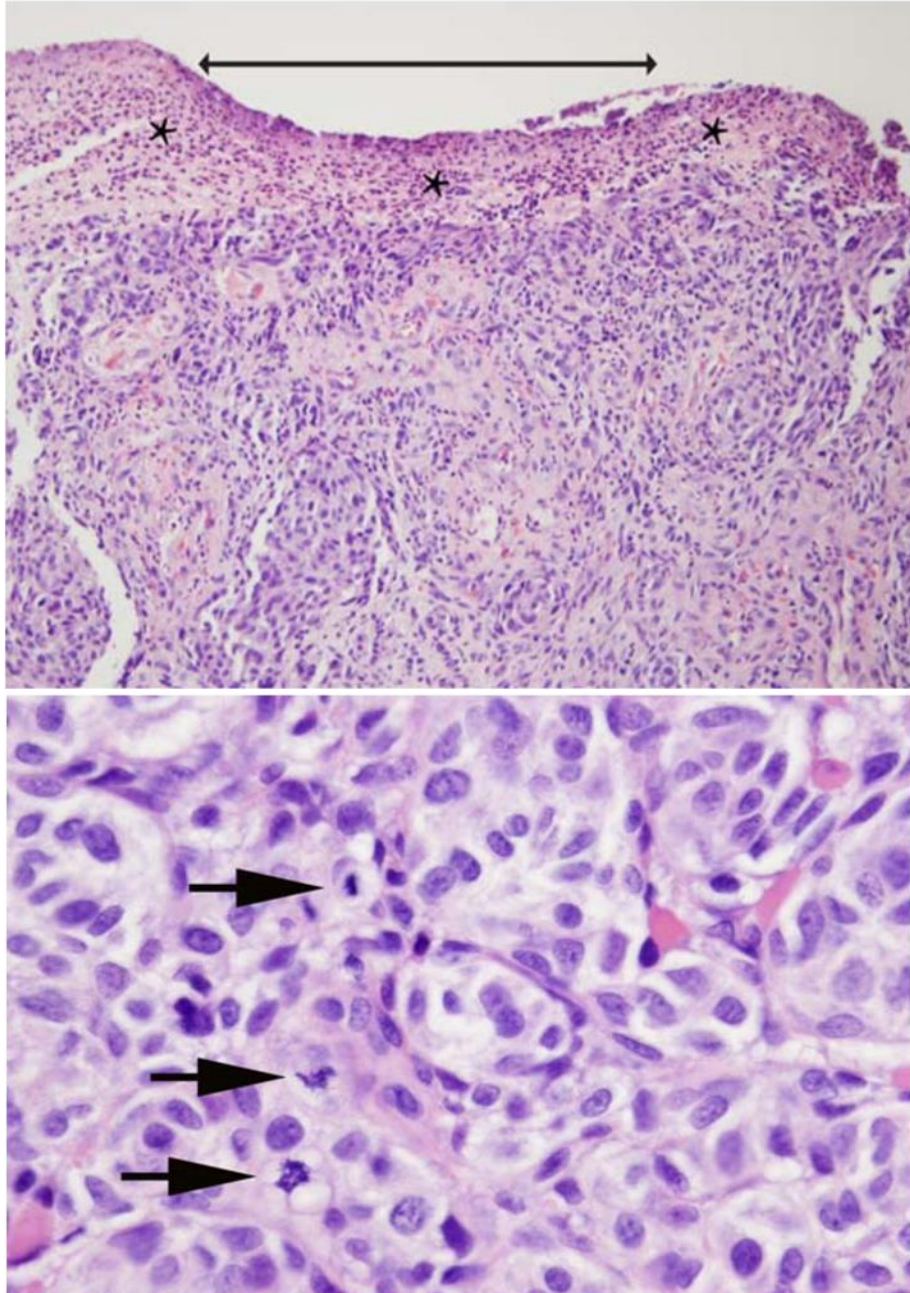


Figura 24. Melanoma conjuntival. Arriba. El tumor ulcera la mucosa de recubrimiento. Dicho fenómeno se acompaña de una banda de fibrina y de una reacción inflamatoria. Abajo. La morfología celular es epitelioide. Las flechas resaltan la presencia de figuras mitóticas. (Bita et al. Histologic Features of Conjunctival Melanoma Predictive of Metastasis and Death (an American Ophthalmological Thesis. 2012.)

Melanoma uveal

El melanoma uveal es un subtipo especial de tumor, pues deriva de células pigmentadas que se encuentran en el ojo humano. Representa el 0.1% de todas las muertes por cáncer, aunque es el tumor intraocular maligno más común en adultos, con una incidencia anual de 6 casos por millón de habitantes en poblaciones caucásicas principalmente. Su incidencia ha permanecido estable.⁴⁷

La tasa de supervivencia es relativamente baja (60% de supervivencia a los 5 años). La razón subyacente que explica esta estadística es la alta tasa de metástasis hematológica, con metástasis temprana particularmente al hígado.⁴⁸

Histológicamente, el melanoma uveal deriva del cuerpo ciliar, el iris o de la coroides (ver figura 25). El primero, constituye la porción más anterior de la túnica vascular (recordemos que el globo ocular tiene tres tipos de túnicas que lo recubren: una fibrosa o externa llamada esclera, una vascular, también denominada úvea, y una nerviosa llamada retina. Por otra parte, la coroides es la porción de la túnica vascular que cubre la retina. Su color es pardo oscuro, de 0.25 mm de grosor en la parte posterior y de 0.1 mm en la parte anterior y está ubicada entre la esclera y la retina.⁴⁸

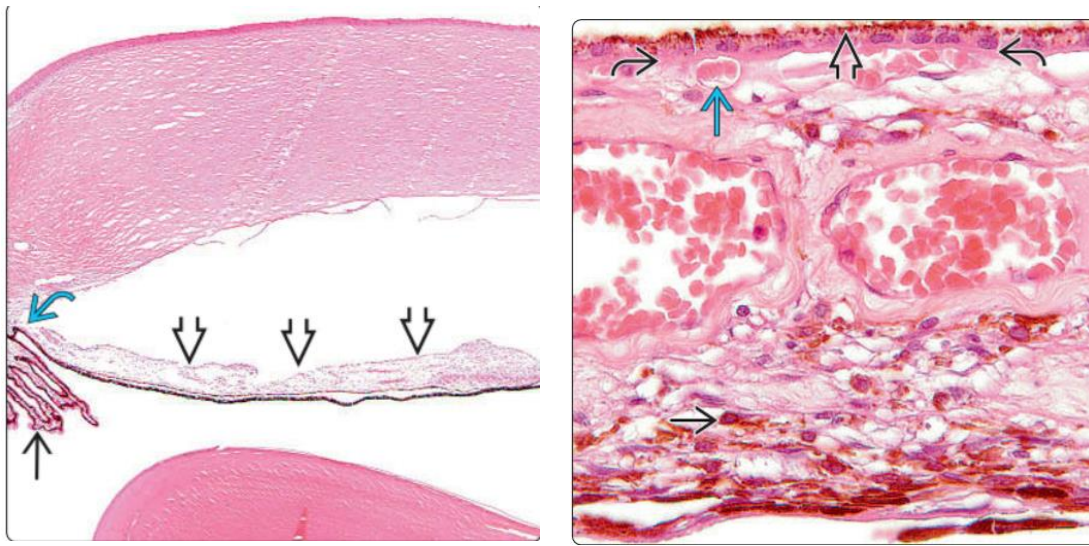


Figura 25. Imagen de la izquierda: se muestra un corte microscópico del iris, el cual está demarcado por las flechas abiertas. La flecha celeste señala el origen del iris. El iris posee fibras musculares que se contraen y se dilatan para regular la cantidad de luz que entra al lente. Imagen de la derecha: la coroides se origina en sentido posterior al cuerpo ciliar y termina a nivel del nervio óptico, ubicándose entre la retina y la esclera. La coroides se compone de células pigmentadas, vasos sanguíneos y fibroblastos. La membrana de Bruch (flechas curvas), es la membrana sobre la cual se apoyan los capilares (flecha celeste) y el epitelio pigmentario de la retina. (Quick, Mc Kenney et al. *Diagnostic Pathology: Normal Histology*. Lindberg. Second Edition.2018)

La siguiente figura ejemplifica un melanoma uveal en un corte macroscópico.



Figura 26. Melanoma derivado de la coroides, con forma fungiforme. El tumor ha roto la membrana de Bruch (capa más interna de la coroides). El paciente murió de metástasis hepáticas 3 años posterior a la enucleación. (Teemu Mäkitie. *Prognostic Indicators in Choroidal and Ciliary Body Melanoma*. Academic Dissertation. 2001)

El ojo humano es un órgano inmunoprivilegiado, ya que posee mecanismos que lo ayudan a defenderse ante un proceso inflamatorio descontrolado. Lastimosamente, son estos mismos mecanismos los que explican la pobre respuesta de este órgano vital ante las células tumorales en el melanoma.⁴⁹

Diferentes factores juegan un rol activo al fungir como proteínas inmunosupresoras presentes en el humor acuoso, llámense: factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), péptido intestinal vasoactivo, hormona estimulante de melanocitos, proteínas reguladoras complementarias, etc. Además, existe una barrera ojo-sangre, similar a la barrera hematoencefálica, la cual restringe el paso de células inflamatorias al ojo.⁵⁰

Asimismo, se puede citar el hecho de que las células que componen a dicho órgano reducen la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad, con lo cual se disminuye la lisis mediada por linfocitos T citotóxicos y, por último, las células oculares expresan PD-L1, el cual también inhibe la respuesta de linfocitos T.⁵⁰

Estos procesos se engloban dentro de un término conocido como “cancer associated immune deviation” (CAID), el cual no se traducirá al español en este trabajo por aspectos meramente de conveniencia.⁵⁰

Con el objetivo de obtener un tratamiento máximo para esta entidad tan rara pero potencialmente mortal, se requiere un entendimiento a cabalidad de la interacción entre el sistema inmune y las células cancerígenas.⁴⁹

De uso relativamente reciente, el Ipilimumab, un anti CTLA-4 (anticuerpo contra la proteína 4 asociada a linfocitos T citotóxicos), sirve en el tratamiento de melanoma metastásico. Esto debido a un incremento leve pero significativo en la supervivencia del paciente de 16 a 18 meses. Desafortunadamente, los ensayos clínicos son muy pocos, y se ha dejado por fuera de dichos estudios a pacientes con melanoma uveal metastásico. La poquísima experiencia en lo que concierne a melanoma uveal metastásico se restringe a estudios fase II (ensayo que incluye a una población de 300 personas con una misma condición médica, y en donde se prueba la utilidad o seguridad de un fármaco determinado) y a análisis retrospectivos. Recientemente, se aprobaron dos tratamientos (anticuerpos) contra el factor de muerte programada de linfocitos T o su ligando (PD-1 y PDL-1). Estos fármacos han demostrado una actividad excelente contra el melanoma metastásico y se han convertido en tratamiento de primera línea. Sin embargo, su uso para melanoma uveal todavía se mantiene en estudio.⁴⁹

En la siguiente figura, se explica el complejo e intrincado fenómeno inmunológico que ocurre en el melanoma uveal.

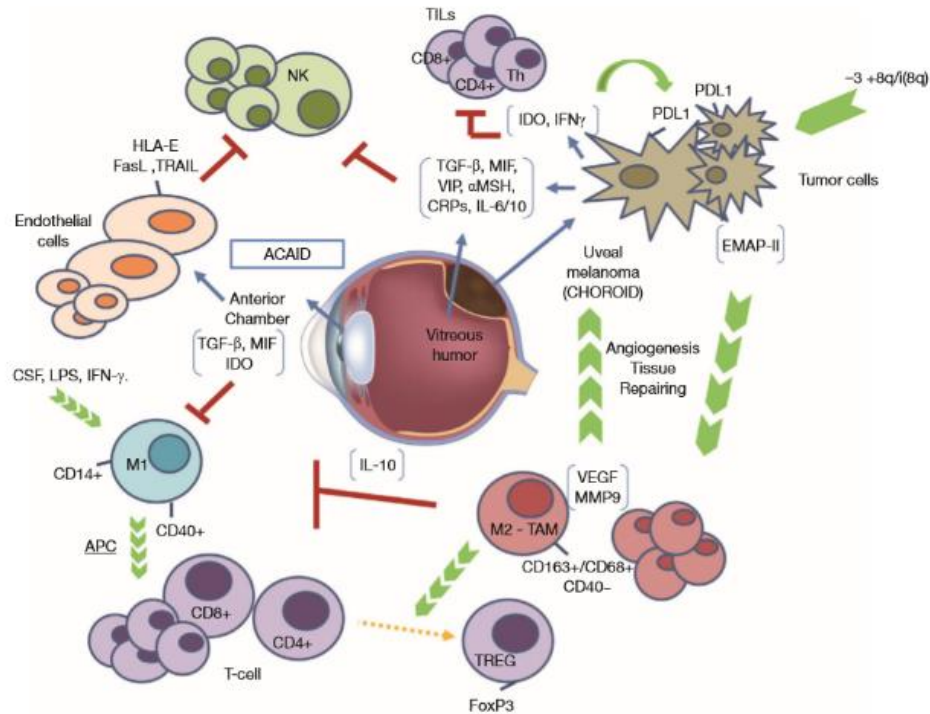


Figura 27. Interacciones entre los tejidos oculares, el melanoma uveal y las células inflamatorias. Las líneas verdes representan las interacciones positivas y las líneas rojas las interacciones negativas. (Marc Oliva, Antonio et al. *Uveal Melanoma As a Target for Immune Therapy*. *Annals of Translational Medicine*, Vol. 4, No. 9, May 16)

Inmunológicamente, se puede dividir el microambiente tumoral del melanoma uveal en 4 tipos, según la expresión o no del PD-L1 y los linfocitos intratumorales (LITs).

Tipo de microambiente tumoral	PD-L1	LIT	Características
I	+	+	Más importante en melanoma cutáneo, aunque también se observa en melanoma uveal. Este es el grupo que responde a tratamiento con bloqueo específico.
II	-	-	Microambiente que carece de una reacción inmune detectable; debido a la falta de linfocitos T pre-existentes, el bloqueo no va a ser eficaz.
III	+	-	El PD-L1 se expresa constitutivamente en las células cancerígenas. Se parece más al microambiente tumoral tipo II que al I.
IV	-	+	Hay inmunotolerancia; otras vías supresoras de la reacción inmune pueden ser las dominantes.

Tabla 12. Tipos de tumor según microambiente tumoral en el melanoma uveal. PD-L1 (ligando de muerte programada, por sus siglas en inglés, TIL: linfocitos intratumorales, por sus siglas en inglés). (Oliva, M. *Annals of Translational Medicine*. Vol.4, No9, mayo del 2016.)

Siguiendo con el desglose de aspectos importantes a tomar en cuenta en el melanoma uveal, se puede anotar que el procesamiento de la pieza quirúrgica es importante, pues se solicita que el patólogo conozca los conceptos básicos de anatomía. Se pueden efectuar cortes verticales, transversales u oblicuos y la orientación anatómica viene dada por: la vena del vórtice, la inserción de los músculos extraoculares y el nervio óptico (figura 28).

