

112402  
20

**UNAM**

**Facultad de medicina**  
**División de estudios de postgrado**  
**Instituto Nacional de Cancerología**

**Expresión de C-Kit en Melanoma**

**Tesis para obtener el título de especialista en cirugía oncológica**

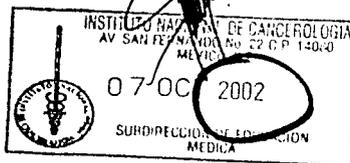
**Presenta**

**Dr. José Juan Ramírez Jaime**

**Asesor**

**Dr. Hector Martínez Saíd**

**México, D.F. Octubre del 2002**



**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **Dedicatoria**

**A Martha y Jesús Miguel por el tiempo que  
compartieron**

**A mis padres por su gran apoyo incondicional**

**A Dios Por la vida**

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

# Índice

Antecedentes-----	4
Introducción-----	5-8
Justificación-----	9
Objetivos-----	10
Tipo de estudio-----	11
Material y métodos-----	12-13
Resultados-----	14-22
Discusión-----	23-25
Conclusiones-----	26
Agradecimientos-----	27
Bibliografía-----	28-29

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **ANTECEDENTES**

Como en todos los campos de la medicina ,existen patologías que han llamado la atención a lo largo del tiempo, en el caso de la oncología, el hablar sobre melanoma despierta un interés muy particular.

Desde diversos puntos de vista interesa el tema de melanoma dichos aspectos son: su génesis, comportamiento, factores pronósticos y tratamiento, en este último punto, sobre el tratamiento, como es conocido, el manejo de las lesiones primarias es inminentemente quirúrgico, más sin embargo en estadios avanzados, como le es en enfermedad metastásica ó recurrente no existe un tratamiento sistémico eficaz.

En la actualidad la creación de nuevos fármacos contra blancos moleculares como lo son contra HER-2 Neu y C-Kit han abierto nuevas puertas para el tratamiento de algunas neoplasias

En nuestro estudio analizaremos la expresión de C-Kit en melanoma como primer paso en la búsqueda de alguna otra opción terapéutica.

# INTRODUCCIÓN

El melanoma maligno a pesar de no ser de las neoplasias más frecuentes a nivel mundial, esta se ha triplicado en las últimas décadas, reportándose una incidencia en México para el año de 1999 de 979 casos con ligera predilección por la mujer.

Existen varias diferencias con el resto del mundo, una de ellas es la frecuencia de presentación de los diferentes patrones clínico-patológicos, siendo en nuestro país la variedad más frecuente el acral lentiginoso mientras que en países caucásicos es el de extensión superficial.

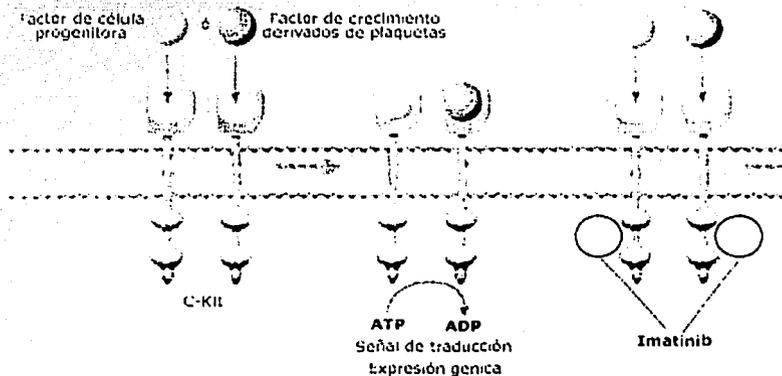
De los aspectos más importantes en melanoma, es el desarrollo de factores autócrinos y parácrinos para su crecimiento, los cuales no son encontrados en los melanocitos normales.

	<b>Literatura Mundial</b>	<b>INCan 1998 (n=252)</b>	<b>INCan 2002 (n=640)</b>
<b>Diseminación Superficial</b>	70 %	20 %	16 %
<b>Nodular</b>	15 – 30 %	49 %	40.2 %
<b>Lentigo Maligno</b>	4 – 10 %	6.4 %	1.6 %
<b>Acral Lentiginoso</b>	2 – 8 %	24.6 %	41.7 %

C-Kit es un proto-oncogen, el cual se localiza en el cromosoma 4q12, el cual va a producir una proteína de su misma nombre, también denominada “ factor receptor de células progenitoras “ dicha proteína es una glucoproteína transmembrana con un peso molecular de 145 KD y pertenece a la familia de las tirosin cinasas, que se encuentra relacionado con el factor de crecimiento derivado de plaquetas (1-3)

La estructura de C-Kit esta constituida por tres dominios, el primero es un componente extracelular, el cual esta formado por 5 inmunoglobulinas, el segundo es el componente transmembrana y por último el componente intracelular con función de tirosin cinasa..

