

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

TESIS DE POSGRADO

**Expresión de Factor de Crecimiento de Endotelio Vascular (FCEV) por  
Inmunohistoquímica en Lesiones Melanocíticas Benignas y Malignas de Piel.**

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN:  
DERMATOLOGÍA  
PRESENTA

**Dra. Elvira Martínez Robles**

SERVICIO DE DERMATOLOGÍA  
CENTRO MEDICO NACIONAL “20 DE NOVIEMBRE”  
I.S.S.S.T.E.

SERVICIO DE PATOLOGÍA  
THE AMERICAN BRITISH COWDRAY MEDICAL CENTER



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## ÍNDICE

	<b>Páginas.</b>
<b>Resumen .....</b>	<b>3</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>4</b>
<b>Material y Métodos.....</b>	<b>13</b>
<b>Resultados y Análisis de Datos.....</b>	<b>14</b>
<b>Discussion.....</b>	<b>23</b>
<b>Conclusión.....</b>	<b>25</b>
<b>Apéndice.....</b>	<b>26</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>27</b>

## RESUMEN

El factor de crecimiento de endotelio vascular (FCEV) estimula la proliferación de vasos. La angiogenesis esta íntimamente relacionada al crecimiento tumoral y metástasis.

### Objetivo

Se propone investigar por medio de inmunohistoquímica la expresión de FCEV en lesiones pigmentarias benignas y malignas de piel, con el fin de comparar y conocer si existe mayor expresión de este factor de crecimiento en lesiones tumorales malignas

### Hipótesis

H1: La expresión de FCEV estará presente en mayor proporción en lesiones pigmentadas malignas (melanona maligno)

H2: A mayor expresión de FCEV en lesiones malignas mayor grosor del tumor del MM

### Material y Métodos

Se realizo inmunohistoquímica para FCEV de 14 bloques con diagnóstico de Nevo Melanocítico y Melanoma Maligno, en los cuales se describió el nivel de Breslow, Clark, sexo, edad y tipo clínico.

Métodos Estadísticos:

La diferencia entre el grupo testigo y el grupo problema sobre la expresión del FCEV fue determinada usando la prueba estadística no paramétrica de Mann-Whitney

Se utilizó Ji cuadrada: para comparar las proporciones entre los grupos

Un valor de  $P < 0.5$  fue aceptado como significativo

### Resultados

Se observo mayor expresión del FCEV en lesiones de MM. No se observo diferencia estadísticamente significativa entre la expresión del FCEV y las diferentes variables.

## ABSTRACT

**Background:** Vascular endothelial growth factor (VEGF) stimulates the vascular proliferation. Angiogenesis is closed related to tumoral growing and metastases.

**Objective:** It is proposed the research about the expression of VEGF by immunochemical techniques in benign and malign skin pigmentary lesions, with the task of knowing and comparing if there is more expression of this growing factor in malignant tumoral lesions.

### Hypothesis:

H1: VEGF expression would have higher proportion in malignant pigmented lesions (malignant melanoma)

H2: beneath the higher expression of VEGF in malignant lesions the tumor would be thicker (MM)

**Methods:** It was performed VEGF immunohistochemistry in 14 blocks with the diagnosis of Melanocytic Nevus and Malignant Melanoma in which it was described the Breslow level, Clark level, sex, age and clinical kind.

Statistical Methods

It was used the Mann-Whitney statistical non parametrical test to observe the difference over the expression of VEGF between the control ant the problem groups.

It was used square Chi to compare the association between groups

A P value  $< 0.5$  was accepted as significative

### Results:

It was observed higher VEGF expression in MM lesions. It wasn't observed significative statistical difference between the expression of VEGF and the different variables.

## INTRODUCCIÓN

Se ha observado durante años que la angiogénesis ocurre alrededor de los tumores. En 1971 Folkman propuso que el crecimiento tumoral y las metástasis son dependientes de la angiogenesis. Esta posibilidad estimuló la búsqueda de diversas moléculas pro y anti-angiogénicas, es ahora que conocemos que la angiogenesis está regulada por activadores (factor de crecimiento de endotelio vascular FCEV, angiopoyetina 1, integrinas, etc), e inhibidores (Angiopoyetina 2, angiostatina, endostatina, etc.). En 1976 Gullino mostró que las células precancerígenas adquieren capacidad de angiogenesis, proponiendo este concepto para diseñar estrategias de prevención del cáncer, una hipótesis que mas tarde se confirmó con investigaciones genéticas.

Se han descubierto varias señales que funcionan como gatillo para generar angiogénesis, tales como estrés metabólico (baja presión de oxígeno, pH ácido o hipoglucemia), estrés mecánico (presión generada por la proliferación celular), respuesta inmune e inflamatoria disminuida una vez que las células neoplásicas han infiltrado el tejido, mutaciones genéticas como activación de oncogenes o delección de genes supresores tumorales que controlan la producción de reguladores de angiogenesis. Sin embargo la expresión temporal y espacial de estos reguladores no esta bien coordinada en la angiogenesis tumoral. Los vasos de los tumores pierden mecanismos de protección, como son las células perivasculares funcionales necesarias para protegerlos contra cambios de oxígeno u hormonas, así como también no existen capas homogéneas de células endoteliales en la pared de los vasos. (1)

### **Estructura y función de los vasos tumorales.**

Como se comento previamente los vasos tumorales son estructuralmente y funcionalmente anormales, están desorganizados, son tortuosos y dilatados, con excesivas ramas y cortos circuitos. Esto puede estar relacionado al desbalance de reguladores angiogénicos, como FCEV y angiopoyetinas, consecuentemente el flujo sanguíneo tumoral es caótico y variable, teniendo hipoxia y disminución del pH intracelular, disminuyendo la efectividad de la terapéutica médica. (1)

### **Permeabilidad vascular aumentada.**

Los vasos tumorales también tienen numerosas fenestraciones ya que no son estrechas las uniones interendoteliales y hay ausencia o discontinuidad de la membrana basal, esta permeabilidad depende del tipo y del órgano hospedero del tumor ya que cada órgano tiene diferentes estromas celulares que producen diferentes moléculas pro y anti-angiogénicas.

Por ejemplo, la disminución de la permeabilidad puede sobreexpresar Angiopoyetina 1 y/o subexpresar FCEV o su homólogo factor de crecimiento de plaquetas. (1)

La hiperpermeabilidad inicialmente se evidenció en tumores sólidos de animales, donde encontraron mayores concentraciones de proteínas plasmáticas y agua en el estroma tumoral, se cree que la ascitis de origen tumoral es secundaria a la hiperpermeabilidad, ya que se presenta como un exudado y se ha atribuido al pasaje de macromoléculas a través de las uniones de las células endoteliales.

Cabe mencionar que la angiogenesis y la hiperpermeabilidad fisiológica esta presente en procesos de cicatrización de heridas, artritis reumatoide, psoriasis y en la hipersensibilidad retardada. (2)

Recientes estudios han mostrado que las células que sufren hipoxia, secundario al crecimiento tumoral, son desprovistas de oxígeno, debido a que la distancia de los vasos sanguíneos más cercanos ha aumentado, por lo tanto, se activan factores de transcripción inducibles de hipoxia (HIFs) los cuales funcionan como switch para inducir la expresión de varios factores angiogénicos incluyendo FCEV, óxido nítrico sintetasa, factor de crecimiento derivado de plaquetas, angiopoyetina 2 y otros. (3)

### **FCEV**

El FCEV es una glucoproteína dimérica unida a disulfuros de 34 a 45kD, tiene una secuencia homóloga con el factor de crecimiento derivado de plaquetas. (2) Es un mitógeno altamente específico para las células del endotelio vascular. Se han generado cinco isoformas de FCEV como resultado de empalmes alternativos del gen del FCEV. Estas isoformas de 121, 145, 165, 189 y 206 amino-ácidos difieren en su masa molecular y en la capacidad de propiedades biológicas para unirse a proteoglucanos de heparán-sulfato en la membrana celular. Las tres primeras inducen proliferación de células endoteliales. La unión de VEGF a la superficie celular y a la matriz

extracelular asociado a proteoglicanos de heparan sulfato puede liberar FGF-b el cual tiene una acción sinérgica importante para inducir angiogénesis. (3)

El FCEV fue inicialmente descubierto por una proteína tumoral secretada que restituía las vénulas y la hiperpermeabilidad a macromoléculas circulantes. Posteriormente al cultivar FCEV sobre células endoteliales (CE) se observó que induce acumulación transitoria del calcio intracitoplasmático, cambios de forma, división celular y migración de las CE, además expresión de proteasas que degradan la matriz, en suma altera el patrón de expresión del gen de las células endoteliales e induce angiogénesis en vivo.