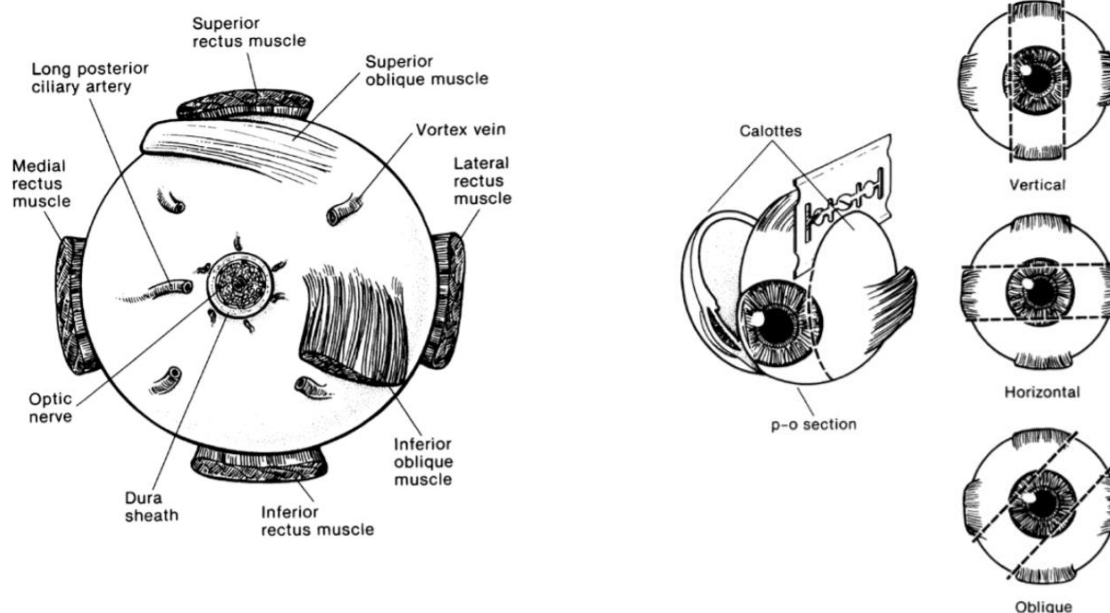


Figura 28. Anatomía y corte del globo ocular. En la fotografía de la izquierda, se observa un globo ocular derecho, visto desde una perspectiva posterior. La posición del músculo oblicuo inferior es útil en la orientación de la pieza quirúrgica, dado a su relación con el nervio óptico, el cual es central. Las fibras de este músculo corren inferonasalmente, y la inserción se localiza temporal (lateral), en la esclera. La arteria ciliar posterior se identifica de color azulado o grisáceo y se ubica a un lado del n. óptico, marcando el corte horizontal o meridiano del globo ocular. A la derecha: para seccionar el globo ocular, se transilumina el tumor y se corta horizontal o verticalmente, de manera que se incluyan muestras del nervio óptico. El cristalino suele retirarse y no incluirse dado a su consistencia sólida. (Protocolos de reporte del Colegio Americano de Patólogos. <https://documents.cap.org/protocols/cp-uveal-melanoma-17protocol-4000.pdf>)

En lo que respecta al reporte patológico del melanoma uveal, éste se separa según el origen (coroides y cuerpo ciliar, o iris). Para que el origen sea considerado como iris, el tumor debe comprometer por lo menos el 50% del iris. De lo contrario, se tomará en cuenta como un melanoma derivado de la coroides con compromiso focal del iris. En melanomas originados de la coroides y cuerpo ciliar, existen categorías tumorales basadas en el diámetro tumoral basal mayor, el cual se puede medir en dioptrías (equivalencia: 2.5 dioptrías \approx 1 mm) o en milímetros (mm). Dicha información se clarifica en la tabla 13.¹⁸

pT Iris

___ pTx El tumor primario no se puede determinar

___ pT0 No hay evidencia de tumor primario

__ pT1 Tumor limitado al iris (se divide en a: no abarca más de 3 horas en sentido del reloj, b: abarca más de 3 horas en sentido del reloj, c: tumor restringido al iris pero con glaucoma secundario)

__ pT2 Tumor que no sólo afecta el iris, sino también la coroides, cuerpo ciliar o ambos (a: se extiende al cuerpo ciliar sin glaucoma secundario, b: afecta coroides y cuerpo ciliar pero no tiene glaucoma secundario, c: igual que "b" pero con glaucoma secundario)

__ pT3 Tumor se extiende al cuerpo ciliar, coroides o ambos, con extensión a la esclera.

__ pT4 Tumor con extensión extraescleral (a: tumor menor a 5 mm de diámetro mayor, b: tumor mayor a 5mm de diámetro)

pT Cuerpo ciliar y coroides

__ pTx El tumor primario no se puede determinar

__ pT0 No hay evidencia de tumor primario

__ pT1 Tamaño tumoral categoría 1(a: no tiene afectación del cuerpo ciliar ni extensión extraocular, b: involucra el cuerpo ciliar, c: no involucra cuerpo ciliar, pero tiene extensión extraocular menor o igual a 5 mm, d: involucra cuerpo ciliar y tiene extensión extraocular menor o igual a 5 mm)

__ pT2 Tamaño tumoral categoría 2 (a: no involucra cuerpo ciliar ni tiene extensión extraocular, b: tumor afecta o involucra el cuerpo ciliar, c: no afecta cuerpo ciliar pero tiene extensión extraocular menor o igual a 5 mm, d: afecta cuerpo ciliar y tiene extensión extraocular menor o igual a 5 mm)

Thickness (mm)								
>15					4	4	4	
12.1-15.0				3	3	4	4	
9.1-12.0		3	3	3	3	3	4	
6.1-9.0	2	2	2	2	3	3	4	
3.1-6.0	1	1	1	2	2	3	4	
≤ 3.0	1	1	1	1	2	2	4	
		≤ 3.0	3.1-6.0	6.1-9.0	9.1-12.0	12.1-15.0	15.1-18.0	>18
		Largest basal diameter (mm)						

Tabla 13. Categoría de tamaño tumoral en melanoma uveal originado en el cuerpo ciliar o la coroides. (Protocolos de reporte del Colegio Americano de Patólogos. <https://documents.cap.org/protocols/cp-uveal-melanoma-17protocol-4000.pdf>) En el eje horizontal se halla el diámetro basal mayor del tumor y en el eje vertical el grosor tumoral.

Se ha propuesto recientemente reportar el porcentaje de macrófagos que componen la población celular acompañante de las células tumorales, pues se ha probado que la cantidad de macrófagos son un valor predictivo negativo en pacientes con melanoma uveal. En particular, se ha señalado una relación entre la cantidad de macrófagos M2 con respecto a los M1, con inducción de actividad proangiogénica en melanomas con monosomía del cromosoma 3 (condición en la que a un cromosoma le falta su par homólogo).³¹

Los macrófagos (M2) contienen un receptor nuclear denominado receptor gamma activado por proliferación de peroxisomas (PPAR- γ). Este receptor en condiciones normales regula el metabolismo de la glucosa y las reservas de ácidos grasos en el organismo, a la vez que en ciertas neoplasias, su expresión constitutiva posee un efecto protector. Sin embargo, en melanoma uveal sucede todo lo contrario, y entre más se exprese, peor es el pronóstico y mayor es el grado de extensión extra escleral al diagnóstico.⁴⁷

En nuestro medio se cuenta con tinciones de inmunohistoquímica para identificar macrófagos (CD68 y CD163), por lo que se cuentan los mismos en 10 campos de alto poder y se realiza un promedio. Sin embargo, no se cuenta con marcadores de inmunohistoquímica para PPAR- γ , por lo que no se puede determinar la expresión de dicho receptor nuclear.

Un estudio experimental publicado por Herwig et al. en 2012 tomó una serie de 20 melanomas uveales y determinó la expresión de PPAR- γ por medio de inmunohistoquímica, dividiendo a los tumores en cuatro grupos según su grado de expresión (0 siendo ninguna expresión y 3 el grado máximo de expresión). Se concluyó que los tumores con extensión extra escleral tenían un alto ratio de macrófagos M2/M1 ($p < 0.01$). Pese a ser un receptor nuclear, su expresión en melanoma uveal es citoplasmática.⁵⁰

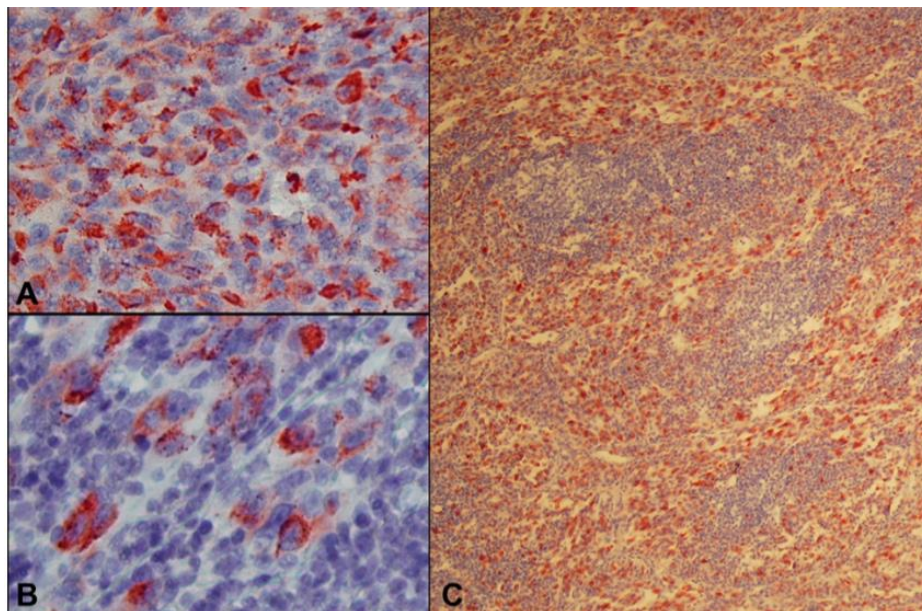


Figura 29. A. El receptor PPAR- γ (tinción roja) se expresaba predominantemente en el citoplasma de las células. (tamaño 20X) B. Aumento de la imagen (40X) C. En algunos tumores la distribución de la expresión era heterogénea. (10X) (Herwig et al. *M2/M1 Ratio of Tumor Associated Macrophages and PPAR Gamma Expression in Uveal Melanomas With Class 1 and 2 Molecular Profiles*. Experimental Eye Research. 2012.)

Melanoma meníngeo

Es una neoplasia maligna del SNC, con un patrón de crecimiento agresivo. Se deriva de los melanocitos de las leptomeninges. Posee una incidencia bajísima (0.5 casos por cada 10 millones) y el rango de edad varía entre los 15 y 71 años de edad. El sitio anatómico más frecuente es la fosa posterior, así como la médula espinal, pero estas neoplasias pueden verse a cualquier nivel del neuroeje. La sintomatología y los signos clínicos irán de la mano de la localización anatómica de la lesión.⁵¹

El tumor crece rápidamente, por lo que en la resonancia magnética produce una reacción de hiperintensidad en T2 (debido al edema vasogénico concomitante).⁵¹

Macroscópicamente se observa como una masa solitaria, extra axial, pigmentada, con coloraciones que van desde negro, a café rojizo, azulado, o incluso puede carecer de pigmento.⁵¹

Microscópicamente, el melanoma meníngeo se parece a los melanomas convencionales; pueden verse grupos o nidos de células epitelioides o fusiformes malignas que contienen melanina, o bien, tumores con células fusiformes densamente empacadas y con una relación núcleo-citoplasma alta. El diagnóstico diferencial es con el melanocitoma meníngeo, pero el melanocitoma no es infiltrativo y carece de anaplasia, necrosis y una actividad mitótica elevada. Puede existir una complicación asociada denominada melanomatosis meníngea, dada cuando el tumor discurre por el espacio subaracnoideo. Esto vendría siendo el sinónimo de una carcinomatosis en un carcinoma, por ejemplo.⁵¹

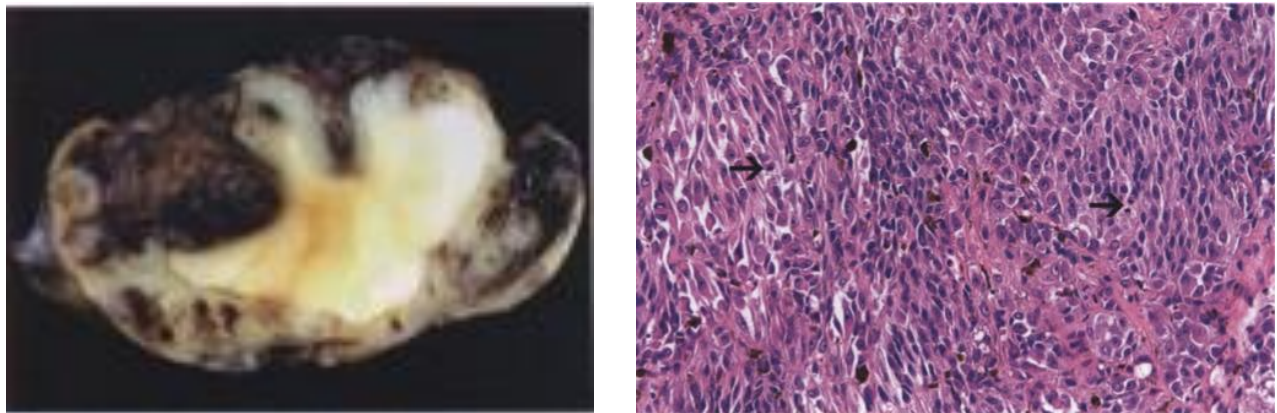


Figura 30. A. Melanoma meníngeo espinal con infiltración difusa de leptomeninges e infiltración focal de la médula. B. Melanoma meníngeo torácico. Las células tumorales son epitelioides y fusiformes, con un citoplasma amplio y eosinofílico. La actividad mitótica, resaltada con las flechas, es marcada. También se identifican algunos melanófagos dispersos entre las células tumorales. En este tumor se identificó mutación de GNA₁₁, o proteína G₁₁. (WHO. *Classification of Tumors of the Central Nervous System*. Lyon, 2016.)

BIOPSIA DE GANGLIO CENTINELA

La indicación quirúrgica para remover un ganglio centinela depende de dos condiciones: que el melanoma cutáneo sea localizado y que el grosor tumoral sea mayor a 1 mm. También se incluye a pacientes con melanomas que tengan un grosor menor a 1 mm pero que presenten otros factores adversos.⁵

Se ha enfatizado en que la biopsia por congelación de un ganglio centinela no está indicada. Por otro lado, en lo que concierne al manejo de la pieza quirúrgica del ganglio, el patólogo por lo general realiza múltiples cortes seriados o transversales del mismo, y con esto se aumenta la sensibilidad de encontrar metástasis microscópicas de melanoma. Cuando el ganglio se hemisecciona, la cantidad de tejido que se procesa es menor. Esto puede conducir a falsos negativos de entre un 10 a un 15%.¹⁸

El uso de tinciones de inmunohistoquímica (p.e HMB45 y MART1/Melan-A) aumenta aún más la sensibilidad en el diagnóstico de metástasis ganglionares y es aconsejable. En el contexto de Costa Rica, hay protocolos que utilizan el siguiente procedimiento para el análisis del ganglio centinela: primero, se obtienen secciones transversales del ganglio. Si este es lo suficientemente grande, se secciona cada 2 ó 3 mm y si mide menos de 5mm, la muestra se puede incluir completa. Seguidamente, se realizan varios niveles histológicos sin teñir (esto es, sin aplicarles hematoxilina eosina) y por último se efectúa una triple tinción (S100, HMB45 y MART-1/Melan-A).

Es importante aclarar que esta técnica se utiliza en conjunto con la tinción de hematoxilina eosina y no la reemplaza. Cualquier número de células malignas halladas por medio de la técnica anteriormente explicada, representará un estadio ganglionar mayor a N0. Las guías de la National Comprehensive Cancer Network (NCCN) también recomiendan reportar el tamaño y la localización del depósito metastásico tumoral (figura 31).¹²

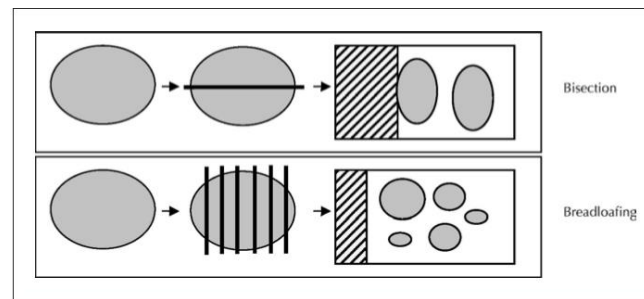


Figura 31. Ganglio centinela: técnicas de manejo de la pieza quirúrgica por parte del patólogo en el Instituto del Cáncer MD Anderson. Arriba, hemisección. Abajo, cortes transversales. (G. Prieto, Victor. *Sentinel Lymph Nodes in Cutaneous Melanoma: Handling, Examination and Clinical Repercussion*. Arch Pathol Lab Med—Vol 134, December 2010.)