La activación de esta proteína, es a través de un ligando, denominado, factor de células progenitoras ó factor de crecimiento de mastocitos( 2-3), dicha activación va a ocasionar la fosforilación y expresión de C-kit, quien juega un papel preponderante en los procesos de hematopoyesis, gameto génesis, melanogénesis, y desarrollo de mastocitos ( 4-7).



Durante el desarrollo embrionario C-Kit es importante para el desarrollo normal y proliferación de los melanocitos (8-9), encontrando la expresión de dicha glucoproteína en células madre hematopoyéticas, melanocitos, células germinales, células de cajal, entre otras.

Mutaciones en este proto-oncogen ocasionan alteraciones en la pigmentación, tumores del estroma gastrointestinal, hiperplasia de mastocitos, leucemias, cáncer de mama, melanoma, cáncer de células pequeñas en pulmón y tumores germinales.

El papel de este proto-oncogen en el desarrollo y progresión del melanoma a sido de interés encontrando su expresión en melanocitos normales, y en algún grado en lesiones melanocíticas benignas, y disminución en lesiones primarias ó metastásicas, (5, 7, 12, 13.)

	Año	Primario	Metástasis Ganglionares	Metástasis
Lassam and Bickford	1992	*	*	0
Natali et al #78	1992	73.9%	*	31 %
Montone et al #62	1997	60-94%	*	33 %
Ohashi et al #19	1996	47 %	*	*
Arber et al #40	1998	90 %	*	*

Natali y cols, encontraron que la expresión de c-kit es predominantemente en lesiones no invasivas, y presentaba disminución ó ausencia en lesiones con invasión a la dermis, dichos reportes fueron reproducidos por Montone y cols (11), por otra parte en un analisis de 19 casos por Ohashi (12) encontró que la variedad acral lentiginosa fue la que con mayor frecuencia presento positividad para -kit

	<b>Frecuencia de Expresión</b>
<b>Nevo de unión</b>	<b>100 %</b>
<b>Melanoma Radial</b>	<b>92 %</b>
<b>Melanoma Vertical</b>	<b>73 %</b>
<b>Metástasis</b>	<b>33 %</b>

<b>Tipo de lesión</b>	<b>Frecuencia de Expresión</b>
<b>Nevo</b>	<b>100 %</b>
<b>Nevo Displásico</b>	<b>0 %</b>
<b>Melanoma Nodular</b>	<b>0 %</b>
<b>Melanoma Superficial</b>	<b>25%</b>
<b>Acral Lentiginoso</b>	<b>75 %</b>

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## **JUSTIFICACIÓN**

- 1.- Las Descripciones sobre C-kit en melanoma son divergentes**
- 2.- De los estudios analizados no existe ninguno en población de América latina**
- 3.- No existe una terapia sistémica eficaz en melanoma.**

## **OBJETIVOS**

**GENERAL:** Conocer la frecuencia de expresión de C-kit en melanoma

**ESPECIFICOS:** Conocer la frecuencia de expresión de C-kit en :

**1.-Lesiones primarias de melanoma**

**2.-En metástasis ganglionares.**

**3.-En metástasis sistémicas.**

## **TIPO DE ESTUDIO**

**RETROSPECTIVO  
DESCRIPTIVO  
OBSERVACIONAL  
TRANSVERSAL**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## MATERIAL Y METODOS

Se analizaron 94 bloques de parafina de lesiones melanocíticas benignas y Malignas en nuestro estudio, incluyendo: seis nevos, 51 melanomas primarios y 37 lesiones metastásicas.

Los melanomas primarios se dividieron, dependiendo del patrón clínico patológico en: acral lentiginoso, nodular, diseminación superficial y lentigo maligno, dependiendo del grado de invasión , en lesiones superficiales con invasión menor de 1mm, de espesor intermedio los cuales presentan invasión de 1-4mm y profundo con invasión mayor de 4mm.

El análisis de inmunohistoquímica se realizó con un anticuerpo policlonal anti C-kit humano ( Dako r) a una dilución final de 1:50. todas las laminillas fueron examinadas bajo microscopio de luz, siendo reportadas, inicialmente por su positividad unicamente, y posteriormente con la creación de un índice de intensidad, el cual toma en cuenta el grado de intensidad en cruces (1-3 cruces) por el porcentaje de células positivas, obteniendo un índice en el rango de 0-300.