Por otro lado el FCEV permite la formación de un gel de fibrina extravascular, que sirve como matriz provisional y favorece el soporte para el crecimiento de células endoteliales y células tumorales, y permite la invasión de células estromales para el desarrollo del tumor.

La expresión de FCEV es potenciada en respuesta a hipoxia, actividad de oncogenes, y por una variedad de citocinas, factores de crecimiento, y gonadotropinas.

Los factores de crecimiento que pueden potenciar la producción de FCEV son: factor de crecimiento fibroblástico 4, PDGF, factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ), factor de crecimiento transformante -B (TGF-B), factor de crecimiento de queratinocitos (KFG) IGF-I, Interleucina 1B e IL-6. Otra pequeña molécula que aumenta la expresión de FCEV es el óxido nítrico, este contribuye al efecto de permeabilidad de los vasos y la vasodilatación.

Citocinas como IL-10, IL-13 pueden inhibir la liberación del FCEV. (3)

### **Oncogenes**

La pérdida de expresión p53 está asociado al desarrollo de tumores, potenciando la expresión de FCEV con incremento de la angiogénesis. Sin embargo otros estudios contradicen este hallazgo e indican que la p53 puede no funcionar como un inhibidor de la expresión de FCEV (3)

### **Receptor de factor de crecimiento de endotelio vascular.**

Las varias formas de FCEV se unen a dos receptores de tirosina -cinasa FCEVR-1(FLT-1) y FCEVR-2 (KDR/flk-1), las cuales se expresan casi exclusivamente en las células endoteliales. (3) Sin embargo estos receptores han sido encontrados en células de cáncer de ovario, células de melanoma, tumores tiroideos y cáncer de mama. (4)

En tumores melanocíticos la expresión de FCEV esta incrementada como progresión maligna, sin embargo no se ha encontrado asociación significativa con aumento en la densidad de la microvasculatura. En el estudio de Straume and Akslen observaron que el crecimiento vertical del melanoma expresa de forma extensa el FCEV, esta expresión fue mayor en tumores más delgados y menos vascularizados, por lo tanto esta inversamente relacionado al grosor del tumor y de la densidad microvascular. Sugiriendo que el FCEV tiene una regulación a la alta en tumores pequeños, y una baja expresión en tumores grandes y más vascularizados.

En lesiones tardías una baja expresión de VEGF tardías puede ser suficiente para mantener un sistema vascular estable. Ellos encontraron que los receptores FLT-1 y KDR estuvieron presentes en células tumorales en varios niveles y los dos se co-expresaron con el FCEV. Esto puede sugerir la presencia de una posible secreción autocrina. Además encontraron una asociación entre la expresión de KDR y la proliferación celular tumoral Ki-67 en un subgrupo de tumores de mayor grosor.

Otro estudio sugirió que la expresión de FCEV es mayor con la presencia de hipoxia en la angiogénesis del melanoma. (4)

Bayer-Garner I.B. et al examinaron la expresión de FCEV en 62 biopsias de proliferaciones melanocíticas, de las cuales 45 eran melanomas malignos, 3 nevos azules, 12 nevos atípicos compuestos y 2 nevos de Spitz. La inmunoreactividad citoplasmática para FCEV fue demostrada en un 42% de los melanomas, no se observó reactividad en el resto de las lesiones pigmentarias benignas, este estudio no reveló al FCEV como indicador pronóstico de melanoma pero puede tener utilidad para discriminar lesiones benignas melanocíticas de melanoma maligno. Además observaron que la mayor expresión de FCEV fue relacionada a melanomas primarios de mayor densidad o grosor, ausencia de regresión e incremento del índice mitótico (5)

Simonetti et al también investigaron la expresión de FCEV y de metaloproteinasas por medio de inmunohistoquímica en lesiones cutáneas pigmentarias (nevos displásico, nevo de Spitz, nevo benigno melanocítico) y melanomas malignos (18 invasivos y 10 in situ). Presentaron una fuerte tinción (77%) citoplasmática para el FCEV en las células de melanomas primarios invasivos y (25%) en los melanomas in situ, no se observó inmunoreactividad del FCEV en las lesiones pigmentarias benignas. (6)



Otros estudios de tumores no melanocíticos, como el de Mineta H et al., examinaron la significancia clínica de la expresión de FCEV en 60 carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello usando los métodos de Western blot, inmunohistoquímica y RT-PCR y analizaron la relación entre la medida del tumor, ganglios linfáticos, grado histológico y supervivencia libre de enfermedad a dos años, el 43% presentó una expresión elevada de FCEV y el 57% una expresión baja. La alta expresión estuvo asociada con la diseminación a ganglios linfáticos, y con una pobre supervivencia libre de enfermedad. (7)

Borden J et al examinaron la expresión de FCEV por inmunohistoquímica en 44 carcinomas de células basales (CBC) y 41 casos de carcinoma epidermoide (CE) de cabeza y cuello. En el CBC el FCEV fue expresado por células epiteliales 24/44 casos, en el CE lo expresaron 32/41 que fue asociado con el grado de diferenciación tumoral, este patrón de expresión puede ayudar a explicar el diferente comportamiento que es usualmente visto en estos tumores. (8)

A continuación mencionaré lesiones melanocíticas benignas y malignas de piel.

## **Nevos Melanocíticos**

### Nevo de Unión

Es una mácula bien circunscrita marrón negruzca, se desarrolla en cualquier parte de la superficie corporal. Generalmente aparece en la infancia o en la adolescencia temprana, y madura con el tiempo hacia un nevo compuesto y más tarde hacia un nevo intradérmico

Histopatología:

Se compone de nidos discretos de células melanocíticas/névicas en la unión dermoepidérmica, generalmente localizadas en las crestas. Células ovales u ovoides con citoplasma claro, las mitosis son raras. Puede haber melanófagos y un infiltrado linfocitario disperso.

### Nevo Compuesto

Varia desde lesiones mínimamente elevadas hasta formaciones polipoides, pueden ser de coloración bronceada o marrón oscuro.

Histopatología:

Tiene nidos en la unión y componente intraepidérmico de células névicas. Las cuales se disponen en cordones ordenados.

### Nevo intradérmico

Son los más frecuentes, la mayoría se encuentran en adultos, tienen forma de cúpula, nodulares o polipoides y su coloración es del color de la piel o ligeramente pigmentados.

Histopatología:

Las células névicas se limitan a la dermis, donde se disponen en nidos y cordones, pueden existir células multinucleadas. En las partes más profundas de la lesión las células nevicas pueden presentar una apariencia neuroide. (9)

### **Melanoma**

Neoplasia maligna derivada de los melanocitos.

### Edad y género

La edad es considerada como un factor de mal pronóstico, ya numerosos estudios lo han confirmado. Un estudio de 488 pacientes demostró que la supervivencia a 10 años en pacientes <65 años fue de un 84% y en >65 años un 57%.

La población de edad mayor también presenta mayor grosor tumoral así como tumores ulcerados.

Con respecto al género y MM: las mujeres presentan mayor supervivencia con respecto a los hombres. El grosor del melanoma fue mayor en hombres que en mujeres. Las mujeres tienden a presentar tumores no ulcerados y localizados a las piernas lo cual se correlaciona con mejor pronóstico. (10)

### Topografía

Con respecto a la localización del tumor han mostrado que aquellos que se presentan en cabeza, cuello y tronco tienen peor pronóstico que aquellos localizados en las extremidades. Sin embargo aquellos tumores localizados en región acrales son de peor pronóstico que los localizados a extremidades. En un estudio, el índice de recurrencia en manos y pies fue de aproximadamente del 11% comparado con sólo el 4.4% de cabeza y cuello. (10)

### Grosor tumoral

El grosor tumoral en el melanoma se correlaciona con la supervivencia inicialmente establecida en 1970 por Breslow.