Del mismo modo, la carga tumoral en el ganglio centinela es considerada un factor pronóstico de enfermedad regional y debe ser reportada. A pesar de esto, no se incluye dentro de la categoría N del TNM para melanoma propuesto por la AJCC en su octava edición.¹⁸

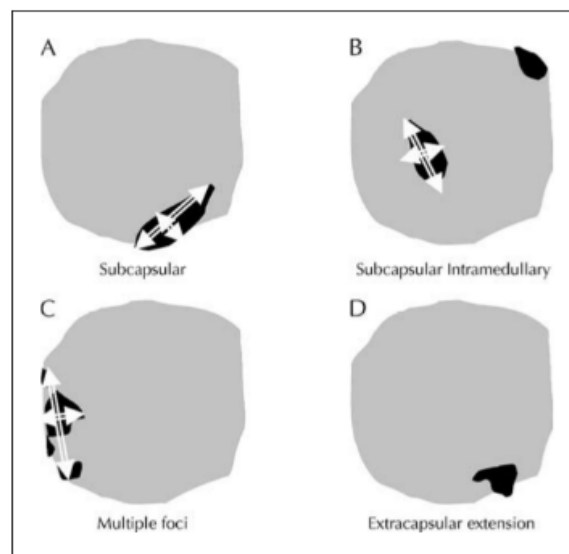


Figura 32. Representación esquemática de la evaluación histológica de las metástasis de melanoma en un ganglio centinela. A. Medición de un solo nido subcapsular. B. Nidos subcapsular e intraparenquimatoso. Se mide el de mayor tamaño. C. Para efectos de medición, cuando se encuentran varios agregados en la misma región, se consideran como un nido único. D. Metástasis con extensión extranodal. (G. Prieto, Victor. *Sentinel Lymph Nodes in Cutaneous Melanoma: Handling, Examination, and Clinical Repercussion*. Arch Pathol Lab Med—Vol 134, December 2010.)

Existen también lesiones complejas a las que, después de haber aplicado la técnica de ganglio centinela, se comprueba que son benignas, como lo constituye el nevus nodal penetrante profundo. La distinción histopatológica del melanoma a veces resulta difícil, por lo que es preciso aplicar criterios histológicos estrictos.⁵²

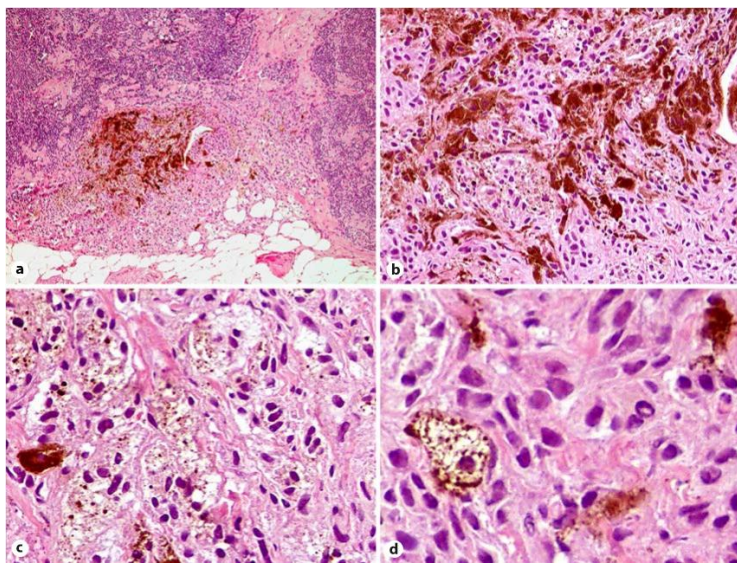


Figura 33. Nevus nodal penetrante profundo. A) La lesión es intracapsular con: B) un patrón de distribución de la melanina similar al de un “tablero de damas”. C) Melanocitos con citología semejante a la de un sebocito, con citoplasma claro abundante. D) Algunas células tienen atipia citológica. (Ferrara et al. *Sentinel Node Biopsy in Melanoma: A Short Update*. Dermatopathology. 2018)

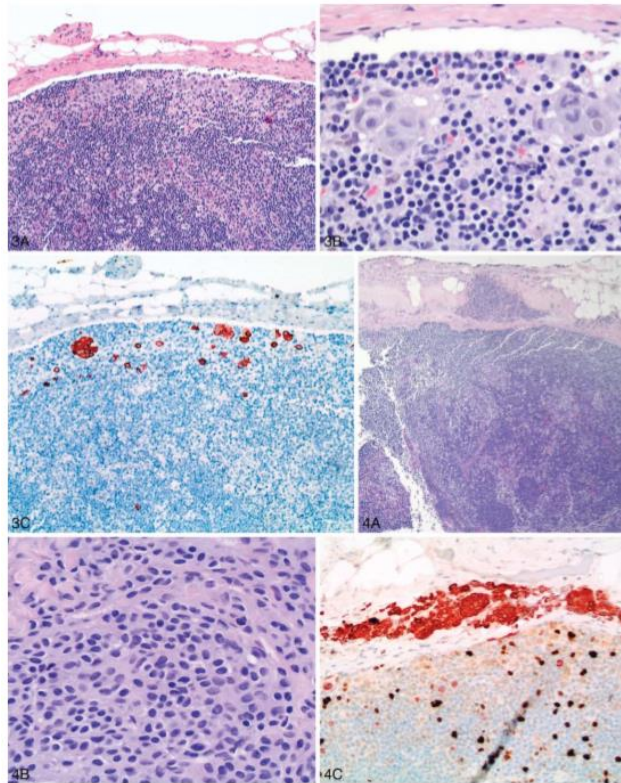


Figura 34. Ejemplificación de lo expuesto en la figura 32. 3A. Melanoma metastásico que infiltra el seno subcapsular del ganglio linfático. 3B. Nótese la atipia citológica. 3C. Las células malignas reaccionan a un cocktail de anticuerpos de inmunohistoquímica dirigido a células melanocíticas. 4A. Nevus nodal. Obsérvese los melanocitos benignos localizados en la cápsula. 4B. Las células névicas tienen núcleos uniformes, con nucléolos pequeños. 4C. Las células expresan MART-1 pero tienen un ki67 bajo. (G. Prieto, Victor. *Sentinel Lymph Nodes in Cutaneous Melanoma: Handling, Examination, and Clinical Repercussion*. Arch Pathol Lab Med—Vol 134, December 2010.)

Finalmente, en lo que respecta a esta temática, se puede acotar que las implicaciones terapéuticas de la biopsia de ganglio centinela quedan plasmadas en el Estudio “Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial-1”, el cual compara el pronóstico a 5 y a 10 años de pacientes con melanomas con Breslow mayor o igual a 1.20 mm, a los que se asignó aleatoriamente en dos brazos: unos pacientes recibieron tratamiento expectante y a otros se les empleó la técnica de ganglio centinela. Al comparar los resultados, los pacientes que recibieron la intervención tuvieron recaídas menores (4%), cotejando con respecto a los pacientes del brazo observacional, los cuales tuvieron recaídas de hasta 17.4%. Esto confirma la utilidad de esta técnica para predecir el pronóstico en pacientes seleccionados. Aún más importantemente, los individuos a los que se les

llevó a cabo la disección ganglionar, tuvieron una supervivencia específica de melanoma mayor a 10 años plazo.⁵³

BIOLOGÍA MOLECULAR DEL MELANOMA

Factores genéticos de susceptibilidad

Los genes implicados en esta enfermedad tienen roles importantes en el ciclo celular, el desarrollo de melanocitos o la síntesis de melanina. Dichos genes se clasifican en alelos de alto, intermedio y bajo riesgo.⁴ Los de alto riesgo se asocian a melanomas múltiples en miembros de una misma familia, o individuos con melanomas múltiples de aparición temprana. Los de riesgo bajo o intermedio se traducen clínicamente en cambios en la pigmentación de la piel y sensibilidad a la luz, aumentando indirectamente el riesgo. A continuación, se hará un breve repaso de dichos genes.⁵⁴

Locus de alto riesgo

CDKN2A

El gen CDKN2A se ubica en el cromosoma 9. Sus alteraciones se ven más notoriamente en el síndrome de melanoma familiar asociado a nevus atípicos múltiples, caracterizado clínicamente por: pacientes jóvenes con melanomas múltiples (más de 12), nevus displásicos y una fuerte asociación con cáncer pancreático (38 veces más con respecto a la población promedio).²

Las mutaciones de este gen son generalmente mutaciones germinales (las que se dan en células reproductoras y se transmiten a la descendencia), de tipo missense (mutación puntual donde hay cambio de un solo nucleótido que se traduce en un codón diferente y por ende en un aminoácido diferente), o nonsense (mutación donde hay un codón de terminación abrupta en la transcripción del ARN, y por ende se forma una proteína no funcional), que inhabilitan las funciones protectoras de las proteínas p16 y p14ARF. El p16 inhibe las quinasas dependientes de ciclina CDK4 y CDK6, previniendo la fosforilación de la proteína del retinoblastoma RB1. Al estar desfosforilada, RB1 evita la transcripción del factor E2F1, el cual induce la transición entre las fases G1 y S del ciclo celular. Por otra parte, p14ARF inhibe la degradación proteosómica del p53. Al acelerarse la destrucción del p53, se evita la tasa de recambio usual del ADN y los mecanismos que controlan la

progresión a la fase G2 del ciclo celular. Esto se traduce finalmente en una proliferación celular aumentada y una disminución de la apoptosis.⁵⁵

La penetrancia de esta mutación varía geográficamente, siendo mayor en Estados Unidos y Australia, y la edad de aparición de melanoma es predominantemente en pacientes jóvenes (33-45 años en comparación con 53-61 años en el fenotipo no mutado).⁵⁴

Histopatológicamente, los melanomas se parecen a melanomas de extensión superficial, con un alto grado de pigmentación, diseminación pagetoide y una morfología celular no fusiforme en la fase de crecimiento vertical.⁴

CDK4

CDK4 codifica la subunidad catalítica de una proteína/quinasa de serina treonina heterodimérica, la cual controla la progresión a la fase G1 del ciclo celular.³⁶

Se efectuó el árbol genealógico a 12 familias susceptibles de desarrollar melanoma debido a la mutación del gen CDK4. Todas las mutaciones se produjeron en el codón 24 del exón 2, resultando en una sustitución de arginina por histidina (R24H) o arginina por cisteína (R24C). El efecto final radica en que cambia el dominio de unión de la proteína p16^{INK4A} a la quinasa dependiente de ciclina CDK4, por lo que p16 no logra inhibir a la CDK4 y subsecuentemente habrá progresión en el ciclo celular. En la tabla 14 se acuñan las características genotípicas y fenotípicas de melanomas en familias con mutación de CDK4, según un estudio que reclutó 17 familias con mutaciones, obteniendo los datos de publicaciones anteriores en el tema (12 familias), así como cinco familias adicionales.³⁶

Variable	Número	Porcentaje (%)
Género	(N=103)	
Hombres	44	42.7
Mujeres	59	57.3
Número de melanomas primarios en individuos afectados	2.1 (promedio)	
Status de la mutación CDK4		
Mutación detectada	62	60.2
Portadores	7	6.8
Status desconocido	34	33
Edad de la aparición de melanoma	40.4 años (promedio)	
Localización anatómica más frecuente	Extremidades	47.1
Tipo histológico más frecuente	Extensión superficial	74.7

Tabla 14. Características fenotípicas y genotípicas de melanoma en familias con detección de mutaciones germinales de CDK4. Los sujetos con la mutación detectada desarrollaron la enfermedad, mientras que a los portadores se les detectó la mutación, pero no presentaban malignidad al momento del estudio. (*Puntervoll HE et al. Melanoma Prone Families with CDK4 Germline Mutation: Phenotypic Profile and Associations with MC1R Variants. 2013*).

BAP1

BAP1 (proteína 1 asociada al gen BRCA1), es una proteína supresora de tumores que media sus efectos a través de la modulación de la estructura y mantenimiento de la cromatina, regulación de la transcripción y por medio del sistema ubiquitina proteosoma, controlando la respuesta del daño al ADN. La mutación germinal del BAP1 inactiva uno de sus alelos y se asocia con el síndrome hereditario de predisposición al cáncer. Entre los tumores más frecuentes que se ven en pacientes con mutaciones del BAP1 se encuentran: el melanoma uveal, nevus de Spitz atípico, mesotelioma y carcinoma de células renales.⁵⁶

En cuanto a melanoma uveal, se ha documentado además un porcentaje considerable de mutaciones no sólo germinales sino también somáticas del BAP1 (47%).⁴⁹

Adicionalmente, se relaciona la pérdida de expresión de BAP1 con un mayor potencial metastásico, lo cual tiene aplicación práctica al utilizar marcadores de inmunohistoquímica para predecir el comportamiento biológico de estos tumores.⁵⁷

Locus de riesgo intermedio y bajo

MC1R

El receptor de melanocortina 1 corresponde a un grupo de receptores que incluyen otros cuatro receptores con una homología del 40-60%. Pertenecen a los polipéptidos con 7 dominios transmembrana conocidos como proteínas G, los cuales funcionalmente actúan a través de la enzima adenilato ciclasa utilizando como sustrato la adenosina monofosfato. La activación de esta vía en los melanocitos estimula la actividad de la tirosinasa, la enzima crítica en la producción de melanina. Si bien el correcto funcionamiento del MC1R es vital en la protección de la piel contra los rayos ultravioleta al aumentar la producción de melanina, una deficiencia en la producción de MC1R cambia la producción de eumelanina (pigmento café a negruzco) por feomelanina (pigmento rojizo), determinando el color de la piel y una susceptibilidad particular al efecto nocivo de los rayos UV y al desarrollo de melanoma en individuos pelirrojos de piel blanca.⁵⁸

Por otro lado, un exceso en la expresión de MC1R también lleva al desarrollo de melanoma al ayudar a la migración celular maligna, potencializando a las células tumorales a metastatizar. Además, la sobreexpresión de MC1R activa la vía de señalización RAS/RAF/MEK/ERK, lo cual aumenta el grado de proliferación celular.⁵⁹

En conclusión, el receptor de melanocortina posee un delicado balance en su funcionamiento. Cualquier deficiencia o sobreexpresión del mismo puede llevar a la aparición de melanoma.

MITF

El factor de transcripción asociado a microftalmia representa un factor de transcripción específico al linaje de melanocitos con un rol bien definido en melanoma al conferir "plasticidad" a las células de melanoma. Existen diferentes perfiles genéticos de expresión de MITF, lo cual se traduce en diferentes fenotipos de melanoma.⁴

En los mecanismos de expresión del MITF participan genes activadores y supresores que operan a nivel transcripcional (translocación del material genético o ADN nuclear al citoplasma a través del ARN mensajero), post-transcripcional y traduccional (síntesis de aminoácidos a partir del ARN), así como cambios epigenéticos y en el microambiente tumoral. Su rol en melanoma es muy diverso, pero se implica más fuertemente en la progresión de melanoma in situ a invasor.⁶⁰

Varias vías de señalización que regulan la expresión de MITF incluyen: Wnt/ β catenina, la cual se sobreexpresa en varios tumores, o la del BRAF^{V600E}/ERK1/2, más específica de melanoma. Una versión de empalme alternativo (mecanismo por el cual diferentes versiones de un mismo gen codifican para proteínas diferentes) de MITF, contiene un extremo N-terminal que interactúa con un hexapéptido, que a su vez activa a la quinasa 2 extracelular ERK1/2. Esta quinasa se activa independientemente del estado mutado o no del BRAF, e induce diferenciación, proliferación y migración celular.⁶¹

No existe una terapia específica para inhibir el MITF en pacientes con melanoma, sino que se ha experimentado modulando sus vías reguladoras, aunque sin ningún resultado promisorio aún. Por ejemplo, la Fisetina, un flavonoide, inhibe la Wnt/ β catenina, mientras que la ciglitazona ha mostrado efecto anti melanoma in vivo al modular la transcripción a la baja del MITF.⁴⁵

TERT

Las mutaciones de la transcriptasa reversa de telomerasa han emergido como las mutaciones somáticas más prominentes en melanoma. Esta enzima sintetiza ADN a partir de ARN y es crítica para ensamblar la telomerasa. La telomerasa a su vez, se encarga de mantener los telómeros o extremos terminales de los cromosomas.⁶²

En combinación con las mutaciones de BRAF/NRAS, las mutaciones de TERT son un sinónimo de pobre supervivencia libre de enfermedad y supervivencia en general. La mutación menos común pero más letal es la mutación en tandem -138/-139CC > TT (mutación que consta de pares de bases que se repiten, y cuyas repeticiones se encuentran adyacentes en el cromosoma), la cual confiere una supervivencia pobre aún en pacientes con melanoma estadio I o II.⁶²

En resumen, los siguientes son los factores genéticos más comúnmente asociados al desarrollo de melanoma.