<b>DESCRIPCIÓN DE POSITIVIDAD</b>	<b>RESULTADO</b>
<b>Presencia o ausencia de expresión</b>	Positiva Negativa
<b>Indice</b>	Intensidad (+, ++, +++) x el porcentaje de células positivas = 0-300

## RESULTADOS

A continuación analizamos la distribución de las lesiones, siendo divididas por tipo de lesión en, lesiones benignas, melanomas primarios, metástasis ganglionares y sistémicas.

LESIÓN	N	PORCENTAJE
Nevos	6	Control
Primario	51	58%
Metástasis Ganglionares	17	19.3%
Metástasis	20	22.7
Total	88	100%

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Así mismo la distribución de los casos analizados en relación a los melanomas primarios se dividieron en dos formas: la primera dependiendo de su grado de invasión en lesiones superficiales (menor de 1mm de invasión), correspondiendo a 9 casos al igual que las lesiones de espesor intermedio y 30 casos tuvieron espesor mayor de 4mm.

Breslow	Casos	Porcentaje
In situ	3	5.9%
< 1 mm	9	17.6%
1 a 4 mm	9	17.6%
> 4 mm	30	58.8%
Total	51	100%

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Por otra parte la distribución de las lesiones primarias por patron de crecimiento se encontró que la principal variedad analizada fue la acral lentiginoso, la cual es la lesión más frecuente en nuestra población, dichos datos se pueden analizar en la siguiente tabla:

<b>Primario</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>A. Letiginoso</b>	<b>22</b>	<b>43.1%</b>
<b>D. Superficial</b>	<b>13</b>	<b>25.5%</b>
<b>Nodular</b>	<b>13</b>	<b>25.5%</b>
<b>In situ</b>	<b>3</b>	<b>5.9%</b>

Los resultados de la expresión de c-kit en forma global fue del 64% independientemente de la lesión y al aplicar el índice de intensidad a las lesiones positivas la mitad de ellas tuvieron un índice menor de 150.

<b>Expresión</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>No</b>	<b>31</b>	<b>35.2%</b>
<b>Si</b>	<b>57</b>	<b>64.8%</b>
	<b>88</b>	<b>100%</b>

<b>Indice</b>	<b>Casos</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Sin expresión</b>	<b>30</b>	<b>34%</b>
<b>&lt; 150</b>	<b>29</b>	<b>33%</b>
<b>&gt; 150</b>	<b>29</b>	<b>33%</b>
	<b>88</b>	<b>100%</b>

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

Dependiendo del tipo de lesión encontramos que la positividad para este proto-oncogen en las lesiones benignas fue del 100%, para los melanomas primarias fue del 91%, y para ambas lesiones metastásicas , sistémicas y ganglionares fue del 30%.

<b>TIPO DE LESIÓN</b>	<b>+</b>	<b>TOTAL</b>
<b>Nevos</b>	<b>6/6</b>	<b>100%</b>
<b>Primario</b>	<b>46/51</b>	<b>91%</b>
<b>Ganglio</b>	<b>5/17</b>	<b>30%</b>
<b>Metástasis</b>	<b>6/20</b>	<b>30%</b>
<b>Total</b>	<b>57/88</b>	<b>64.8%</b>

En el análisis de los melanomas primarios en su división por patrón de crecimiento, se encontró una homogeneidad en cuanto su positividad, sin embargo al analizar dichas lesiones utilizando el índice de intensidad, observamos que en aquellas lesiones que se caracterizan por un crecimiento radial ( lesiones insitu y de diseminación superficial ) el grueso de dichas lesiones tuvieron un índice por arriba de 150, en cambio las lesiones que se caracterizan por un crecimiento vertical ( acral lentiginoso y nodular) tuvieron un índice en su mayoría menor de 150.

PATRON DE CRECIMIENTO	FRECUENCIA DE POSITIVIDAD
A. Lentiginoso	18/22 (82%)
D. Superficial	12/13 (92%)
Nodular	13/13 (100%)
Insitu	3/3 (100%)

Lesión	Sin Expresión	< 150	> 150	Total
Insitu	0	0	3 (100%)	3
DS	1 (8%)	3 (13%)	9 (69%)	13
AL	4 (18%)	11 (50%)	7 (32%)	22
Nodular	0	9 (70%)	4 (30%)	13

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Al analizar las lesiones primarias dependiendo de su nivel de invasión, se observó y dato similar al previo, una homogeneidad en la positividad para C-kit con una frecuencia de 100% en lesiones superficiales y de un 90% en el resto de lesiones. Sin embargo al determinar el índice de intensidad en dichos casos se encontró que las lesiones insitu o de diseminación superficial tuvieron un índice mayor de 150 en su mayoría a diferencia de lesiones con espesor intermedio a grueso las cuales su índice en el grueso de los casos fue menor de 150.