Clark y Col. introdujeron el concepto de fase de crecimiento radial y vertical en la evolución de un melanoma maligno. La fase de crecimiento radial se refiere a la extensión progresiva y centrífuga de un área plana pigmentada, que se caracteriza por una proliferación intraepidérmica de melanocitos atípicos. Se incluyen lesiones con invasión de la dermis papilar por células aisladas o en pequeños nidos. Corresponde a los melanomas in situ y a los melanomas microinvasores. La fase de crecimiento radial precede a la fase de desarrollo vertical.

En la fase de crecimiento vertical, las lesiones presentan invasión a la dermis papilar y reticular, y corresponde al melanoma nodular e invasor

En las células del melanoma, las figuras mitóticas son rara vez vistas en la fase de crecimiento radial, pero usualmente vistos en la fase de crecimiento vertical. Un estudio de seguimiento mostró que el pronóstico de los melanomas delgados en la fase de crecimiento radial fue aproximadamente del 100% la supervivencia a 8 años en comparación del 71% del MM en fase de crecimiento vertical. (10)

### Nivel de Clark

Propuesto en 1969, se refiere al nivel anatómico de profundidad:

Nivel I: crecimiento intraepidérmico con membrana basal intacta

Nivel II: invasión a la dermis papilar

Nivel III: invasión de dermis papilar y la región intermedia entre dermis papilar y reticular

Nivel IV: invasión de la dermis reticular

Nivel V: invasión ha tejido celular subcutáneo

La supervivencia a 5 años ha mostrado ser del 95% para el nivel de Clark II, entre 80 y 85% para nivel Clark III y IV, y 55% para el nivel de Clark V.

### Nivel de Breslow

Es una evaluación más precisa del nivel de invasión del MM la cual se realiza con un micrómetro, la medición va desde la capa granular al punto de más profundo de invasión del tumor y como se había comentado antes se relaciona directamente con el pronóstico.

Nivel de Breslow y supervivencia a 5 años

<0.75	mm	95-99%
0.76 - 1.49	mm	90-95%
1.50- 4.00	mm	60-75%
>4.00	mm	<50%

Cuando los factores de riesgo histológicos están presentes, como son: la profundidad dérmica (niveles de Clark), ulceración o regresión extensa, el riesgo de presentar micrometástasis en tumores delgados se incrementa, en estos casos la biopsia de ganglio centinela al momento de la evaluación debe ser considerada. (10)

#### Clasificación Clínica-Patológica del Melanoma

M. Lentigo Maligno

M. de Extensión Superficial

M. Nodular

M. Acral Lentiginoso

Grupo misceláneo: en anillo de sello, de células globoides, de células pequeñas, nevoide, mixoide.

#### M. Lentigo Maligno

Aparece frecuentemente en la cara y en las extremidades superiores expuestas al sol de personas mayores. Su lesión precursora es el lentigo maligno.

Histopatología:

Presenta un componente epidérmico de melanocitos atípicos, aislados o en nidos, y se limita a la capa basal, con poca invasión pagetoide de la epidermis, puede afectar los anexos (folículos pilosebáceos y conductos ecrinos). La dermis presenta elastosis solar moderada a severa, melanoófagos y pocos linfocitos en banda.

### M. de Extensión Superficial

Puede desarrollarse en cualquier parte del cuerpo y en cualquier edad. Más frecuente en la espalda en varones y en extremidades inferiores en mujeres. Tiene una fase crecimiento radial más corto que el melanoma lentigo maligno y es en general superficialmente invasivo al momento del diagnóstico.

#### Histopatología:

Se caracteriza por proliferación de melanocitos atípicos, libres o en nidos, en todos los niveles de la epidermis. El componente infiltrativo puede estar dispuesto en masas sólidas o puede tener una disposición fascicular. Las células pueden ser epiteliodes o fusiformes. Mitosis abundantes. Melanófagos y linfocitos dispuestos en banda en la dermis.

### M. Nodular

Son nodulares, polipoides, ocasionalmente pediculados. Aparecen en cualquier parte de cuerpo y puede ulcerarse.

#### Histopatología:

No tiene componente intraepidérmico adyacente de melanocitos atípicos, aunque existe generalmente una invasión epidérmica de células malignas directamente sobre la masa dérmica. El componente dérmico esta generalmente compuesto por células epiteliodes ovoides o redondas y fusiformes

La epidermis esta atrófica y probablemente ulcerada

Marcado patrón expansivo de crecimiento

### M. Acral Lentiginoso

Se desarrolla en la piel palmar, plantar o subungueal. Más frecuente en gente de raza negra y japonesa de edad avanzada. Se presenta como placas o nódulos pigmentados, que con frecuencia se ulceran

#### Histopatología:

Tiene una fase de crecimiento radial que se caracteriza por un patrón lentiginoso de melanocitos atípicos, con algunos nidos. Células hinchadas, halo claro dando apariencia lacunar o con dendritas muy pigmentadas

Melanófagos, infiltrado linfocítico irregular, puede observarse áreas de fibrosis (9)

## **OBJETIVO**

Se propone investigar por medio de inmunohistoquímica la expresión de FCEV en lesiones pigmentarias benignas y malignas de piel, con el fin de comparar y conocer si existe mayor expresión de este factor de crecimiento en lesiones tumorales malignas

## **HIPOTESIS**

H1: La expresión de FCEV estará presente en mayor proporción en lesiones pigmentadas malignas (melanoma maligno)

H2: A mayor expresión de FCEV en lesiones malignas mayor grosor del tumor del MM

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

El diseño del estudio es abierto, transversal, retrospectivo y comparativo

Para obtener los bloques con diagnóstico de nevo melanocítico y melanoma maligno se realizó la búsqueda en el archivo del servicio de patología de los años 2001 a 2004 y se escogieron en forma aleatoria 14 bloques con diagnóstico de nevo melanocítico los cuales se tomaron como grupo testigo y 14 con diagnóstico de melanoma maligno que conformaron el grupo problema.

En todos los casos se registro el sexo y la edad del paciente.

Se reviso el expediente de los pacientes con diagnóstico de melanoma maligno para conocer el tipo clínico:

Melanoma Lentigo Maligno

Melanoma de Diseminación Superficial

Melanoma Nodular

Melanoma Acral Lentiginoso

Melanoma de Mucosas y Ocular

Se realizo por medio de Inmunohistoquímica (en el servicio de patología del Hospital ABC) la aplicación del anticuerpo para FCEV en el grupo control y en el grupo problema

La inmunoreactividad para el FCEV fue graduada de la siguiente manera:

+++ Para una tinción intensa (>70%)

++ para una tinción moderada (30-60%)

+ Para una tinción leve (<30%)

- ausencia de tinción

(Ver fig. 1, 2 y 3)

La evaluación fue hecha de forma independiente por 2 patólogos.

Se midió el grosor tumoral según el nivel de Breslow y de Clark

### Métodos Estadísticos:

La diferencia entre el grupo testigo y el grupo problema sobre la expresión del FCEV fue determinada usando la prueba estadística no paramétrica de Mann-Whitney

Se utilizó Ji cuadrada: para comparar las proporciones entre los grupos

Un valor de  $P < 0.5$  fue aceptado como significativo

## RESULTADOS Y ANÁLISIS DE DATOS

Se obtuvo un total de 28 bloques.

14 con diagnóstico de nevo melanocítico; de estos 3 eran nevos de unión, 4 nevos compuestos y 7 nevos intradérmicos, en la mayoría (10) correspondían a pacientes del sexo femenino.

La edad fue de 8 a 62 años con una edad media de 36 años.

Todos presentaron reactividad de la expresión del FCEV a excepción de dos nevos compuestos en el cual la expresión estuvo ausente. El tipo de expresión que predominó fue de una + (<30%).