Factor de riesgo	Riesgo
<i>Tipo de locus</i>	
Alto riesgo	
CDKN2A	0.91 (en Australia), 0.76 (en USA), 0.58 (Europa)
CDK4	0.91
BAP1	No hay suficientes datos disponibles
RB1	4-80 RR
Riesgo intermedio	
MC1R	2.7
MITF	2.2

Tabla 15. Factores de riesgo genéticos para melanoma. El riesgo relativo se define como el riesgo de desarrollar melanoma en comparación con la población normal. Un factor de riesgo de 1 implica que no hay aumento del riesgo, mientras que uno de 2 implica el doble de probabilidad. (Patterson, James. *Weedon's Skin Pathology*. 2016)

Melanoma: mecanismos moleculares de oncogénesis

Metaloproteinasas

Múltiples estudios han demostrado que la diseminación del melanoma es el resultado de mutaciones genéticas y alteraciones en el microambiente tumoral, así como sobreexpresión de proteínas que le permiten a las células malignas infiltrar los tejidos vecinos. Un rol muy importante es el de las metaloproteinasas (MMP), particularmente la MMP9 y la MMP2, las cuales son enzimas que inducen degradación de los componentes de la matriz extracelular, favoreciendo que las células malignas migren hacia el torrente sanguíneo.⁴

La MMP9 se sobreexpresa por varios mecanismos, incluyendo: la metilación intragénica, la activación de la osteopontina, una proteína producida por el microambiente tumoral y la desregulación de la vía nuclear NF- κ B.⁶³

NF- κ B

El NF- κ B, factor nuclear kappa de cadenas ligeras potenciador de linfocitos B activados, es una familia de factores de transcripción inducibles que son clave en la transcripción del ADN, producción de citoquinas, supervivencia celular, pero sobretodo en regular la respuesta inmune ante la infección.⁶⁴

Mutaciones somáticas

Aparte de las alteraciones en el microambiente tumoral, el melanoma evidencia una de las cargas más altas en la tasa de mutaciones somáticas. Las mutaciones somáticas más frecuentes afectan genes que controlan procesos celulares vitales como: proliferación (BRAF, NRAS, NF1), crecimiento o metabolismo (fosfatasa análoga de tensina o PTEN), el receptor tirosín kinasa del proto-oncogen KIT (el cual activa vías de señalización intracelular), resistencia a la apoptosis (p53), control del ciclo celular (inhibidor 2A de la kinasa dependiente de ciclina CDKN2A) y el grado de replicación celular (transcriptasa reversa de la telomerasa TERT).⁶⁵

Vías MAP kinasas y PI3/Akt

Estas alteraciones conllevan a su vez a una activación aberrante de dos vías de señalización principales: la cascada RAS/RAF/MEK/ERK (también conocida como la proteín kinasa activada por mitógenos, MAP kinasa) y la vía de la fosfoinositol 3 kinasa (PI3/Akt).⁹

La vía MAP kinasa se sobreactiva en 90% de los melanomas. Fisiológicamente, tiene que ver con la transducción de señales extracelulares al núcleo de sustancias tales como: factores de crecimiento y hormonas. El resultado final de su estimulación es un aumento en la proliferación, diferenciación y supervivencia celular.⁶⁶

Por otro lado, la vía de señalización PI3K es la segunda más frecuentemente modificada. Su rol normal es el de brindar homeostasis celular.⁴

Mutación del BRAF

Sin duda alguna, la mutación que más comúnmente ocasiona un funcionamiento anormal de la MAP kinasa es la mutación de BRAF. Del 37 al 50% de los melanomas presentan mutación de BRAF, especialmente los cutáneos.⁶⁵

BRAF es una proteína de 766 aminoácidos del tipo serina/treonina. Cuenta con dos dominios regulatorios y un dominio catalítico, cuya función es la de fosforilar a MEK, uno de los efectores cascada abajo de la vía de la MAP kinasa. El dominio catalítico también ejerce su función al mantener la inactivación constitutiva de la proteína. Usualmente, las mutaciones son del tipo missense, determinando una sustitución de valina en el codón 600. En 80-90% de los casos, la

sustitución es por ácido glutámico (V600E), en 5-12% de los casos, la valina se sustituye por lisina (V600K) y en menos de 5% de las ocasiones, el cambio es por ácido aspártico (V600D) o por arginina (V600R).⁹

En condiciones normales la valina, la cual es hidrofóbica, inactiva en de forma constitutiva a BRAF al unirse a un bucle rico en glicina. El efecto neto de la mutación BRAF^{V600E} es que, si se sustituye la valina por el ácido glutámico, el cual es hidrofílico, el dominio catalítico de la proteína pierde su interacción con la glicina, se expone el sitio de unión para ATP y la actividad kinasa de BRAF aumenta 500 veces en comparación con la forma no mutada de la proteína, estimulando por consiguiente a la MAPkinasa.⁶⁶

Mutación de NRAS

La segunda causa más frecuente de activación aberrante de la MAPkinasa son las mutaciones de NRAS. NRAS es uno de los 3 miembros de una superfamilia de genes (NRAS, KRAS y HRAS). Aparecen en 15 al 30% de los melanomas y se caracterizan por ser mutaciones missense en los codones 12, 13 y 61 (80% de las mutaciones se dan en el codón 61). Al ser una proteína G, cuando se encuentra mutado, NRAS expone su dominio de unión al GTP y por ende retroalimenta las vías de señalización MAP kinasa y PI3/Akt. Los tumores que presentan BRAF mutado no presentan mutación de NRAS. Es decir, dichas mutaciones son excluyentes.⁶⁴

El gen supresor de tumores NF1 se encuentra mutado en 10 al 15% de los melanomas. Compone el tercer tipo de gen más frecuentemente mutado y su función principal es la de inhibir al oncogen RAS al convertir a la forma activa del RAS (guanosina trifosfato), en la forma inactiva (guanosina difosfato). Por consiguiente, la pérdida de función de NF1 desemboca en una hiperactivación de NRAS y en aumento de expresión de la MAP kinasa y PI3K/Akt. Clínicamente, esta mutación se aprecia en pacientes mayores con fotodaño crónico.⁶⁷

Mutación del gen KIT

El gen KIT pertenece a una superfamilia de tirosín kinasas, que incluyen: el factor de crecimiento hepatocitario, el factor de crecimiento epidérmico, el factor de crecimiento derivado de plaquetas y el factor de crecimiento de mastocitos. Cuando c-kit se une a su ligando en la membrana celular, el factor de crecimiento de células madres, se activan señales moleculares intracelulares (MAP

kinasa, PI3K/Akt y mTor), que culminan en un aumento en la proliferación celular. Solamente un 3 a un 8% de los melanomas demuestran amplificaciones o mutaciones activadores de c-kit, en especial los melanomas acrales y primarios de mucosas.⁴⁵

TERT, CDKN2A y PTEN

Otras alteraciones genéticas son las de TERT y las mutaciones heterocigotas de CDKN2A (previamente discutidas), más prevalentes en melanoma in situ. También se encuentran las de PTEN (gen involucrado en el control de la progresión en el ciclo celular), relacionadas principalmente a metástasis y a melanomas en fase de crecimiento vertical.¹³

Akt

Akt (homólogo del oncogen viral de timoma) es una familia de 3 serina treonina kinasas (Akt1, Akt2 y Akt3). En modelos in vivo, se ha observado que una hiperactivación de Akt1 activa a su vez una kinasa de adhesión celular que fomenta metástasis cerebral. Se menciona en la literatura que el 75% de los pacientes con enfermedad estadio IV evidencian metástasis cerebral. Además, los niveles de PI3K/Akt (productos metabólicos de vías de señalización celular con efectos sinérgicos) son más altos en muestras de tejido de metástasis cerebrales en comparación con metástasis hepáticas y pulmonares, sugiriendo una fuerte relación entre la alteración de AKT y la propensión del melanoma a dar metástasis a cerebro y sistema nervioso central. Esto podría abrir el portillo para nuevas terapias blanco.⁶³

mTOR

La disfunción de mTor (blanco mamario para rapamicina, un macrólido), está involucrada con inhibición de la autofagia, por lo que el Everolimus (inhibidor de mTor), podría tener utilidad terapéutica en el futuro en combinación con otras terapias al inhibir la síntesis proteica de las células malignas, aumentar el estrés oxidativo y reducir el aporte nutricional celular.⁴

GNAQ/GNA11

Las proteínas GNAQ/GNA11 codifican para la subunidad α de una proteína G heterotrimérica. La variación en su función normal se da por la estimulación de una enzima fosfolipasa C, que a su vez transmite señales a las principales vías anteriormente mencionadas (MAP kinasa, PI3/Akt, mTOR). Esta mutación es casi exclusiva de melanomas uveales (80%) y nevus azules.⁴⁸

Inestabilidad microsatelital

Constituye un defecto en las enzimas que reparan errores en el ADN. Es una vía molecular que sucede en la población pediátrica y no tanto en pacientes adultos.⁶⁸

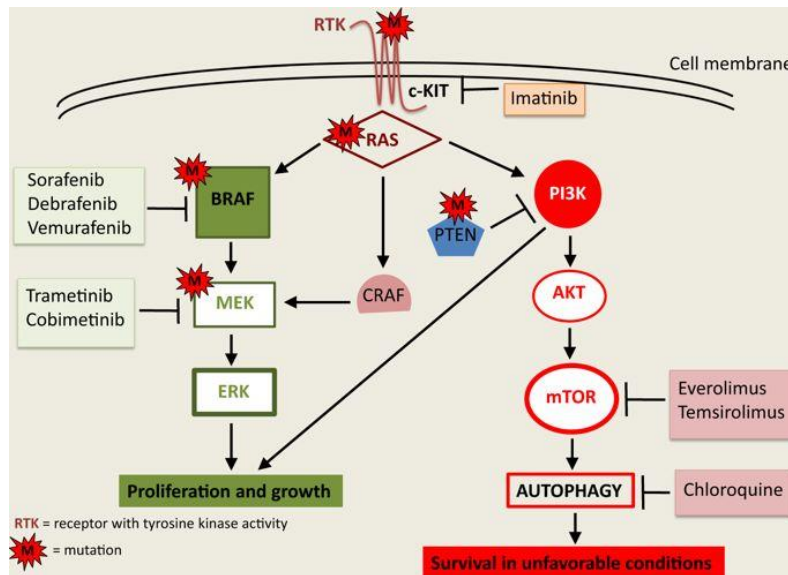


Figura 35. Principales vías moleculares implicadas en la génesis del melanoma. Se indican además las terapias blanco que bloquean o inhiben cada vía. (Mattia et al. *Cell Death-Based Treatments of Melanoma: Conventional Treatments and New Therapeutic Strategies*. 2018)

Correlación citogenética de algunos tipos de melanoma

Lentigo maligno

Molecularmente, la variante p.R163Q del gen MC1R se asocia a lentigo maligno en poblaciones del Mediterráneo.⁵⁸

Melanoma de extensión superficial

El 29% de los tumores tiene mutaciones de BRAF en el exón 15 y se ha detectado regulación a la baja de ciertos micro ARN (let 7g y miR-15a).⁶⁹

Melanoma lentigo maligno:

La mutación BRAF^{V600K} es más prevalente en el lentigo maligno, mientras que la mutación clásica BRAF^{V600E} es más común en el melanoma lentigo maligno. Sin embargo, la casuística reporta que la mutación de BRAF es relativamente baja en los melanomas lentigo malignos (20%).⁷⁰

Melanoma acral lentiginoso

Un estudio publicado en 2013 se dio a la tarea de caracterizar las principales aberraciones genómicas de varios melanomas acrales lentiginosos en una población de pacientes españoles. El estudio se enfocó en regiones específicas de cromosomas que contenían genes involucrados en la señalización, progresión del ciclo celular y apoptosis.³⁶

En la siguiente figura se ilustra dicho estudio. Primero, se tomó una muestra de 17 melanomas acrales lentiginosos, obteniendo tejido fresco congelado para estudios de citogenética. Cada columna en negro representa un número de 12 sitios específicos del genoma, y en gris se resalta el número de sitios amplificados. A su vez, a cada caso se le designó con las siglas ALM y un número. Por lo menos en 25% de los tumores analizados se encontró mutación de alguno de estos 4 genes: NRAS, TERT, AURKA y CCND1. Esto confirmó que los melanomas acrales lentiginosos poseen mutaciones principalmente del oncogen NRAS en vez del BRAF, pero también de otros genes asociados.³⁶

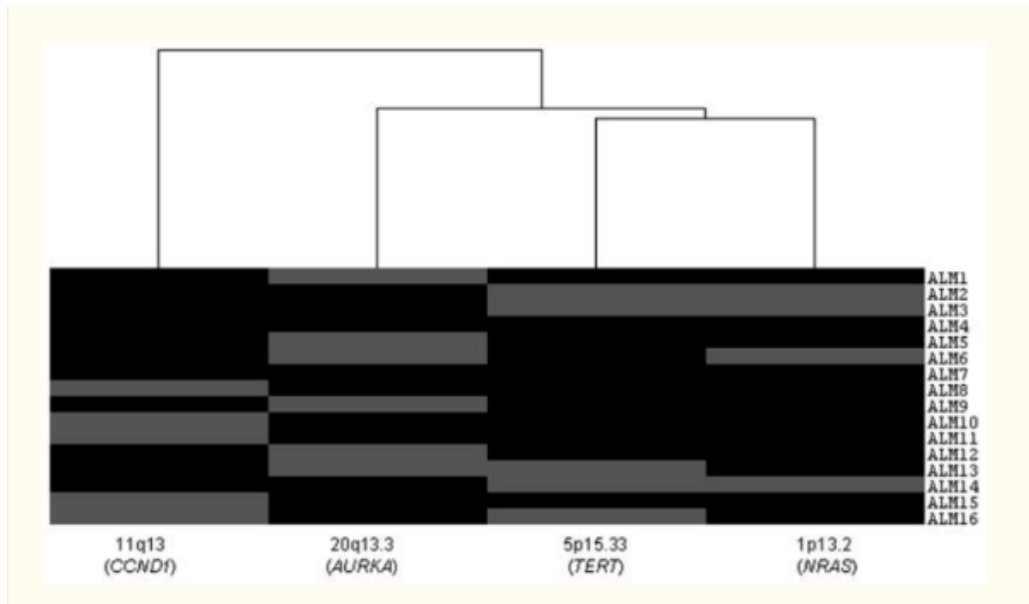


Figura 36. Clasificación de subgrupos de melanoma acral lentiginoso. Distribución de ganancias cromosómicas recurrentes (11q13, 20q13.5, 5p15.33, 1p13.2). La amplificación de un locus genético específico se resalta en gris. (Puig-Butillé, Joan Anton et al. *Genetic Alterations in RAS Regulated Pathway in Acral Lentiginous Melanoma*. Exp Dermatol. 2013)

Melanoma de mucosas

Una de las características genéticas más notorias del melanoma de mucosas es la carga mutacional más baja en comparación con el melanoma cutáneo. Con un promedio de 86.495 variantes de nucleótido simple por tumor, el melanoma cutáneo posee una de las cargas mutacionales somáticas más altas en cuanto a cáncer se refiere. En contraste, el melanoma de mucosas tiene un promedio de 8.193 variantes por tumor, una diferencia 10 veces menor. Esta discrepancia refleja el hecho de que diferentes factores lleven a la oncogénesis en los dos tipos de melanoma mencionados. Los tumores relacionados a exposiciones mutagénicas crónicas, como lo es el caso del tabaco en el cáncer de pulmón y la radiación UV en el melanoma, se asocian a rangos más altos de mutaciones somáticas. Por otro lado, la genética del melanoma de mucosas se parece a la de tumores con cargas mutacionales relativamente bajas (p.e, mama y próstata).⁷¹ Adicionalmente, el melanoma cutáneo contiene abundantes dímeros de pirimidina (transiciones citosina-timina C-T), lo cual no se observa en el tipo de melanoma discutido en este apartado.⁷⁷

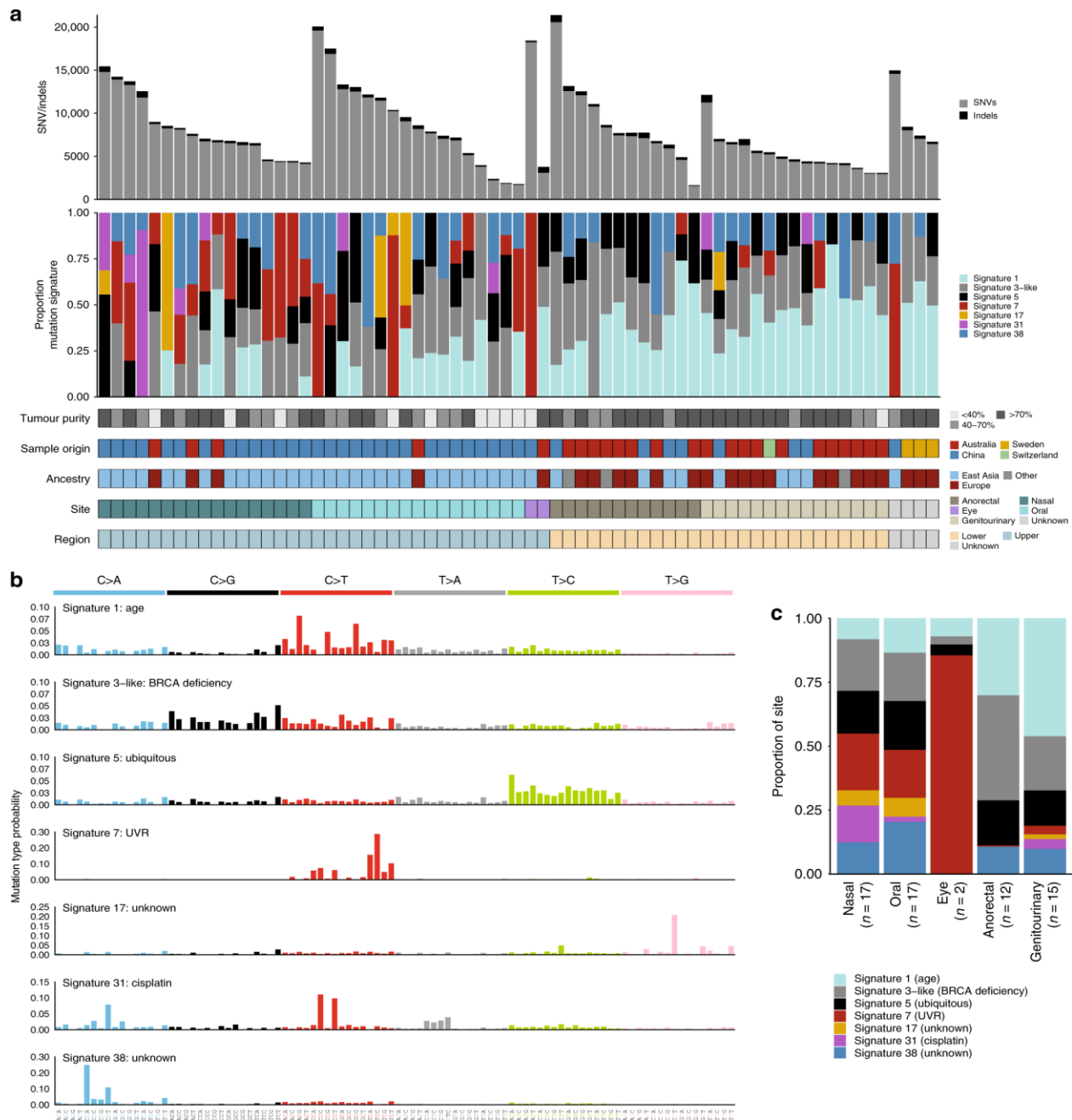


Figura 37. Biología molecular del melanoma de mucosas. A. Carga mutacional y proporción de mutaciones por tejido. La pureza genética del tumor, el país de origen, sitio y región por muestra se clarifica debajo. B. 7 “firmas mutacionales” se identificaron en la cohorte denominada WGS. Para cada “firma”, se ve la probabilidad de que haya una sustitución de un trinucleótido (total de 96 contextos). Radiación ultravioleta UVR. C. Proporción de cada “firma genética” según tipo de tumor: nasal, oral, ojo, anorrectal y genitourinario. (A. Lerner Benjamin et al. *Mucosal Melanoma: New Insights and Therapeutic Options for a Unique and Aggressive Disease*. Vol 31. Nov 2017.

Melanoma meníngeo

Los casos en pacientes jóvenes se relacionan con melanosis neurocutánea (condición que asocia la presencia de nevus melanocíticos múltiples y tumores melanocíticos de leptomeninges). Con frecuencia se detectan mutaciones del oncogen NRAS, especialmente en el codón 61. También se observa la mutación BRAF^{V600E}, pero está menos descrito. Este tumor se caracteriza por ser radiorresistente con un pronóstico muy pobre.⁵¹

Melanoma de células balonizadas

Se han enviado varios tumores a efectuar pruebas genéticas, obteniendo un perfil compuesto por 23 genes de importancia, los cuales se encuentran en estudio.⁷⁸

Sarcoma de células claras

Estos tumores tienen una translocación entre el gen ATF1 en el cromosoma 12 y el gen EWS en el cromosoma 22 (t(12;22) (q13;q12), la cual no se ve en melanoma. Asimismo, este tumor suele tener un número de cromosomas diploide y muestra menos aneuploidía en comparación con el melanoma metastásico a tejidos blandos, su principal diagnóstico diferencial.⁴⁰

Técnicas de diagnóstico molecular

En conjunto con la histopatología, los laboratorios de biología molecular tienen a su disposición técnicas utilizadas como una herramienta adjunta diagnóstica y pronóstica muy importante en melanoma.⁷⁰

Por citar algunos ejemplos, se encuentran: el análisis de copias cromosómicas por medio de hibridación con fluorescencia in situ, análisis de biomarcadores de alteraciones epigenéticas por medio de aplicación de la inmunohistoquímica, estudio de perfiles genéticos, etc. Un método en particular importante, y cuya practicidad ha ido ganando adeptos, es la secuenciación del ADN.⁵⁵

Análisis cromosómico	FISH (Hibridación in situ) Útil particularmente en conocer deleción homocigota de 9p21, la cual es la insignia del tumor de Spitz atípico. Sirve para analizar el riesgo de metástasis en estos tumores.	Hibridación genómica comparativa A diferencia del FISH que determina mutaciones específicas, la HGC detecta variaciones en el número de copias de un cromosoma (pleudía), y puede ayudar a discernir una lesión nevomelanocítica benigna de un melanoma cutáneo.
Expresión de perfiles genéticos	Decision Dx-Melanoma (Castle Biosciences, Friendswood, Texas) Se utiliza una vez que el diagnóstico de melanoma ya fue establecido. Se cimienta en un ensayo de ARN (transcriptasa reversa) para encontrar un perfil de 28 genes relevantes en melanoma.	myPath Melanoma (Myriad Genetics, Salt Lake City, Utah) También es un método de transcriptasa reversa, pero evalúa 23 genes con base en la aplicación de un algoritmo que asigna varios rangos de expresión para cada gen. Importante para discriminar entre lesiones melanocíticas benignas y melanoma.
Biomarcadores de cambios epigenéticos	H3K27me3 (trimethylated histone 3, lysine 27) Expresión aumentada en el frente invasor de la fase vertical de crecimiento. (marcador putativo de células madre).	EZH2 (enhancer of zeste homolog 2) Su expresión se asocia con infiltración linfocítica intratumoral.

Tabla 16. Ejemplos de avances en el estudio de la biología molecular del melanoma. (Lee, Jonathan y Lian, Christine. *Molecular Testing for Cutaneous Melanoma: an Update and Review*. Arch Pathol Lab Med—Vol 143, July 2019.)

Secuenciación del ADN

Secuenciar el ácido desoxirribonucleico (ADN) es crítico para establecer desórdenes genéticos causados por mutaciones específicas que inducen al cáncer. La pirosecuenciación es en sí una de estas técnicas moleculares de secuenciación.⁷²

Es menos compleja que la secuenciación de Sanger, en donde se usan didesoxinucleótidos que carecen del grupo hidroxilo –OH en el carbono 3. A su vez, posee menos pasos y tiene un límite de detección mayor.¹³

La historia sobre la invención de esta técnica se remonta a los esfuerzos científicos de Pal Nyrén PhD, quien demostró en 1987 que la cantidad de ADN de una muestra es directamente proporcional a la cantidad de luz producida en una serie de reacciones químicas. Posteriormente,

Edward Hyman PhD capitalizó el trabajo del Dr. Nyrén al inventar el aparato de pirosecuenciación, empero, se ocuparon más años para que la técnica de biología molecular fuera comercializada.⁷³

Sus fundamentos teóricos se basan en el hecho de que el pirofosfato (P_2O_7) se libera de una reacción química cuando se añade desoxiribonucleótido trifosfato (compuesto por una base nitrogenada, oxígeno y tres fosfatos) al extremo de una cadena de ADN en formación o naciente. Como se van añadiendo desoxiribonucleótido trifosfatos paulatinamente y se monitoriza con exactitud la concentración de pirofosfato producida, la secuencia de ADN puede ser determinada. Después, en otras dos reacciones químicas más, el P_2O_7 se convierte en adenosina trifosfato (ATP), un cofactor para la enzima luciferasa, la cual oxida la luciferina a oxiluciferina y produce luz.⁷³

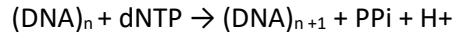


Figura 38. Ecuación química propuesta para la pirosecuenciación. (T. Harrington Colleen et al. *Fundamentals of Pyrosequencing*. Arch Pathol Lab Med—Vol 137, September 2013)

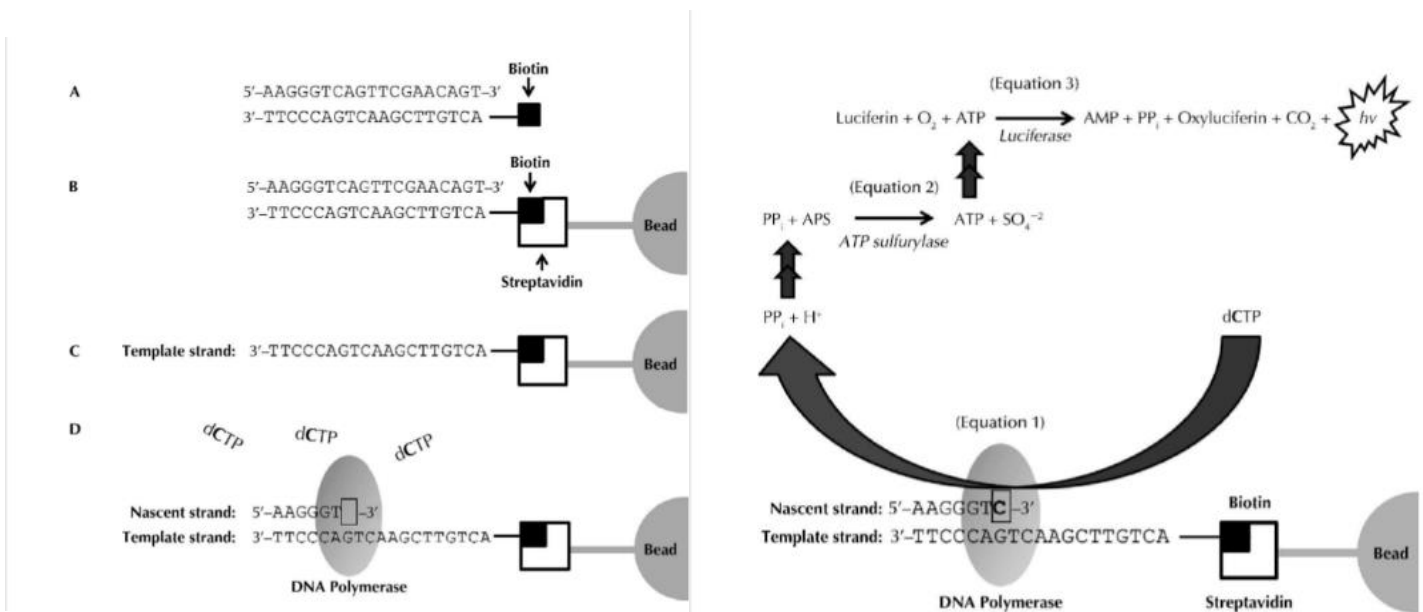


Figura 38. Izquierda. Pasos de la pirosecuenciación. A. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se amplifica el ADN utilizando una secuencia iniciadora reversa marcada con biotina. B. El producto de PCR se une a la streptavidina (proteína con alta afinidad para biotina) y a su vez a unas partículas conocidas como perlas. C. Se inmovilizan las perlas con un magneto. Se desnaturaliza el ADN, y la hebra de arriba de ADN se lava o remueve.

D. Se alinea una secuencia complementaria (5'-AAGGGT-3') y si se adiciona un desoxinucleótido trifosfato (dNTP) correcto, en este caso dCTP, la polimerasa lo incorporará a la cadena de ADN naciente unida al recuadro de la figura. Nota: los complejos streptavidina-biotina (unas de las uniones no covalentes más fuertes que existen en la naturaleza, son extensamente utilizados en biología molecular por ser resistentes a: enzimas proteolíticas, disolventes orgánicos, detergentes y desnaturizantes, así como temperaturas y ph extremos. Derecha. Reacciones químicas de la pirosecuenciación. Conforme se van añadiendo dNTPs, se libera un pirofosfato inorgánico (PPi). Esto inicia una cadena de reacciones enzimáticas que llevan ultimadamente a la producción de luz (hv). Junto con el PPi, se genera un hidrogenión H⁺. Abreviaciones: AMP: adenosina monofosfato, APS: adenosina 5' fosfosulfato, ATP: adenosina trifosfato, CO₂: dióxido de carbono, O₂: oxígeno, SO₄⁻²: sulfato. (T. Harrington Colleen et al. *Fundamentals of Pyrosequencing*. Arch Pathol Lab Med—Vol 137, September 2013)

Después, un equipo automatizado toma esas longitudes de onda debidas a la producción de ADN y las convierte en una gráfica que compara la secuencia de ADN base con la secuencia del paciente, para determinar si la mutación más clásica de melanoma, BRAF^{V600E} (c.1799T>A), está presente o no.⁷⁴

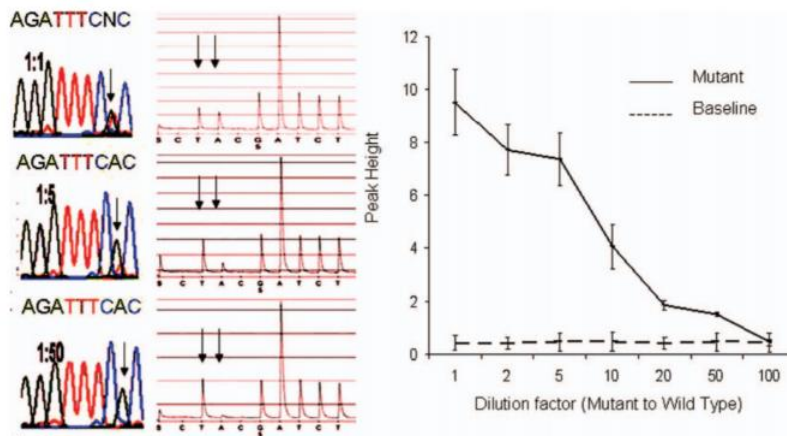


Figura 39. Detección de BRAF_{V600E} en muestras con la mutación presente: a la izquierda utilizando secuenciación dideoxinucleótido y pirosecuenciación en la imagen del medio. Las variaciones de las pares de bases se señalan con flechas. A la derecha, una gráfica que coteja muestras de ADN mutante diluidas con ADN wild type en 100 veces. En el eje de las “y” se representan los picos de señal de las ondas. La línea continua indica las señales mutantes y la línea discontinua la señal control. (Tan Yi Hui et al. *Detection of BRAF^{V600E} mutation by Pyrosequencing*. Pathology (April 2008) 40(3), pp. 295–298)

La secuencia de pasos en la que interviene el patólogo es la siguiente:⁵⁷

1. Se toma una de las láminas con tinción HE (hematoxilina-eosina) que contenga el tumor. Luego, se selecciona un área que sea representativa.

2. Del bloque parafinado correspondiente a esa lámina, se obtienen 5 láminas desparafinadas y cargadas de 5 μm de grosor.
3. A partir de esta muestra, se procederá a aislar el ADN y proseguir con la pirosecuenciación como fue expuesta anteriormente.

TRATAMIENTO DEL MELANOMA

Los abordajes actuales para el tratamiento de melanoma incluyen: resección quirúrgica, quimioterapia, terapia fotodinámica, inmunoterapia, bioquimioterapia y terapia blanco. La estrategia terapéutica puede utilizar agentes solos o en combinación con otros medicamentos, dependiendo de factores como: la edad del paciente, estadio de la enfermedad y localización tumoral.⁷⁵

La eficiencia de estas drogas puede verse reducida por la aparición de diversos mecanismos de resistencia. No obstante, han surgido nuevas promesas en el tratamiento de esta enfermedad derivados de los estudios en las principales vías moleculares implicadas en su patogénesis.⁶⁵

Dichas terapias se expondrán brevemente.

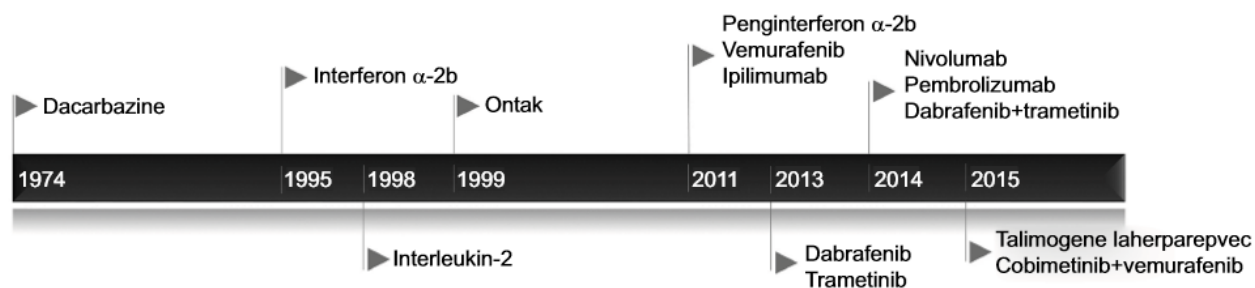


Figura 40. Medicamentos aprobados por la FDA para el tratamiento de melanoma. La dacarbazina fue el primer medicamento aprobado (en 1974), seguida del interferón α -2b, interleucina 2 y Ontak en los años 90. Entre el 2011 y el 2015, se aprobaron 10 terapias, incluyendo: inhibidores selectivos, anticuerpos y terapias blanco combinadas (Domingues et al. *Melanoma Treatment in Review*. *ImmunoTargets and Therapy*. 2018;7 35–49).

Terapia blanco

Aproximadamente un 70% de los pacientes con melanoma cutáneo presentan mutaciones en genes claves pertenecientes a diversas vías de señalización. Estas mutaciones oncogénicas se asocian una mayor proliferación celular y a progresión de la enfermedad, por lo que la terapia blanco se define como un grupo de moléculas o anticuerpos que inhiben estas proteínas mutadas.⁷³

Inhibidores de BRAF

Son el Vemurafenib, el Dabrafenib y el Encorafenib, siendo el Vemurafenib el primero de ellos en ser aprobado por la FDA en 2011. Comparado con la quimioterapia, el Vemurafenib actuó de manera positiva en los melanomas que contenían las mutaciones BRAF^{V600E/K}. El efecto neto fue de una supervivencia libre de progresión mayor, 90% de regresión tumoral y aumento de la supervivencia en general. El Dabrafenib se da en pacientes con melanoma irreseccable o metastásico.¹³

El atacar y evitar la activación de las tirosín kinasas constituye una diana de tratamiento en melanoma, lastimosamente, los efectos clínicos son limitados por la rápida aparición de mecanismos que contrarrestan la inhibición, como lo son: activación constitutiva de las tirosín kinasas, expresión de las kinasas CRAF y COT1, expresión de otras mutaciones de BRAF, la puesta en marcha de otras vías de señalización (MEK, Akt1 y NRAS) y pérdida de heterocigosidad del PTEN.¹³

Los pacientes con mutaciones de NRAS no son candidatos de recibir inhibidores de BRAF. Los efectos adversos cutáneos más notorios del uso de estos medicamentos son: el desarrollo de otro tumor de piel (carcinoma epidermoide y basocelular), mientras que los efectos adversos no cutáneos más comunes son: cefalea, altralgias, fatiga y diarrea.⁵⁵

Inhibidores de MEK

Se usan como una estrategia válida en pacientes que adquieren resistencia a los inhibidores de BRAF, ya que MEK es una cascada de señalización abajo del oncogen BRAF. El Trametinib, un inhibidor farmacológico de MEK1/2, es el más famoso de estos fármacos. Al contrario de los inhibidores de BRAF, los inhibidores de MEK son útiles en pacientes con melanomas que contienen mutación de NRAS. Los efectos adversos más comunes del Trametinib son: diarrea, vómito y

edema periférico. Al igual que el Dabrafenib, su indicación es clara: pacientes con melanoma irresecable o metastásico.⁵⁵

Inhibidores de c-KIT

Las mutaciones del gen c-kit se dan a nivel de varios exones y pueden llevar a la activación constitutiva de este receptor. El c-kit puede activar además a la vía de la MAP kinasa, así como la vía PI3K/Akt. El Imatinib es un inhibidor oral de c-kit, se utiliza en melanoma metastásico y tiene una tasa de respuesta del 30%, con una prolongación de la sobrevida de 3 a 4 meses.⁷²

Inhibidores de VEGF

Los melanomas expresan niveles altos de una variedad de factores de crecimiento vascular endotelial (VEGF, VEGF-R1, VEGF-R2 y VEGF-R3), lo cual se asocia con un pobre pronóstico, supresión inmune y el desarrollo de neovascularización tumoral. El Bevacizumab es un anticuerpo monoclonal dirigido contra el VEGF, neutralizando el crecimiento tumoral. En un estudio de brazo simple fase II, el uso de Bevacizumab junto con Temozolomida tuvo una respuesta objetiva del 16%, un control de la enfermedad del 52% y un alargamiento de la sobrevida de 9.6 meses.⁷⁵

Inhibidores de la vía de señalización PI3K-Akt-mTOR

mTOR (una proteína quinasa), forma dos complejos proteicos (mTOR1 y mTOR2). El primer complejo activa una señal cascada abajo conocida como PI3K/Akt.⁷³

Esta secuencia de iniciación se acompaña de mutaciones de BRAF, confiriendo un pobre pronóstico. El uso de PI-103, un inhibidor de PI3K, junto con el inhibidor de mTOR Rapamicina, pueden bloquear efectivamente el crecimiento de las células tumorales e inducir autofagia de las mismas. Los estudios señalan que este tipo de fármacos producen un rango de apoptosis más alto que los inhibidores de BRAF o de MEK.⁷⁵

Inhibidores de kinasas dependiente de ciclinas (CDK)

Una nueva generación de inhibidores selectivos de CDK4/6 (Ribociclib, Abemaciclib y Palbociclib) han comprobado ser efectivos y con pocos efectos adversos. El Abemaciclib ha inducido regresión en pacientes resistentes a inhibidores de BRAF (Vemurafenib), pues dichos melanomas tienen una mayor expresión de niveles de ciclina D1 y reactivación de la vía de la MAP kinasa.

Aún más importante que el tratamiento, es la adecuada selección del tipo de paciente, ya que esta medicación es más efectiva en pacientes con melanomas familiares (estos pacientes presentan mutaciones germinales de CDK).⁷⁰

Inhibidores de ErbB4

ErbB4 pertenece a una familia de receptores tirosín quinasa. Las mutaciones de este receptor se asocian a una actividad tirosín quinasa aumentada y a una mayor habilidad de los melanocitos de experimentar una transformación maligna. Algunos estudios experimentales han demostrado que las células que se exponen al inhibidor de ErbB lapatinib, muestran una reducción en el crecimiento celular maligno.⁷⁵

En la figura 42 se muestra un esquema de las terapias blanco existentes en melanoma.

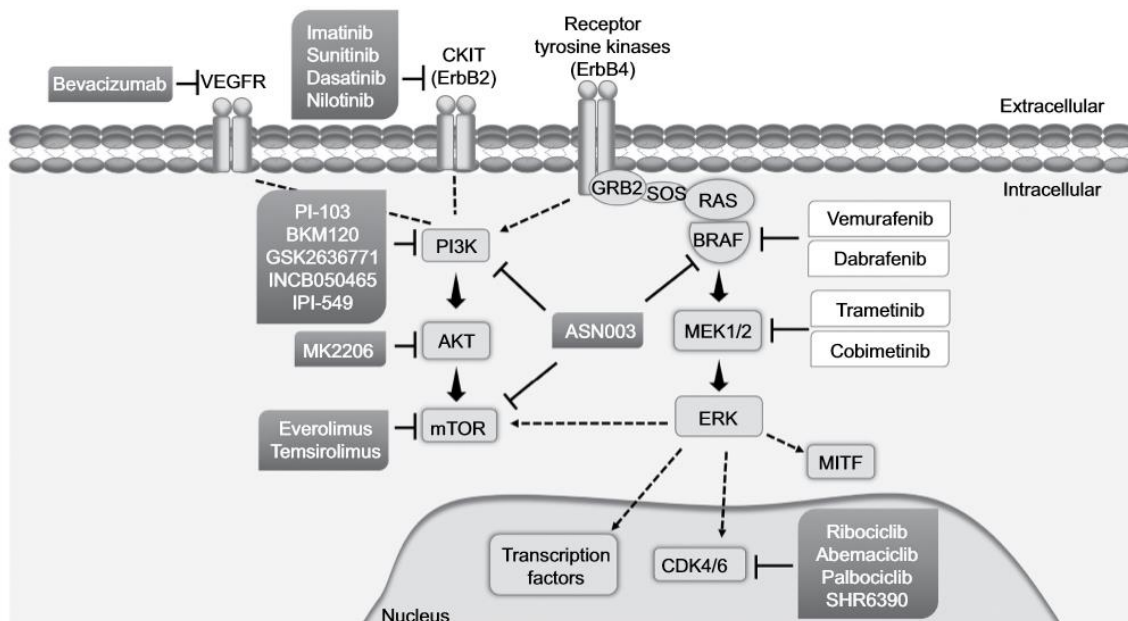


Figura 41. Terapias aprobadas por la FDA para el tratamiento del melanoma cutáneo. (en blanco las que están aprobadas y en gris las que se encuentran bajo estudio experimental- En blanco: Vemurafenib, Dabrafenib, Trametinib, y Cobimetinib. En gris: Imatinib, Sunitinib, Dasatinib, Nilotinib, Bevacizumab, PI-103, BKM120, GSK2636771, INCB050465, IPI-549, MK2206, Everolimus, Temsirolimus, Ribociclib, Abemaciclib, Palbociclib, SHR6390 y ASK1). Las mutaciones específicas o los oncogenes claves utilizados como blancos de cada terapia producen: proliferación celular, progresión en el ciclo celular y un fenotipo maligno. Los pacientes diagnosticados con melanoma pueden beneficiarse de terapias combinadas, empleando dos terapias blanco, o bien, una terapia

blanco junto con terapia adyuvante o quimioterapia. Abreviaciones: FDA, US Food and Drug Administration, mTOR, mammalian target of rapamycin, VEGFR, vascular endothelial growth factor, ERK, extracelular regulated kinase, MITF: microphthalmia associated transcription factor, CDK, cyclin dependent kinase, PI3K, phosphatidylinositol-3-OH kinase. (Domingues et al. *Melanoma Treatment in Review*. ImmunoTargets and Therapy. 2018;7 35–49)

Quimioterapia

Dacarbazina

Es un agente alquilante y la quimioterapia estándar para el melanoma metastásico. Los estudios han reportado que una respuesta completa se ha logrado en menos del 5% de los casos y que la supervivencia a 5 años es del 2 al 6%.⁷⁰

Temozolomida (TMZ)

Compuesto químico considerado como pro droga oral. Contiene el metabolito activo de la Dacarbazina y ha sido empleado en melanoma avanzado. En comparación con Dacarbazina, sólo ha mostrado una reducción leve en la supervivencia libre de progresión.⁷⁵

Electroquimioterapia

Método que emplea el uso de medicamentos citotóxicos como la bleomicina y el cisplatino, junto con el uso de pulsos eléctricos de alta intensidad, lo cual facilita que los medicamentos lleguen a las células. Tiene una tasa de respuesta del 85% y se reportan pocas recurrencias locales; se cree que es porque destruye los vasos linfáticos regionales, aunque faltan más estudios al respecto.⁵⁷

Terapia fotodinámica

Terapia adyuvante prometedora. Puede utilizarse como tratamiento paliativo en pacientes con enfermedad metastásica en estadios III/IV. Al ser un procedimiento mínimamente invasivo, se requiere un fotosensibilizador (PS), el cual emplea una longitud de onda (luz) específica. Esta luz se absorbe por los tejidos metabólicamente activos, generando especies reactivas de oxígeno (ROS) que causarán un daño irreversible a las células tumorales y al torrente sanguíneo que suple al tumor.⁷⁵

Inmunoterapia

En el siglo XIX, por primera vez se propuso que el cáncer y el sistema inmune podían estar relacionados, al verse, por ejemplo, la aparición de tumores en sitios del cuerpo expuestas a inflamación crónica. Se ha concluido que la respuesta linfocítica T es la más importante en lidiar contra las células neoplásicas, sin embargo, las mismas suelen escapar a la respuesta inmune porque carecen de expresión de B7 y no pueden incitar una respuesta T en su contra (las moléculas B7 son glucoproteínas de estructura similar a las de las inmunoglobulinas que actúan como receptores en la membrana de las células presentadoras de antígeno). En melanoma suele haber tasas de resistencia primaria o adquirida a la inmunoterapia.⁵⁷

Interferón (IFN) α -2b

Los interferones son citoquinas secretadas por los leucocitos. Estas proteínas de señalización son capaces de inducir un efecto inmunomodulador, antiangiogénico, antiproliferativo, y antitumoral.⁷⁰

El interferón activa múltiples células del sistema inmune, como: linfocitos T, linfocitos B, linfocitos, NK (natural killers), células dendríticas y otras más.⁷⁰

Una dosis alta de Interferón (IFN) α -2b fue aprobada en 1995 para melanomas resecaos quirúrgicamente con estadios IIB/III. Este compuesto estimula la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad clase I en las células neoplásicas, ocasionando una inhibición de la proliferación, con un efecto pro-apoptótico dosis dependiente. El mayor factor de sensibilidad al interferón es la presencia de ulceración en el melanoma.⁷²

Peginterferón α -2b (Peg-IFN)

Terapia adyuvante para melanomas estadio III. Es la combinación de IFN α -2b con la molécula polietilenglicol. Mejora el efecto terapéutico del interferón al quedarse más tiempo en el torrente sanguíneo. Los efectos adversos más comunes son: toxicidad hepática, neutropenia, dermatosis y anemia. Las únicas toxicidades significativas son la linfopenia e hiponatremia.⁷⁵

Interleukina 2 (IL-2)

Citoquina capaz de expandir los efectos de las células T efectoras y los reguladores de linfocitos T (Tregs). Un metaanálisis reciente reportó una respuesta completa muy baja (4%), así como una respuesta parcial de 12.5%, y una respuesta total de 19.7%. Los efectos adversos más importantes derivados de su uso son: hipotensión, taquicardia, edema periférico, daño orgánico multisistémico reversible y arritmias cardíacas.⁶⁵

Inhibición de reguladores Treg (Ontak)

Los factores reguladores de los linfocitos T efectoras inhiben la respuesta inmunológica antitumoral, y cuando aparecen en pacientes con melanoma, suelen ser un indicador de pobre pronóstico clínico. El Ontak, aprobado en 1999 por la FDA para el tratamiento de melanoma, constituye la fusión de la IL-2 con la toxina de la difteria. De esta forma, elimina selectivamente los Tregs que expresen el receptor de IL-2 en el torrente sanguíneo. Un estudio fase II con pacientes que portaban melanoma en estadio IV mostró una respuesta parcial del 16.7%, no progresión de la enfermedad en el 5%, y 15% de respuestas mixtas.⁷⁵

Bloqueo del antígeno 4 asociado a linfocitos T citotóxicos (CTLA-4)

El CTLA-4 es un receptor inhibitorio de puntos de control del ciclo celular, que bloquea la activación de linfocitos T y produce inmunotolerancia. Los anticuerpos anti CTLA-4 (Ipilimumab) actúan como antagonistas, bloqueando el efecto inhibitorio, por ende, aumentando la producción de citoquinas proinflamatorias. El efecto final es una expansión clonal de linfocitos T que atacarán las células del tumor. Se ha comprobado que el Ipilimumab posee una eficacia como monoterapia, alargando la supervivencia de los pacientes con melanoma hasta en 10.1 meses. Para que el paciente sea meritorio de tratamiento con esta droga, se deben cumplir ciertos criterios inmunológicos. Los efectos adversos simulan algunas enfermedades como: dermatitis, colitis, hepatitis inducida por fármacos, endocrinopatías y neuritis (con dosis altas). Actualmente se están efectuando ensayos clínicos de Ipilimumab y Tremelimumab (otro anti-CTLA-4) en conjunto con: quimioterapia, radioterapia y otras inmunoterapias.⁷⁵

Bloqueo de la proteína 1 de muerte celular programada (PD-1) o del ligando de muerte celular programada (PD-L1)

El receptor PD-1 se une a los ligandos PD-L1 y PD-L2 y actúa como una molécula coinhibitoria de linfocitos T, suprimiendo la activación de los mismos. Recientemente se ha destacado la importancia de tinciones de inmunohistoquímica como un marcador predictivo para medir el grado de respuesta a tratamiento anti PD-1.⁶¹

El Nivolumab, un anticuerpo monoclonal de alta afinidad que inhibe la unión del receptor de PD-1 con sus ligandos PD-L1 y PD-L2, fue aprobado en 2014 por la FDA para tratar a pacientes con metástasis de melanoma, reduciendo la progresión tumoral. La combinación de Nivolumab con Ipilimumab ha logrado prolongar la supervivencia de los pacientes en 11.5 meses, lo cual es superior a varias monoterapias. En 2015 fue introducido al mercado otro agente, el Pembrolizumab, empleado para tratar a pacientes con melanoma que han desarrollado resistencia al Ipilimumab.⁶⁵

Los efectos adversos más comunes son: fatiga, diarrea, prurito, altralgias, cefaleas y brotes epidérmicos.⁶⁵

Terapia con virus oncolíticos

En el 2015 la FDA aprobó el primer virus oncolítico para el tratamiento del melanoma. El compuesto se llama talimogéno laherparepvec (T-VEC), un virus herpes simplex tipo 1 modificado.¹²

Esta cepa no patogénica se inyecta directamente en un nódulo metastásico de melanoma y mientras entra a células normales y malignas, sólo se replica en las células malignas, causando lisis tumoral y produciendo antígenos tumor específicos. Estos antígenos son reconocidos por células presentadoras de antígeno, activando respuestas inmunológicas T específicas.⁷⁵

Vacuna de péptido gp100

Gp100 es una glicoproteína expresada únicamente por las células de melanoma. Con excepción de los melanocitos epidérmicos y las células de la retina, no se expresa en tejidos normales. Gp100 es reconocida por los linfocitos T citotóxicos (CTLs), por lo que la administración de epítopos (fragmentos proteicos) de gp100 pueden aumentar la actividad de CTLs. Los modelos preclínicos

de este fármaco mostraron que el uso del péptido como monoterapia es insatisfactorio, así que su rol terapéutico podría ser más bien el de un agente adyuvante de uso combinado.⁷⁴

Agonistas de receptores tipo Toll

Los receptores tipo Toll son glicoproteínas de membrana tipo I que pertenecen a una superfamilia conocida como IL-1R. Estas glicoproteínas, cuando se activan, llevan a la producción local de citoquinas como el IFN- α y la IL-12. Esta activación mejora la respuesta inmune antitumoral. El Resiquimod, un agonista de TLR7/8, al ser utilizado como terapia adyuvante, puede iniciar una respuesta mieloide y de células dendríticas plasmocitoides, que en última instancia se ha probado que ayudan en la regresión de metástasis en tránsito de melanoma.⁵⁷

Terapia adoptiva de células T (ACT)

En este tipo de terapia se les dan infusiones a los pacientes con un número grande de linfocitos T específicos contra melanoma, aunque la generación de estas células es difícil y consume tiempo. La actividad antitumoral de ACT no se entiende por completo, pero podría estar relacionada a: supresión de Tregs, activación de citoquinas y erradicación de factores inmunosupresores en el huésped. Para que la terapia funcione, los linfocitos T deben proliferar, cumplir sus funciones efectoras y formar células de memoria.⁷²

En semejanza con la ACT, existe una terapia novedosa para tratar tumores sólidos como el melanoma, conocida como CARs (receptores antigénico quiméricos de linfocitos T).

Los CARs están compuestos de un dominio extracelular, en otras palabras, una cadena o fragmento de un anticuerpo que reconoce antígenos hechos de lípidos, proteínas o carbohidratos. Además, se tiene un dominio transmembrana, y un dominio de señalización intracelular, que usualmente es la cadena zeta CD3 de los linfocitos T. Esto lleva a los linfocitos T a destruir a las células de melanoma, pero previamente al paciente debe de aplicársele una infusión con linfocitos T activados y genéticamente modificados con vectores retrovirales o plásmidos para generar los CARs.⁷⁵

Bioquimioterapia

Es la mezcla de quimioterapia convencional e inmunoterapia. El abordaje más común es el uso de dacarbazina/cisplatino (induce daño directo al ADN y señales apoptóticas), así como vinblastina (se dirige contra los microtúbulos de la célula) más IL-2 e IFN α -2b.⁸²

CONCLUSIONES

Después de realizar esta exhaustiva revisión, queda claro que el melanoma es una de las neoplasias con mayor grado de malignidad que existe, pues sus células adquieren la capacidad temprana de dar metástasis a ganglios linfáticos y a órganos distantes, disminuyendo con ello el tiempo de sobrevida del paciente.

El diagnóstico confirmatorio del melanoma es histopatológico y, si bien se cuenta con criterios citológicos y arquitecturales bien definidos para el estudio de esta enfermedad bajo el microscopio, la gama de lesiones nevomelanocíticas es muy diversa y plantea un importante reto para el patólogo, profesional que debe comprometerse en estudiar a cabalidad este tipo de lesiones en pos del bien del paciente. Asimismo, el entendimiento de los rasgos histopatológicos es preciso para poder dar un diagnóstico certero.

El melanoma cutáneo de extensión superficial es el más común, sin embargo, se describen otras lesiones como el melanoma lentigo maligno, el cual se localiza en sitios como la cara, donde representa un reto para el cirujano a cargo de remover la lesión. Esto por encontrarse en un sitio cosméticamente delicado. También se tiene al melanoma acral y el melanoma de mucosas, dos variantes que brindan el mayor grado de agresividad, así como un pronóstico pobre para el paciente.

Aparte del melanoma cutáneo, se describen tumores en sitios anatómicos distintos, como lo es el ojo, lo cual atañe el entendimiento de la histología de dicho órgano y la aplicación de criterios distintos en su abordaje diagnóstico.

Un adecuado y completo reporte sinóptico por parte del patólogo es necesario para que los médicos tratantes se den una idea del estadio de la enfermedad en el paciente, además de la mención de factores pronósticos independientes (p.e: Breslow, ulceración). Para ello es necesario estar al tanto de las guías propuestas por entidades mundialmente reconocidas en el estudio del cáncer, como el American Joint Committee on Cancer (AJCC). El manejo adecuado de la pieza quirúrgica por parte del patólogo también es trascendental en lograr un adecuado reporte.

La técnica de ganglio centinela tiene una utilidad bien establecida en el índice pronóstico de metástasis de melanoma con Breslow mayor a 1 mm o melanoma con enfermedad local, por lo

que deben conocerse estos criterios de inclusión para no aplicar la técnica erróneamente a pacientes que no se benefician de dicho abordaje.

La biología molecular del melanoma es altamente compleja, por lo que la rama molecular de la patología es muy útil en el estudio de esta enfermedad. El propósito de la patología molecular es el de dilucidar los mecanismos de la enfermedad por medio de la identificación de alteraciones moleculares y genéticas, utilizando conceptos derivados de disciplinas como: la proteómica, genética, bioquímica, medicina clínica y patología. Así, al entender la patogénesis del melanoma, se pueden desarrollar nuevas modalidades de tratamiento.

El principal reto de estas terapias se deriva en que: es necesario desarrollar biomarcadores séricos (para detectar mutaciones específicas) que indiquen qué pacientes se benefician de un tipo específico de terapia blanco, así como utilizar dosis adecuadas que rindan efecto pero que no den tantos efectos nocivos en el paciente. Por otro lado, se tiene el desarrollo de mecanismos de resistencia a estas terapias dirigidas, así que pareciera que el mejor método de contrarrestar este fenómeno es el dar los medicamentos de forma sinérgica (quimioterapia, inmunoterapia y terapia blanco).

Como punto final, aunque el melanoma tiene una incidencia baja en el país, las estadísticas aún no son concisas, y esta neoplasia acarrea una gran mortalidad.

Sería de gran aporte poder lograr una casuística interhospitalaria en nuestro país, la cual permitiera recabar datos epidemiológicos y clínicos, los cuales a su vez logren extrapolarse a la información de otros países, con el fin de poder participar en ensayos clínicos o desarrollar estudios experimentales.

BIBLIOGRAFÍA

1. www.pathologyoutlines.com/superficialspreadingmelanoma/conjunctivalmelanoma.
2. Glusac J., Earl. *The Melanoma 'Epidemic', a Dermatopathologist's Perspective*. J Cutan Pathol 2011; 38: 264–267.
3. Guerriere-Kovach, Pamela M., et al. *Primary Melanoma of the Skin and Cutaneous Melanomatous Metastases: Comparative Histologic Features and Immunophenotypes*. Am J Clin Pathol 2004;122:70-77.
4. Patterson W., James. *Weedon's Skin Pathology*. Fourth Edition. Churchill Livingstone-Elsevier,2016. p 866-893.
5. E. Mills, Stacey. *Histology for Pathologists*.Lippincott Williams and Wilkins. Fourth Edition.2012. p.3-23.
6. Gandini, Sara et al. *Meta-analysis of Risk Factors for Cutaneous Melanoma: I Common and Atypical Naevi*. European Journal of Cancer 41 (2005) 28–44.
7. Matthews H., Natalie. *Epidemiology of Melanoma*. Cutaneous Melanoma:Etiology and Therapy. Chapter 1. Lippincot Williams. 2017. p235-245.
8. Smoller R., Bruce. *Histologic Criteria for Diagnosing Primary Cutaneous Malignant Melanoma*. Modern Pathology (2006) 19, S34–S40.
9. Filosa, Alessandra, Filosa, Giorgio. *Melanoma Diagnosis: The Importance of Histopathological Report*. Dermatopathology 2018;5:41–43.
10. Gandini, Sara et al. *Meta-analysis of Risk Factors for Cutaneous Melanoma: II Sun Exposure*. European Journal of Cancer 41 (2005) 28–44.

11. Wolter J. Mooi, Krauz, Thomas. Pathology of melanocytic disorders. 2ed. 2007.
12. Prieto G., Victor PhD. *Sentinel Lymph Nodes in Cutaneous Melanoma: Handling, Examination and Clinical Repercussion*. Arch Pathol Lab Med—Vol 134, December 2010.
13. Lee J., Jonathan, Lian G., Christine. *Molecular Testing for Cutaneous Melanoma*. Arch Pathol Lab Med. 2019;143:811–820.
14. Ferrara, Gerardo et al. *Sentinel Node Biopsy in Melanoma: a Short Update*. *Dermatopathology* 2018;5:21–25.
15. 15. T. Olson, Mathew et al. *BRAF Pyrosequencing Analysis Aided by a Lookup Table*. *Am J Clin Pathol*. 2014 May ;141(5): 639–647.
16. Huynh M. Phung et al. *Numerous, Small, Darkly Pigmented Melanocytic Nevi: The Cheetah Phenotype*. (J Am Acad Dermatol 2003;48:707-13.
17. www.webpathology.com/search_result.asp/melanoma.
18. www.musculoskeletalkey.com/spitz-nevus-spitzoid-melanoma-and-atypical-spitzoid-neoplasm/2019)
19. Babino G. et al. *Dermoscopy of Melanoma and Non-Melanoma Skin Cancer*. G Ital Dermatol Venereol. 2015 Oct;150(5):507-19. Epub 2015 Jul 16.
20. Beaulieu, Derek et al. *Current Perspectives on Mohs Micrographic Surgery for Melanoma*. Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology 2018;11 309–320.
21. Chiaravalloti, A.J et al. *A Deep Look Into Thin Melanomas: What’s New For The Clinician and The Impact on The Patient*. International Journal of Women’s Dermatology 4 (2018): 119-121.
22. Ahlgrimm-Siess, Verenea et al. *Confocal Microscopy in Skin Cancer*. Curr Dermatol Rep. 2018; 7(2): 105–118.

23. Szalai, Eszter et al. *Uveal Melanoma Nuclear BAP1 Immunoreactivity is an Indicator of Metastasis: Nuclear BAP1 Immunoreactivity in Metastatic Uveal Melanoma*. *Ophthalmology* .2018 February ; 125(2): 203–209.
24. Calonje, Eduardo et al. *Mc Kee's Pathology of the Skin: With Clinical Correlations*. Elsevier Limited. 2020
25. *AJCC Cancer Stage Manual*. Octava edición. 2017.
26. Rosenkranz, A, A. et al. *Malignant Melanoma and Melanocortin 1 Receptor*. *Biochemistry (Mosc)*. 2013 November ;78(11): 1228–1237.
27. Elder, David. *Thin Melanoma*. *Arch Pathol Lab Med*. 2011;135:342–346.
28. Soura, E. et al. *Hereditary Melanoma: Update on Syndromes and Management - Genetics of Familial Atypical Multiple Mole Melanoma Syndrome*. *J Am Acad Dermatol*. 2016 March; 74(3): 395–407.
29. Van Allen, EM. *Genomic Correlates of Response to CTLA-4 Blockade in Metastatic Melanoma*. *Science*. 2015 Oct 9;350(6257):207-211.
30. Alam, Kiran et al. *FNA diagnosis of malignant melanoma-recurrent and metastatic disease*. *BMJ Case Rep*. 2012; 2012: bcr2012006887.
31. Doubrovsky, Anna et al. *Diagnostic Accuracy of Fine Needle Biopsy for Metastatic Melanoma and Its Implications for Patient Management*. *Ann Surg Oncol*. 2008 Jan; 15(1): 323–332.
32. Kasprzak, Julia M, Yaouhi G. Xu. *Diagnosis and Management of Lentigo Maligna: a Review*. *Drugs in Context* 2015; 4: 212281.
33. Dermoscopedia.org/superficial_spreading_melanoma

34. Jasaitienė, Daiva. *Metastatic Amelanotic Nodular Melanoma During Pregnancy*. Medicina (Kaunas) 2008; 44(6).
35. Leonardi C., Giulia et al. *Cutaneous Melanoma: From Pathogenesis to Therapy (Review)*. International Journal of Oncology, 52: 1071-1080, 2018.
36. Puntervoll Eknes, Hanne et al. *Melanoma Prone Families With CDK4 Germline Mutation: Phenotypic Profile and Associations With MC1R Variants*. J Med Genet 2013; 50:264–270.
37. www.cap.org/protocols/melanoma.
38. Hattori Yui et al. *Balloon Cell Malignant Melanoma in a Young Female: A Case Report and Review of the Literature*. Case Rep Oncol 2016; 9:262–266.
39. Friedman BJ, Stoner R, Sahu J, Lee JB. *Association of Clinical, Dermoscopic, and Histopathologic Findings With Gene Expression in Patients With Balloon Cell Melanoma*. JAMA Dermatol. 2018 Jan 1;154(1):77-81.
40. Goldblum R., John et al. *Enzinger and Weiss's: Soft Tissue Tumors*. Sixth Edition. Expert Consult. 2014, p. 886-894.
41. Ferrara, Gerardo et al. *Hypopigmented Atypical Spitzoid Neoplasms (Atypical Spitz Nevi, Atypical Spitz Tumors, Spitzoid Melanoma): a Clinicopathological Update*. Dermatol Pract Concept. 2015 Jan; 5(1): 45–52.
42. www.omicsonline.org
43. Toshiaki, Saida. *Histogenesis of Cutaneous Malignant Melanoma: The Vast Majority Do Not Develop From Melanocytic Nevus But Arise de Novo as Melanoma in Situ*. Journal of Dermatology 2019;1–15.
44. McLaughlin CC, Wu XC, Jemal A, et al. *Incidence of Noncutaneous Melanomas in the U.S*. Cancer. 2005;103:1000-7.
45. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. *Cancer Statistics, 2017*. CA Cancer J Clin. 2017;67:7-30.

46. Gutiérrez, VRM, Cortés L. *Confrontando el melanoma en el siglo XXI*. Med Cutan Iber Lat Am 2007; 35 (1).
47. Oliva, Marc et al. *Uveal Melanoma as a Target for Immune-Therapy*. Ann Transl Med 2016;4(9):172.
48. Mäkitie, Teemu. *Prognostic Indicators in Choroidal and Ciliary Body Melanoma*. Academic Dissertation. Department of Ophthalmology, University of Helsinki. 2001.
49. Laver V., Nova et al. *Ocular Melanoma*. Arch Pathol Lab Med. 2010;134:1778–1784.
50. Herwig C., Martina. *M2/M1 Ratio of Tumor Associated Macrophages and PPAR Gamma Expression in Uveal Melanomas with Class 1 and Class 2 Molecular Profiles*. Experimental Eye Research 107: (2013). 52-58.
51. Louis N. David et al. *WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System*. WHO Press - Editions de l'OMS - Ediciones de la OMS. 2016.
52. Edlundh-Rosea, Esther et al. *NRAS and BRAF Mutations in Melanoma Tumours in Relation to Clinical Characteristics: a Study Based on Mutation Screening by Pyrosequencing*. Melanoma Research 2006, Vol 16 No 6.
53. Puig-Butillé, Joan Anton et al. *Genetic Alterations in RAS Regulated Pathway in Acral Lentiginous Melanoma*. Exp Dermatol . 2013 February ; 22(2): 148–150.
54. Soyer,H.P et al. *Color Atlas of Melanocytic Lesions of The Skin*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2007.
55. Coleman, William, Tsongalis, Gregory. *Molecular Pathology*. Segunda edición. Elsevier. Nov 2017. p 802.
56. Stanienda-Sokol, Karolina. *Primary Locations of Malignant Melanoma Lesions Depending on Patients' Gender and Age*. Asian Pac J Cancer Prev, 2018 (11), 3081-3086.

57. Jennifer S. Ko, Loren E. Clarke, Eugen C. Minca, Krystal Brown, Darl D. Flake, Steven D. Billings. *Correlation of Melanoma Gene Expression Score with Clinical Outcomes on a Series of Melanocytic Lesions*. Yhupa (2018), <https://doi.org/10.1016/j.humphath.2018.12.001>.
58. Sarkisian, Saro, Davar, Diwakar. *MEK Inhibitors for The Treatment of NRAS Mutant Melanoma*. Drug Des Devel Ther. 2018; 12: 2553–2565.
59. Palmeri, Giuseppe et al. *Multiple Molecular Pathways in Melanogenesis: Characterization of Therapeutic Targets*. Frontiers in Oncology. August 2015. Volume 5. Article 183.
60. Hartman L., Mariusz, Czyz, Malgorzata. *MITF in Melanoma: Mechanisms Behind Its Expression and Activity*. Cell. Mol. Life Sci. (2015) 72:1249–1260.
61. Tacha, David et al. *A Newly Developed Mouse Monoclonal SOX10 Antibody Is a Highly Sensitive and Specific Marker for Malignant Melanoma, Including Spindle Cell and Desmoplastic Melanomas*. Arch Pathol Lab Med—Vol 139, April 2015.
62. Nagore, Eduardo et al. *TERT Promoter Mutations in Melanoma Survival*. Oncotarget, 2019, Vol. 10, (No. 16), pp: 1546-1548.
63. Kircher, David A. et al. *AKT1E17K Activates Focal Adhesion Kinase and Promotes melanoma Brain Metastasis*. Downloaded on May 30, 2019 from mcr.aacrjournals.org. © 2019 American Association for Cancer Research.
64. Liu, Yuxin, Sheikh, M. Saeed. *Melanoma: Molecular Pathogenesis and Therapeutic Management*. Mol Cell Pharmacol.; 6(3): 228–240.2002.
65. Melanoma Institute of Australia. *Updated Clinical Guidelines for Melanoma*. <https://www.melanoma.org.au/>

66. Manca, Antonella et al. *Mutational Concordance Between Primary and Metastatic Melanoma: A Next Generation Sequencing Approach*. *J Transl Med* (2019) 17: 289.
67. Acosta Martín, Andrés, ShriHari S. Kadkol. *Mitogen-Activated Protein Kinase Signaling Pathway in Cutaneous Melanoma: An Updated Review*. *Arch Pathol Lab Med*. 2016;140:1290–1296.
68. Tagliabue, Elena et al. *MC1R Variants as Melanoma Risk Factors Independent of at-Risk Phenotypic Characteristics: a Pooled Analysis From the M-SKIP Project*. *Cancer Management and Research* 2018;10 1143–1154.
69. Bitá et al. *Histologic Features of Conjunctival Melanoma Predictive of Metastasis and Death (an American Ophthalmological Thesis)*. *Trans Am Ophthalmol Soc* 2012; 110:64-73.
70. Cheng, Liang et al. *Molecular Testing for BRAF Mutations to Inform Melanoma Treatment Decisions: a Move Toward Precision Medicine*. *Modern Pathology* (2018) 31, 24–38.
71. Vito W., Rebecca. *A Brief History of Melanoma: From Mummies to Mutations*. *Melanoma Res*. 2012 April; 22(2): 114–122.
72. Gill, Pavandeep et al. *Utility of Multistep Protocols in the Analysis of Sentinel Lymph Nodes in Cutaneous Melanoma: an Assessment of 194 Cases*. *Arch Pathol Lab Med*. doi: 10.5858/arpa.2018.
73. Harrington T., Colleen et al. *Fundamentals of Pyrosequencing*. *Arch Pathol Lab Med*—Vol 137, September 2013.
74. Hui Tan, Yi et al. *Detection of BRAF V600E Mutation by Pyrosequencing*. *Pathology* (April 2008) 40(3), pp. 295–298.
75. Domingues, Beatriz et al. *Melanoma Treatment in Review*. *ImmunoTargets and Therapy* 2018; 7. 35–49.

76. Mattia, Gianfranco et al. *Cell Death-Based Treatments of Melanoma: Conventional Treatments and New Therapeutic Strategies*. Mattia et al. *Cell Death and Disease* (2018) 9:112.
77. Patrick RJ, Fenske NA, Messina JL. Primary Mucosal Melanoma. *J Am Acad Dermatol*. 2007; 56:828-34.
78. Pletneva, Maria A. et al. *Clear Cell Melanoma: a Cutaneous Clear Cell Malignancy*. *Arch Pathol Lab Med*. 2014;138:1328–1336.
79. Quail F., Daniela, Joyce A. Johanna. *Microenvironmental Regulation of Tumor Progression and Metastasis*. *Nature Medicine*. Volume 19/ Number11/ November 2013.
80. Rosen PP. *Are Growth Phases Exclusive to Cutaneous Melanoma?* Department of Pathology, Dermatopathology Section, Pigmented Skin Lesions, S. M. (2011) Annunziata Hospital, Via Antella 58, Antella, Florence I-50011, Italy; cylaur@tin.it
81. Shaikh R., Waqas et al. *Melanoma Thickness and Survival Trends in the United States, 1989–2009*. *JNCI J Natl Cancer Inst* (2016) 108(1): djv294.
82. Shoushtari AN, Bluth MJ, Goldman DA, et al. *Clinical Features and Response to Systemic Therapy in a Historical Cohort of Advanced or Unresectable Mucosal Melanoma*. *Melanoma Res*. 2017;27:57-64.
83. Uguen, Arnaud et al. *A p16-Ki-67-HMB45 Immunohistochemistry Scoring System as an Ancillary Diagnostic Tool in the Diagnosis of Melanoma*. *Diagnostic Pathology* (2015) 10:195.

Anexo 1

Análisis y notas aclaratorias de los elementos del reporte sinóptico de melanoma descritos en la tabla 7

- A. **Procedimiento:** la lesión debe de ser removida completamente, incluyendo todo su espesor. Los rasurados son subóptimos y deben de evitarse a menos que exista una indicación clara. Las biopsias por sacabocados pueden no incluir los bordes de la lesión y ser subóptimos también. Los factores clínicos también son muy importantes a la hora de elegir el tipo de procedimiento que le conviene a cada paciente.
- B. **Sitio anatómico:** es importante indicarlo porque dependiendo del sitio, el pronóstico suele variar.
- C. **Tipo histológico:** aparte del tipo visto en el microscopio, la clasificación más reciente de la Organización Mundial de la Salud incluyó en 2018 la clasificación tumoral basada en la cantidad acumulativa de radiación UV, la célula de origen y las características genómicas más distintivas.
- D. **Ulceración:** constituye un factor pronóstico independiente dominante en melanoma cutáneo invasor. En conjunto con el valor de Breslow, es el valor que determina el cambio de un tumor T1a ó T2a, a T1b y T2b respectivamente. Su definición es meramente histológica y es necesario que se cumplan los siguientes criterios: defecto total de la epidermis, es decir, ausencia de estrato córneo y de membrana basal, evidencia de cambios reactivos (presencia de fibrina y neutrófilos), adelgazamiento o más bien hiperplasia de la epidermis circunvecina y ausencia de ulceración traumática. La ulceración que se encuentra asociada a un melanoma in situ no se toma en cuenta en el reporte sinóptico y no es por sí misma relevante.
- E. **Microsatélite:** se conceptualiza como una metástasis microscópica cutánea adyacente o en la profundidad a la lesión primaria. Las células tumorales deben ser discontinuas del tumor primario. Si el tejido entre el nódulo aparente y el tumor primario contiene una cicatriz microscópica o inflamación, no se puede hablar de una lesión microsatélite, ya que dichos cambios suelen estar relacionados más bien con una regresión tumoral.

- F. **Márgenes:** es necesario especificar si el margen profundo o periférico se encuentra comprometido y si se observa melanoma in situ o invasor en el margen comprometido.
- G. **Mitosis:** el rango mitótico asociado al componente invasor es un predictor independiente de sobrevida y debe reportarse incluso en la biopsia incisional (se usa al final el rango mitótico de mayor cuantía). Para establecer un rango adecuado, se calibra el microscopio para evaluar cuantos campos de alto poder equivalen a un milímetro cuadrado. Se debe escoger un punto caliente, es decir, una región del tumor donde el rango de mitosis sea el más alto y empezar a contar desde ese punto. Luego, se contará el equivalente a 1 mm². Se prefiere que los campos no sean superpuestos. Si el tamaño microscópico a estudiar es menor a 1 mm² (p.e, 0.5 mm²) y sólo se encuentra una mitosis, se reporta como 1 mitosis/1 mm²; no se multiplica por 2 (2 mitosis/1 mm²).
- H. **Invasión linfovascular:** se define como la presencia de células malignas en el lumen de vasos sanguíneos y linfáticos. Los vasos sanguíneos pueden marcarse con inmunohistoquímica (CD31, CD34, o ERG) y los linfáticos con D240. La detección de invasión linfovascular aumenta cuando se utilizan estos anticuerpos de inmunohistoquímica.
- I. **Neurotropismo:** la invasión de las células de melanoma al nervio puede ser circunferencial (invasión perineural) o dentro del nervio (invasión intraneural). Esto también se conoce como neurotropismo y se aprecia mejor en la periferia tumoral. Existe un fenómeno que se da cuando el tumor envuelve nervios o troncos nerviosos al expandirse; esto no es neurotropismo.
- Ocasionalmente, el tumor en sí mismo puede sufrir una transformación neural, donde las células neoplásicas forman estructuras similares a las de las células neurales.
- J. **Linfocitos intratumorales:** son pocos cuando infiltran el melanoma focalmente o no abarcan la totalidad de la base del tumor. Cuando abundan en número, infiltran difusamente el tumor o la base del mismo, se consideran como abundantes.
- K. **Regresión tumoral:** los aspectos histológicos más característicos de la regresión tumoral son: presencia de inflamación linfocítica, atenuación de la epidermis, melanofagocitosis, telangiectasias, y fibrosis dérmica no laminada.

L. **Estadio “N”:** se divide en:

N1: metástasis en un ganglio linfático, o metástasis en tránsito (microsatélite o satélite).

N2: metástasis detectada en dos o tres ganglios linfáticos, o metástasis en tránsito (microsatélite o satélite).

N3: metástasis detectada en cuatro o más ganglios linfáticos, o metástasis en tránsito (satélite o microsatélite) detectada en dos o más ganglios linfáticos.

Metástasis

Microsatélites: nido de células metastásicas intralinfáticas de más de 0.05 mm de diámetro. Deben estar separadas por dermis normal y estar por lo menos a 0.3mm del tumor primario.

Metástasis en tránsito: metástasis cutáneas o subcutáneas que ocurren entre el tumor primario y el ganglio linfático más cercano.

M. **Metástasis distantes:** se subclasifica desde la letra “a” hasta la “d”, y tienen que ser confirmadas histopatológicamente.

- a. Metástasis a piel, tejido subcutáneo, tejidos blandos (incluyendo músculo), y ganglios linfáticos no regionales.
- b. Metástasis a pulmón con o sin metástasis a los sitios mencionados en M1a.
- c. Metástasis a órganos viscerales diferentes del SNC, con o sin metástasis a M1a y M1b.
- d. Metástasis distantes a SNC con o sin metástasis a M1a, M1b o M1c.

Anexo 2

Guía para reportar los marcadores moleculares en melanoma

Análisis mutacional de BRAF

+ V600E (c.1799>A)

+V600K (c.1798_1799 GT>AA)

+V600R (c.1798_1799 GT>AG)

+V600D (c.1799_1800 TG>AT)

Otra mutación de BRAF: _____

No se puede determinar: _____

Análisis mutacional de NRAS

No se detectaron mutaciones

+NRAS Q61R (c. 182 A>G)

+NRAS Q61K (c. 181 C>A)

+NRAS Q61L (c. 182 A>T)

+NRAS Q61H (c. 183 A>T)

+NRAS G12R (c. 34 G>C)

+NRAS G12S (c. 34 G>A)

+NRAS G12D (c. 35 G>A)

+NRAS G12V (c. 35 G>T)

+NRAS G13R (c. 37 G>C)

+NRAS G13S (c. 37 G>A)

Otra mutación detectada: _____

No se puede determinar: _____

Análisis mutacional de c-kit

No se detectaron mutaciones

KIT L576P (c.1727T>C)

KIT K642E (c.1924A>G)

KIT V559A (c.1676T>C)

KIT W557R (c.1669T>A)

Otra mutación de KIT: _____

No se puede determinar: _____

Nota: en cada caso, determinar el método de detección utilizado, ya sea: Test de mutación Cobas 4800 BRAF V600, Prueba de BRAF THxID, reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real, Secuenciación de Sanger, Pirosecuenciación, SnapShot, espectrofotometría en masa de secuenciación de genes, Next Generation Sequencing.

Anexo 3

Estadificación clínica de melanoma según la AJCC en su octava edición, 2017

Cuando T es...	Cuando N es...	Cuando M es...	Estadía je grupal
Tis	N0	M0	0
T1a	N0	M0	IA
T1b	N0	M0	IB
T2a	N0	M0	IB
T2b	N0	M0	IIA
T3a	N0	M0	IIA
T3b	N0	M0	IIB
T4a	N0	M0	IIB
T4b	N0	M0	IIC
Cualquier T, Tis	≥N1	M0	III
Cualquier T	Cualquier N	M1	IV
T1a/b-T2a	N1b/c ó N2b	M0	IIIB
T2b/T3a	N1a-N2b	M0	IIIB
T1a-T3a	N2c ó N3 a/b/c	M0	IIIC
T3b/T4a	Cualquier ≥N1	M0	IIIC
T4b	N1a-N2c	M0	IIIC
T4b	N3a/b/c	M0	IIID
Cualquier T, Tis	Cualquier N	M1	IV