BRESLOW	POSITIVIDAD PARA C-KIT
In situ	3/3 (100%)
<1 mm	9/9 (100%)
1 – 4 mm	8/9 (88%)
> 4 mm	27/30 (92%)

Breslow	Sin Expresión	< 150	> 150
In situ	0	0	3 (100%)
< 1 mm	0	2	7 (77.7%)
1 – 4 mm	1	5 (62.5%)	3
> 4 mm	3	17 (56.6%)	10

En relación a las lesiones metastásicas ganglionares encontramos que en un 30% fueron positivas para c-kit con un índice de intensidad homogéneo entre menores y mayores de 150.

INDICE	CASOS	%
<b>Sin Expresión</b>	12	70%
<b>&lt; 150</b>	3	17.5%
<b>&gt; 150</b>	2	12.5%

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En el caso de las lesiones metastásicas sistémicas, el porcentaje de positividad fue igual que las ganglionares de un 30%, sin embargo en su gran mayoría tuvieron un índice menor de 150%.

<b>INDICE</b>	<b>CASOS</b>	<b>%</b>
<b>Sin Expresión</b>	<b>14</b>	<b>70%</b>
<b>&lt; 150</b>	<b>5</b>	<b>25%</b>
<b>&gt; 150</b>	<b>1</b>	<b>5%</b>

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## DISCUSIÓN

El proto-oncogen c-kit es una tirosin cinasa transmembrana relacionada al factor de crecimiento derivado de paquetas, el cual es crucial en el desarrollo y proliferación del melanocito (1,4-7) Las mutaciones de c-kit in utero ocasionan alteraciones en la pigmentación, el papel de este gen en el desarrollo y progrewsi3n del melanoma mha sido motivo de interes.

### Progresi3n del melanoma

Varios son los estudios dirigidos a investigar la expresi3n de c-kit en melanoma, Zakut y cols(9) observ3 que el 40% de las c3lulas provenientes de lineas celulares de melanoma metast3tico fueron positivas para c-kit, en contrante a dos estudios previos publicados por Lassam y Bickford (7), quienes encontraron ausencia de la expresi3n de este proto-oncogen en la mayori3 de lineas celulares provenientes de melanoma.

Natali y cols (5) demostraron positividad para c-kit en lesiones superficiales y lesiones benignas, con disminuci3n en su expresi3n al presentar mayor grado de invasi3n hasta presentar unicamente un 30% de expresi3n en lesiones metast3ticas, explicando esta situaci3n como una perdida en la regulaci3n de los melanocitos durante el desarrollo del melanoma.

Ohashi y cols ( ) analiz3 las lesiones primarias de melanoma dependiendo de su patr3n cl3nico patol3gico, encontrando que la variedad acral lentiginoso fue la que con mayor frecuencia fue positiva para c-kit hasta en un 75% y en general para todas las lesiones una expresi3n del 47%.

Montone y cols ( ) reportó una positividad en lesiones benignas en el 100% de los casos dividiendo las lesiones primarias, en aquellas con crecimiento vertical radial con una positividad en el 90% y 73% respectivamente y en lesiones metastásicas en un 33% concluyendo que el papel de c-kit en melanoma en estadios avanzados requiere más investigación.

En los estudios analizados en los que en la mayoría refiere pérdida de la expresión de c-kit conforme hay mayor invasión ó progresión, en nuestro análisis encontramos que la positividad preveleca, sin embargo esta presentaba disminución en la intensidad de la expresión y en el número de células positivas, este hallazgo nos sugiere que c-kit es un importante regulador en la proliferación y regulación de los melanocitos y que presenta pérdida de la expresión de la misma durante el desarrollo y progresión del melanoma, a pesar de ello un porcentaje no despreciable de los melanomas metastáticos aun presentar su expresión, grupo en el cual seria importante conocer su papel.

	<b>Año</b>	<b>Primario</b>	<b>Metástasis Ganglionares</b>	<b>Metástasis</b>
<b>Lassam and Bickford</b>	<b>1992</b>	<b>*</b>	<b>*</b>	<b>0</b>
<b>Natali et al #78</b>	<b>1992</b>	<b>73.9%</b>	<b>*</b>	<b>31 %</b>
<b>Montone et al 62</b>	<b>1997</b>	<b>60-94%</b>	<b>*</b>	<b>33 %</b>
<b>Ohashi et al #19</b>	<b>1996</b>	<b>47 %</b>	<b>*</b>	<b>*</b>
<b>Arber et al #40</b>	<b>1998</b>	<b>90 %</b>	<b>*</b>	<b>*</b>
<b>INCan #88</b>	<b>2002</b>	<b>92%</b>	<b>30 %</b>	<b>30 %</b>

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## CONCLUSIONES

La positividad en general de los melanomas no varia de forma importante en las lesiones primarias a pesar del grado de invasión ó del patrón clínico patológico , encontrando una disminución en la intensidad y en el número de células positivas para c-kit en lesiones con mayor invasión o en aquellos patrones clínicos que se caractericen por presentar crecimiento vertical.