Expresión de FCEV por Inmunohistoquímica:

0: 2 casos (los 2 n compuestos)

+: 6 casos (3 n de unión, 3 n intradérmicos)

++: 4 casos (2 n compuestos y 2 n intradérmicos)

+++ : 2 casos (2 n intradérmicos)

(Ver Tabla 1)

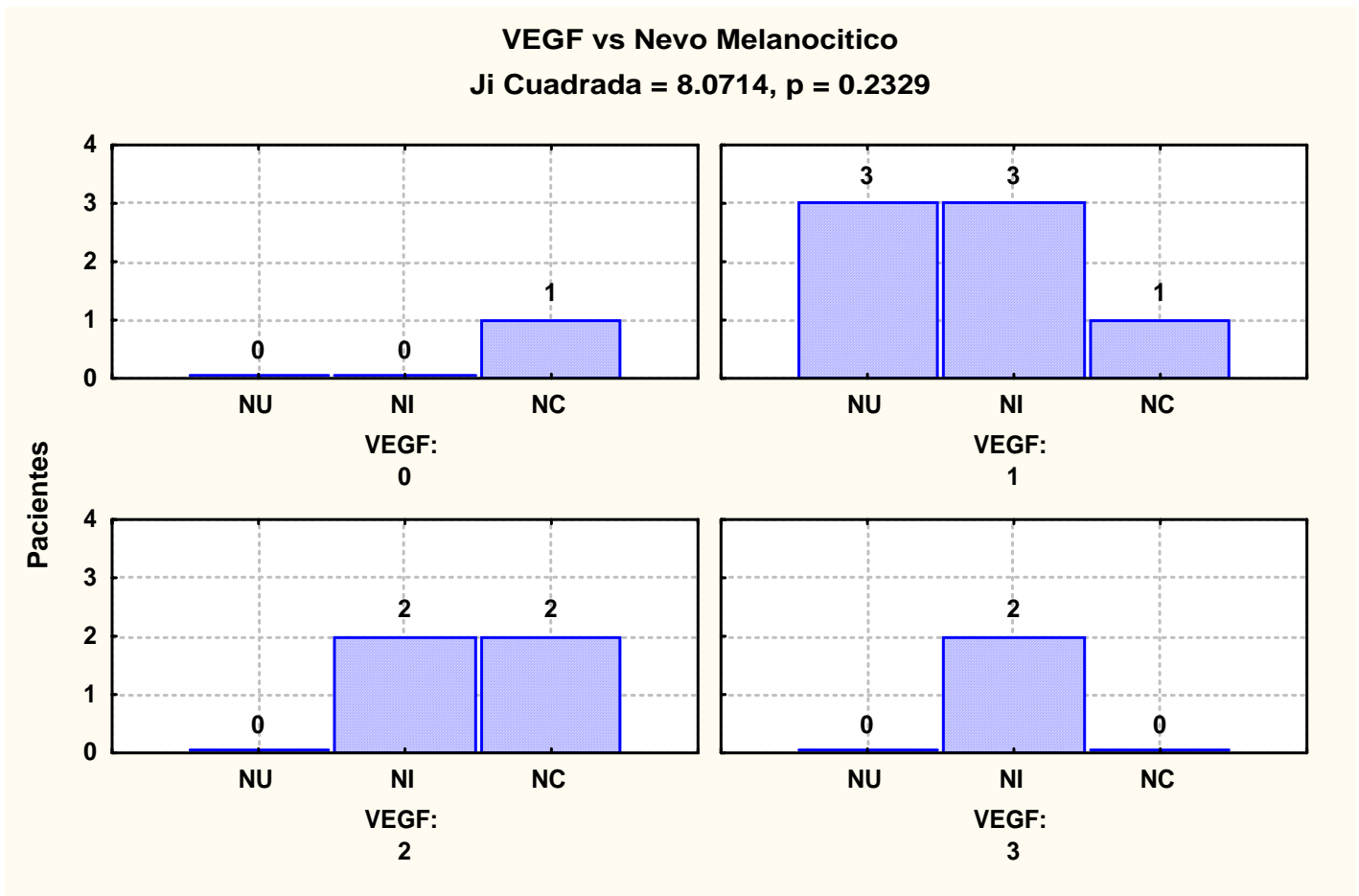
Tabla 1. Nevos Melanocíticos y expresión del FCEV

No.	sexo/edad	NEVOS	FCEV
1	F/8	Nevo Unión	+
2	F/29	Nevo Unión	+
3	F/62	Nevo Unión	+
4	F/9	Nevo Compuesto	0
5	F/47	Nevo Compuesto	++
6	M/56	Nevo Compuesto	++
7	M/60	Nevo Compuesto	0
8	F/20	Nevo Intradérmico	++
9	F/29	Nevo Intradérmico	+
10	F/31	Nevo Intradérmico	++
11	F/33	Nevo Intradérmico	+
12	F/36	Nevo Intradérmico	+
13	M/45	Nevo Intradérmico	+++
14	F/49	Nevo Intradérmico	+++

M= masculino F= femenino



Gráfica 1.



NU = Nevo de Unión

NI = Nevo Intradérmico

NC = Nevo Compuesto

Con respecto al grupo problema se obtuvieron 14 bloques con diagnóstico de MM.

Fueron 8 bloques de pacientes del sexo masculino y 6 del sexo femenino.

La edad osciló de 42 a 88 años con una edad media de 64 años.

De los tipos clínicos encontrados 2 (14.3%) fueron Nodulares, 8 (57.1%) Melanoma Acral Lentiginoso, 3 (21.4%) en Mucosas Nasal y 1 (7.1%) Ocular (conjuntiva). No se obtuvo ninguno del tipo de Lentigo Maligno Melanoma y MM de Diseminación Superficial. (Ver Grafica 2)

Con respecto al nivel de invasión no se obtuvo ninguno con nivel de Clark I y II, y ninguno con nivel de Breslow I (> 0.75mm) y II (0.76 a 1.49)

Ocho bloques presentaban un Breslow III (1.50 a 3.9mm) y seis un Breslow IV (>4mm).

En todos los bloques del grupo problema hubo expresión del FCEV. (Ver Tabla 2)

Tabla. 2 Tipo clínico de MM, Nivel de Breslow y Clark, y expresión de FCEV

Paciente	Edad	Sexo	Tipo	Clark	Breslow	FCEV
1	F	63	MAL	III	III 1.7mm	++
2	M	86	MAL	III	III 2.0mm	++
3	F	42	Nodular	IV	III 2mm	+++
4	F	75	MAL	III	III 3.3mm	++
5	M	58	MAL	V	III 3.7mm	+
6	M	49	Nodular	III	III 3.8mm	+
7	F	47	MAL	IV	III 3.8mm	+
8	F	64	MAL	V	III 3.9mm	++
9	M	65	MAL	IV	IV >4mm	+
10	M	74	MAL	IV	IV >4mm	+++
11	M	81	Ocular		>4mm	++
12	F	88	Mucosa		>4mm	++
13	M	45	Mucosa		>4mm	+++
14	M	76	Mucosa		>4mm	++

MAL: Melanoma Acral Lentiginoso

MN: Mucosa Nasal

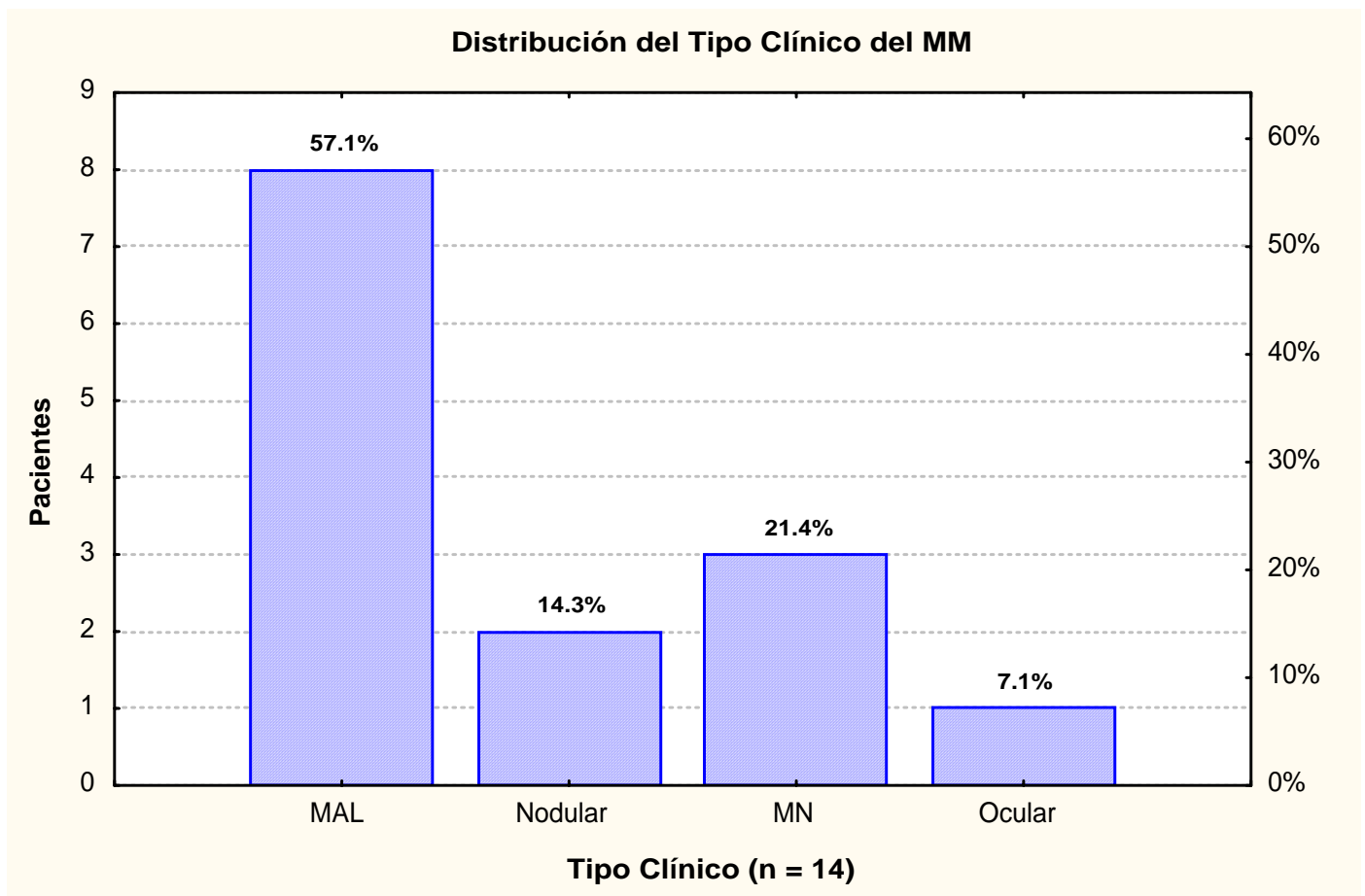
FCEV: Factor de Crecimiento de Endotelio Vascular

\* No se puede realizar Clark ya que están localizadas en mucosas

Gráfica 2.

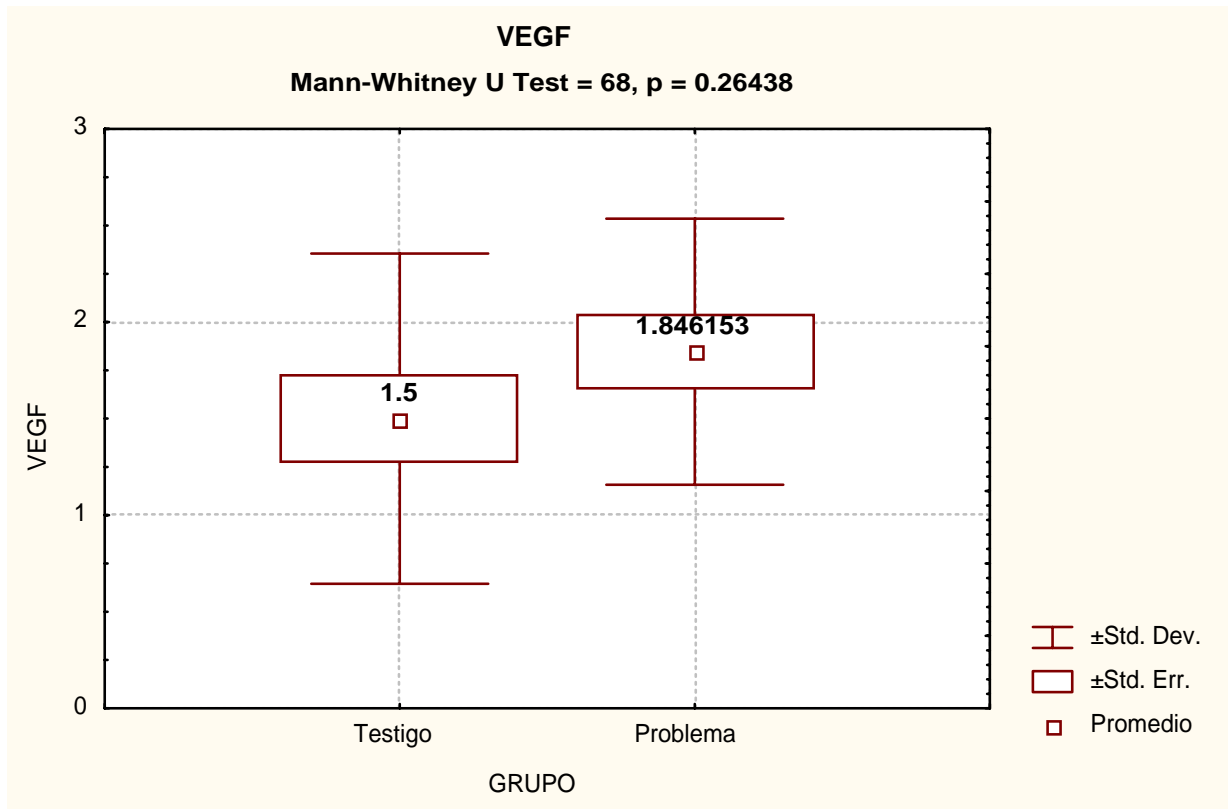
MAL= Melanoma Acral Lentiginoso

MN = Mucosa Nasal



La prueba de Mann-Whitney revelo diferencia de la expresión del FCEV entre el grupo testigo (nevus melanocíticos) y el grupo problema (MM) en donde se aprecia en forma de esquema una ligera mayor expresión en este último. (Ver grafica 3)

Grafica 3



Se realizó la prueba estadística Ji cuadrada para comparar el FCEV con los niveles de invasión, grupos erarios y tipos clínicos del MM

En el caso de nivel de Clark, sólo se tomaron los valores que correspondían a MM localizado a piel.

(Ver Gráficas 4, 5 y 6)

Expresión de FCEV según el nivel de Clark

0 = ninguno

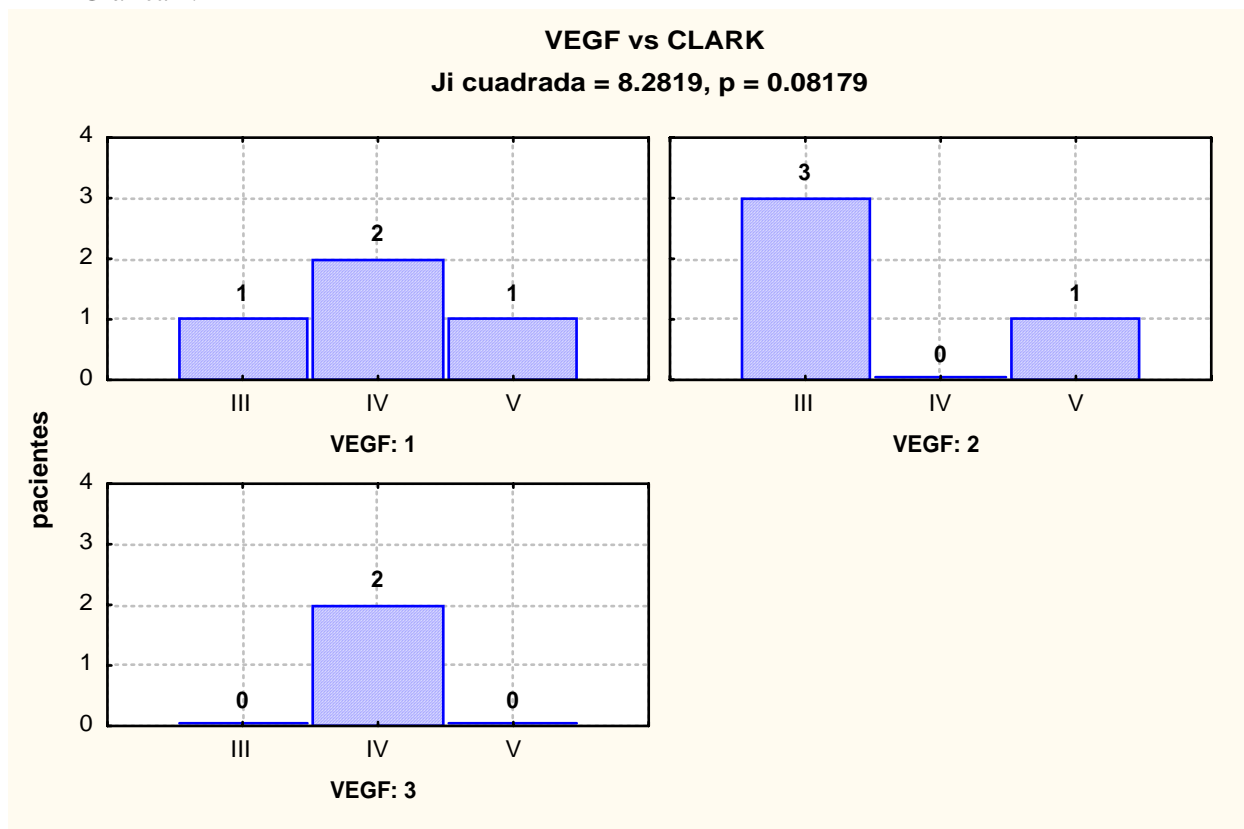
+ = 4 casos (1 nivel III, 2 nivel IV, 1 nivel V)

++ = 4 casos (3 nivel III, nivel V)

+++ = 2 casos (nivel IV)

No hubo una diferencia significativa entre el nivel de Clark y la expresión del FCEV

Gráfica 4.



Nivel II: invasión a la dermis papilar

Nivel III: invasión de dermis papilar y la región intermedia entre dermis papilar y reticular

Nivel IV: invasión de la dermis reticular

Nivel V: invasión a tejido celular subcutáneo

La expresión de FCEV según el nivel de Breslow.

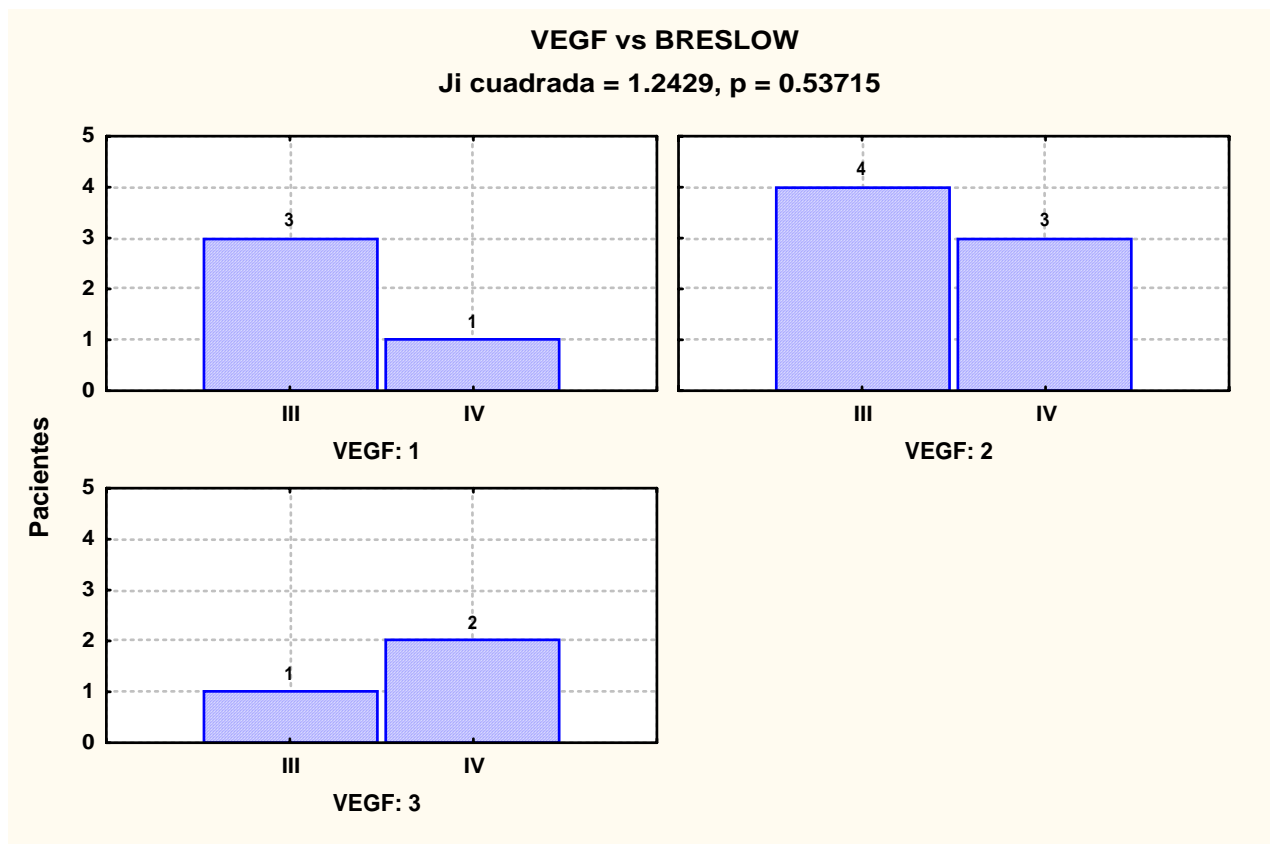
0 = ninguno

+ = 4 casos (3 con Breslow III, 1 con Breslow IV)

++ = 7 casos (4 con Breslow III, 3 con Breslow IV)

+++ = 3 casos (1 con Breslow III, 2 con Breslow IV)

Gráfica 5.



Nivel de Breslow

I= <0.75 mm

II= 0.76 - 1.49 mm

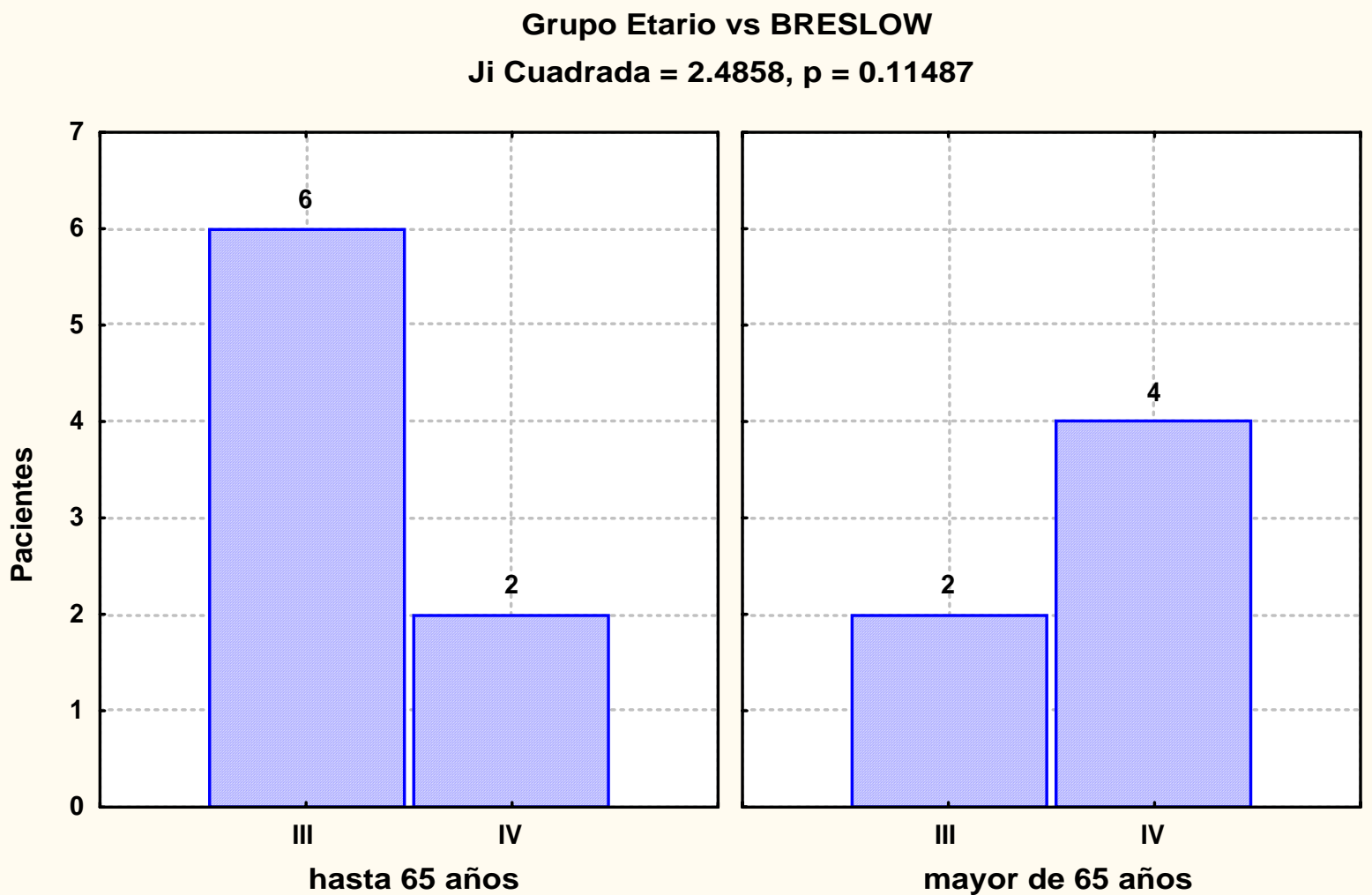
III= 1.50- 4.00 mm

IV= >4.00 mm

Con respecto a la edad se realizaron dos grupos etarios, el primero de 42 a 65 años y el segundo de 66 a 88 años.

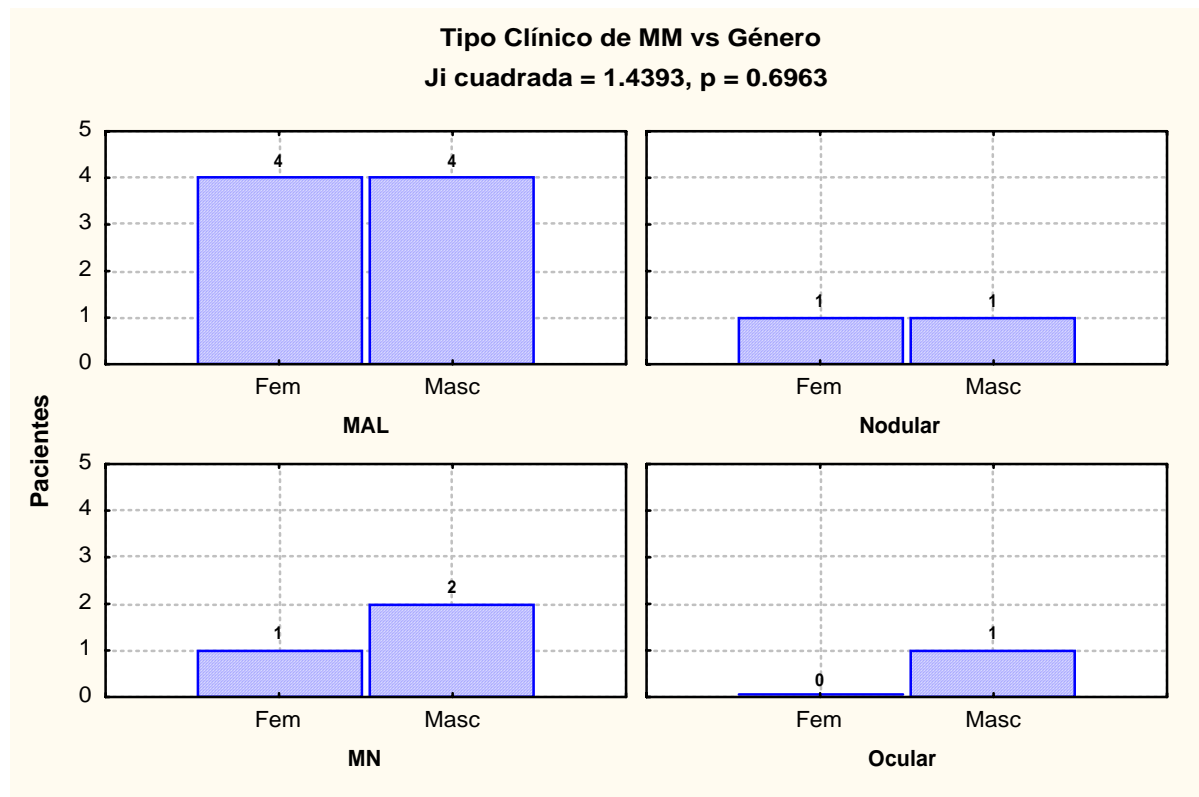
Se comparó la edad contra el nivel de invasión, sin embargo no se observó diferencia significativa, para poder asociar la relación entre edad y el nivel de invasión.

Gráfica 6.

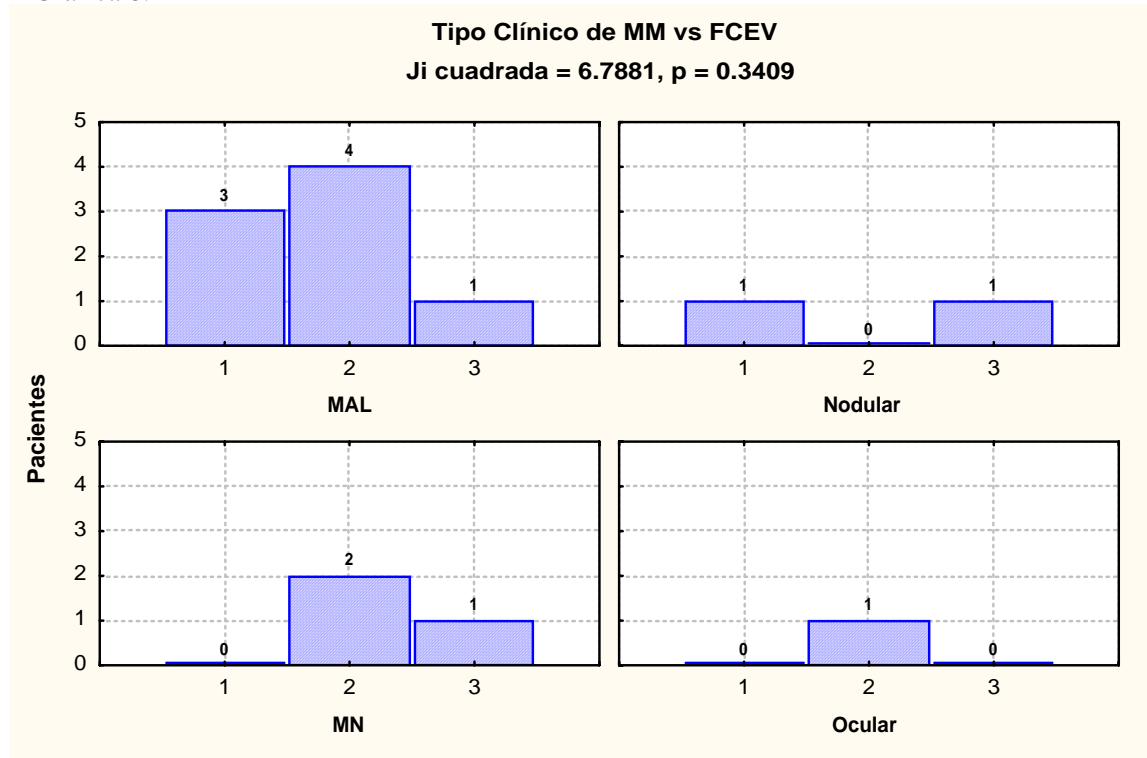


No hubo una diferencia significativa entre el género y en cualquier tipo clínico de MM (ver gráfica 7), así como entre el tipo clínico de MM y la expresión del FCEV (ver gráfica 8).

Gráfica 7.



Gráfica 8.





## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos sobre la expresión del FCEV en lesiones melanocíticas benignas y malignas se observó lo siguiente:

La mayoría de los nevos melanocíticos fueron intradérmicos, en general presentaron una expresión leve. No se observó una asociación significativa entre el tipo de nevo y la intensidad del FCEV.

Hubo mayor expresión del FCEV en las lesiones melanocíticas malignas. En comparación con lo reportado en la literatura, en la que describen en nevos melanocíticos una expresión leve o ausente y una expresión intensa en MM. Sin embargo, en este estudio no fue realmente significativo la asociación entre la expresión del FCEV con la presencia o ausencia de una lesión maligna, ya que aunque en proporción fue ligeramente mayor, las lesiones benignas también expresaron el FCEV. Con respecto al comportamiento invasivo del MM y la expresión del FCEV, la muestra (grupo problema) fue pequeña, además de que no fue posible compararlo con tumores de grosor tumoral menor (I = < 0.75mm y II = 0.76 a 1.49 mm), probablemente por los pocos casos que son diagnosticados en fases tempranas de la enfermedad, por lo que sólo fue posible compararlo con los niveles III (1.5 a 4mm) y IV (>4mm). Por lo tanto, no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre el nivel de Breslow y la expresión del FCEV.

El comportamiento clínico fue similar en comparación a lo reportado en la literatura con respecto al género y la edad.

En melanomas malignos hubo un ligero predominio en hombres (8 hombres y 6 mujeres). Así como también hubo una discreta relación en bloques de paciente mayores de 65 años y la presencia de mayor grosor tumoral (nivel de Breslow), sin embargo los resultados de las pruebas no fueron significativas.

El tipo clínico de melanoma maligno que predominó fue el de tipo: melanoma acral lentiginoso y posteriormente el melanoma de mucosas. Estos tipos clínicos son los que generalmente afectan a las poblaciones con fototipo de Fitzpatrick IV y V, el cual es el que predomina en nuestra raza.

No se observó relación entre el tipo clínico del MM y el género, no se ha descrito una relación.

Con respecto a la relación entre la expresión del FCEV y el tipo de MM, hubo una mayor expresión en el melanoma acral lentiginoso sin ser significativo, además que la mayoría de los bloques correspondían a este tipo de MM. La literatura ha descrito que el melanoma acral lentiginoso presenta es el más agresivo y presenta peor pronóstico en comparación a los otros tipos. Neufelt et al. (3) describió que en los tumores melanocíticos con progresión maligna, la expresión de FCEV está incrementada, sin embargo no se ha encontrado asociación significativa con aumento en la densidad de la microvasculatura. Straume and Akslen (4) observaron una expresión mayor del FCEV en tumores más delgados y menos vascularizados, sugiriendo que está inversamente relacionado al grosor del tumor y de la densidad microvascular, con una regulación a la alta en tumores pequeños, y una baja expresión en tumores grandes y más vascularizados. Arredondo et al (11) reportó mayor expresión de MM en tumores de mayor grosor, así como mayor capacidad de metastatizar, este mismo autor comparó los niveles séricos de FCEV en pacientes sanos, con melanoma primario y con melanoma metastásico, este último grupo presentó al doble el nivel sérico comparado con en grupo de pacientes sanos y con melanoma primario, por lo cual lo asoció con enfermedad agresiva metastásica Sin embargo en otros estudios la expresión del FCEV ha estado presente en a todos los niveles y sin diferencias entre melanomas primarios y melanomas metastáticos. En nuestro estudio no fue posible evidenciar un aumento en la vasculatura dérmica asociado a la expresión del FCEV ya que aunque pueden ser visibles los vasos el método más confiable para evaluar esta variable es realizando Inmunohistoquímica para vasos sanguíneos (CD31, CD34) anticuerpos con los que no se contaba.

## CONCLUSIONES

El FCEV es una citocina que presenta mayor expresión en lesiones melanocíticas malignas que en lesiones melanocíticas benignas

Para poder encontrar asociación entre la expresión del FCEV y el grosor tumoral, es necesaria una muestra de mayor tamaño y con diferentes niveles de grosor tumoral según Breslow.

Se ha descrito un predominio del tipo clínico Nodular y Melanoma Acral Lentiginoso (MAL) en nuestra población, sin embargo es necesario realizar estudios de mayor extensión para conocer mejor el comportamiento de esta enfermedad y de esta forma sensibilizar al equipo médico para llegar a un diagnóstico temprano de lesiones melanocíticas malignas. En este estudio, a pesar de una muestra pequeña predominó el tipo MAL sobre el Nodular.

Como se describió previamente el FCEV forma parte de citocinas de angiogénesis las cuales en condiciones normales están en continuo balance con citocinas antiangiogénicas, por lo que investigar por medio de inmunohistoquímica la expresión de estas citocinas, presencia de vasos por inmunohistoquímica, estas citocinas y el grosor tumoral, probablemente nos muestre una asociación más clara entre factores angiogénicos, formación de vasos y progresión tumoral.

## APÉNDICE

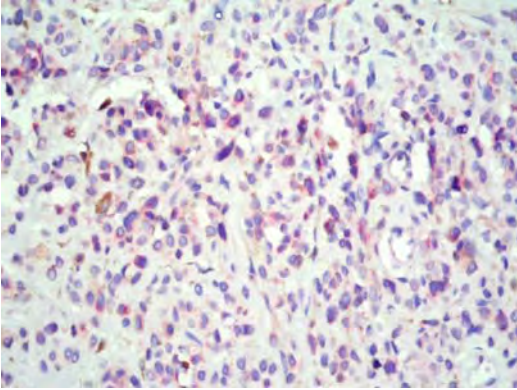


Fig.1. 1+ antiFCEV Nueva Fascina

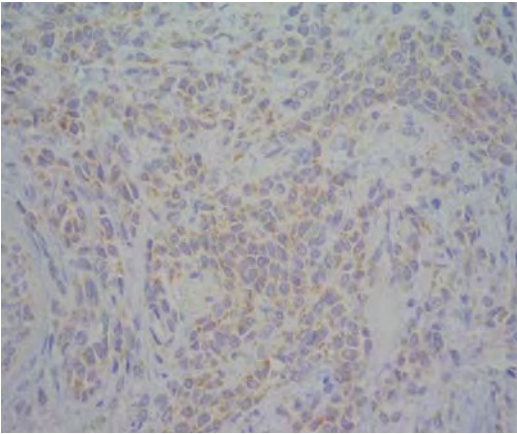


Fig.2. 2++ antiFCEV Diaminobencidina DAB

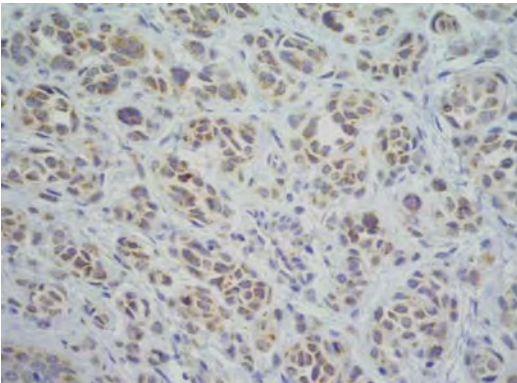


Fig.3. 3+++ antiFCEV DAB

## BIBLIOGRAFÍA

1. Carmeliet P and Jain R. “Angiogenesis in cancer and other diseases” Nature. 2000; 407: 249-257
2. Dvorak Harold F, Lawrence F, et al. “Vascular permeability factor/Vascular endothelial growth factor microvascular hyperpermeability, and angiogenesis”. American Journal of Pathology. 1995; 146 :1029-1038
3. Neufeld Gera, Cohen Tzara, et al. “Vascular endothelial factor (VEGF) and its receptors”. The FASEB Journal. 1999 ;13: 9-22
4. Straume and Akslen “ Expression on vascular endothelial growth factor, its receptors (FLT-1, KDR) and TSP-1 related to microvessel density and patient outcome in vertical grown phase melanomas”. American Journal of Pathology. 2001; 59:223-235
5. Bayer-Garner I.B., et al “ Vascular endothelial growth factor expression in malignant melanoma: prognostic versus Diagnosis usefulness.” Modern Pathology. 1999;12:770-774
6. Simonetti O. et al “ Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinase 2, and matrix metalloproteinase 9 in cutaneous melanocytic lesions”. Cancer. 2002; 95:163-168
7. H Mineta et al “Prognostic value of vascular endothelial grown factor (VEGF) in head and neck squamous cell carcinomas” . British Journal of Cancer 2000;83:775-781
8. Bowden J et al “Expression vascular endothelial growth factor in basal cell carcinoma of the head and neck”. J Cutaneous Pathology. 2002;29:585-589
9. Weedon David, Strutton Geoffrey. Piel Patología. Madrid, España. Editorial Marbán, 2002: 691-701
10. Zettersten E, Shaikh L, Ramirez R, et al. “ Prognostic factors in primary cutaneous melanoma” Surgical Clinics of North America 2003; 83: 61-75
11. Redondo P, et al. “Immunologic escape and angiogenesis in human malignant melanoma” J Am Acad Dermatol 2003: 49: 255-63