Lo antes mencionado indica una pérdida en la regulación del melanoma dependiente de este proto-oncogen, dependiendo para su progresión de otros factores ajenos.

En el caso de lesiones metastasicas se encontro un 30% de expresión, grupo en el cuál vale la pena realizar estudios para conocer la función de esta proteína en la progresión del melanoma y poder utilizar alguna terapia molecular.

# AGRADECIMIENTO

**Dr. Hector Martínez Said**

**Adscrito al servicio de Clínica de Melanomas  
Instituto Nacional de Cancerología**

**Dr. J.Luis Aguilar Ponce**

**Jefe de Enseñanza  
Instituto Nacional de Cancerología**

**Dr. Ángel Herrera G.**

**Jefe de la División de Cirugía  
Instituto Nacional de Cancerología**

# Bibliografia

- 1.- Yarden Y, Luang WS, Yang-feg et al. Human proto-oncogen c-kit, a new cell surface-receptor tyrosine kinase for an unidentified ligand. *EMBO J* 1987;6:3341-51.
- 2.- Zsebo KM, Williams DA, Geissler EN, et al. Stem factor is encoded at the SI locus of mouse and is ligand for c-kit tyrosin kinase receptor. *Cell* 1990;63: 213-24.
- 3.- Williams DE, Eisenman J, Baird A, Rauch C. et al. Identification of ligand for the c-kit proto-oncogen. *Cell* 1990;63: 167-74.
- 4.- Funasaka Y, Boulton T, Cobb M. et al. c-kit kinase induces a cascade of protein tyrosine phosphorylation in normal human melanocytes in response to mast cell growth factor and stimulated mitogen-activated protein kinase but is down-regulated in melanomas. *Mol Biol Cell* 1992;3:197-209
- 5.- Natali PC, Nicotra MR, Winkler AB, Cavaliere R, Progression of human cutaneous melanoma is associated with loss of expression of c-kit proto-oncogen receptor, *Int J Cancer* 1992;52(2):197-2001.
- 6.- Laure L, Dougherty N, Porter S, Mintz B, Spontaneous malignant transformation of melanocytes explanted from Wf-Wf mice with a kit kinase-domain. *Proc. Natl Acad Sci U:S:A*: 1992;89:7816-20.
- 7.- Lassam N, Bickford S, Loss of c-kit expression in cultured melanoma cells. *Oncogen* 1992;7:51-6
- 8.- Yoshida H, Nishikawa S, Okamura H, Sakakura T, et al The role of c-kit proto-oncogen during melanocyte development in mouse. In vivo approach by in utero microinjection of anti c-kit antibody. *Dev Growth Differ* 1993;35:209-20
- 9.- Zakut R, Peris R, Eliyahu S et al, Kit ligand inhibits the growth of c-kit- expressing melanoma cell lines. *Oncogen* 1993;8:2221-30.
- 10.- Geissler EN, Ryan MA, Housman DE, The dominant white spotting locus of mouse encodes the c-kit proto-oncogen. *Cell* 1988;55:185-92.
- 11.- Montone KT, Van Bell P et al Proto-oncogen c-kit expression in malignant melanoma: protein loss with tumor progression. *Mod Pathol* 1997;10(9):939-944
- 12.- Ohashi A, Funasaka Y, Ueda M, Ichihashi M, C-kit receptor expression in cutaneous malignant melanoma and benign melanotic naevi. *Melanoma res* 1996 feb;6(1):25-30
- 13.- Ryohei Matsuda, Takashi Takahashi et al, Expression of c.kit in human solid tumors and in corresponding fetal and adult normal tissues. *Am J pathol* 1993;142:339-346.

14.- Heinrich MC, Blanke CD, Brian J Drucker Inhibition of c.kit tyrosin kinase activity: a novel molecular approach to the treatment of kit-positive malignancies. J clinical Oncol 2002;20:1692-1703.

15.-D.J. easty and D.C. Bennett, Protein tyrosine kinases in malignant melanoma, Melanoma research 2000; 10:401-411.

**ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA**