



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina

Hospital General De México "Dr. Eduardo Liceaga"

Servicio de Dermatopatología

TÍTULO:

EXPRESIÓN POR DOBLE INMUNOMARCACIÓN CON HMB45/KI67, HMB45/MCM2 EN MELANONIQUIA LONGITUDINAL. ESTUDIO DE 1980 AL 2016 EN EL DEPARTAMENTO DE DERMATOPATOLOGÍA DEL HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO.

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE SUB-ESPECIALISTA EN:

*"DERMATOPATOLOGÍA"*

PRESENTA: DR. DANTE VILLAMIL CERDA

ASESOR DE TESIS: DRA. PATRICIA MERCADILLO PÉREZ

PROFESOR TITULAR DEL CURSO: DRA. PATRICIA MERCADILLO PÉREZ

CIUDAD DE MÉXICO JULIO 2016



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.

**Agradecimientos:**

A mis padres por estar conmigo en todo momento. Especialmente a mi madre Andrea quien siempre apoyo mi camino y que nunca dudo en apoyarme en cada paso. Es meritorio mencionar que simplemente soy el reflejo de todo su esfuerzo y dedicación.

Hago una mención especial a la Dra. Patricia Mercadillo Pérez quien siempre impulso mis ganas de incurrir en este mundo de la Dermatopatología. Siendo ahora para mí el área más apasionante a la que quiero dedicarme.

Dante Villamil Cerda

**Título: EXPRESIÓN POR DOBLE INMUNOMARCACIÓN CON HMB45/KI67, HMB45/MCM2 EN MELANONIQUIA LONGITUDINAL. ESTUDIO DE 1980 AL 2016 EN EL DEPARTAMENTO DE DERMATOPATOLOGÍA DEL HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO**

**Villamil Dante<sup>1</sup>, Mercadillo Pérez<sup>2</sup>**

1.- Residente del Servicio de Dermatopatología del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”

2.- Jefa del Servicio de Dermatopatología del Hospital General de México” Dr. Eduardo Liceaga”.

México DF.

Correspondencia :

Dr. Dante Villamil Cerda

Hospital General de México

Servicio de Dermatopatología

Dr. Balmis 148, Cuauhtémoc, Doctores, 06726 Ciudad de México, D.F.

Ciudad de México, México

Email: [dr.villamil@gmail.com](mailto:dr.villamil@gmail.com)

**Indice :**

<b>1.- Título .....</b>	<b>Pag 1</b>
<b>2.- Resumen .....</b>	<b>Pag 5</b>
<b>3.- Introducción.....</b>	<b>Pag 5</b>
<b>4.- Marco Teórico.....</b>	<b>Pag</b>
<b>5.- Material y Métodos / Resultados .....</b>	<b>Pag 15</b>
<b>6.- Discusión .....</b>	<b>Pag 17</b>
<b>7.- Conclusión .....</b>	<b>Pag 26</b>
<b>8.- Bibliografía .....</b>	<b>Pag 27</b>

## **Resumen:**

La Melanoniquia Longitudinal (ML) es el termino aplicado a la pigmentación en banda que se extiende desde el extremo proximal ó lúnula al borde libre del plato ungueal, causada por la presencia de melanina en el plato ungueal. La etiología de la ML es múltiple y es difícil de establecer en ciertas ocasiones solamente por clínica y/o dermoscopia siendo el estudio histopatológico el estándar de oro para el diagnóstico de cualquier banda de melanoniquia. En años recientes la aplicación de estudios de inmunohistoquímica han mejorado los diagnósticos tempranos y cambiado el pronóstico en múltiples neoplasias.

**Objetivo:** Describir el grado de expresión por doble inmunomarcación HMB45/ki67, HMB45/MCM2 en los casos de ML y secundariamente describir los datos epidemiológicos de los pacientes. **Material y Métodos:** Se realizó un estudio descriptivo, observacional, retrospectivo y transversal en el servicio de Dermatopatología utilizando los archivos, laminillas y bloques de parafina correspondientes con los diagnósticos de activación de melanocitos (lentigo ungueal, melanoniquia racial), y proliferación de melanocitos (nevo ungueal, melanoma subungueal), del periodo de 1980-2016. excluyendo todos los diagnósticos de melanoniquia secundaria a otra causa no incluida en activación de melanocitos o proliferación de melanocitos. Se realizó a cada caso técnica de doble inmunotinción HMB45/ki67 y HBM45/MCM2 para ver el nivel de expresión de los marcadores pronósticos (MCM2 y Ki67) en las células melanocíticas marcadas con HMB45.

**Resultados:** En el servicio de Dermatopatología del Hospital General de México se encontraron un total de 46 casos con diagnóstico clínico de ML en un periodo de 15 años. De los cuales 29 casos (65%) fueron mujeres y 15 fueron hombres (35%). La edad al momento del diagnóstico oscilo entre 1 año de edad hasta 94 años (Edad promedio de 52 años). La atipia citológica, la confluencia de melanocitos, la distribución pagetoide aunado a un índice Ki67 alto y un MCM2 bajo son predictores sugestivos de melanoma subungueal, además de una densidad aumentada por arriba de 50 melanocitos a nivel del epitelio de la matriz ungueal (p.000).

**Conclusión:** La doble inmunomarcación en un método sencillo el cual aumenta el poder diagnóstico en casos de difícil estadificación entre melanoniquia racial,nevo ungueal, hiperplasia de melanocitos, melanoma subungueal in situ y melanoma subungueal invasor.

**Palabras claves:** Melanoniquia longitudinal , activación de melanocitos, proliferación de melanocitos, marcadores neuroectodérmicos , marcadores pronósticos.

## **Introducción:**

La melanoniquia longitudinal (ML) se refiere a una pigmentación en “banda”, que se extiende desde el extremo proximal o la lúnula al borde libre del plato ungueal, causada por la presencia de melanina en el plato ungueal. La melanina es producida por los melanocitos de la matriz e incorporada al plato ungueal.

La pigmentación del plato ungueal puede ser causada por depósito de melanina u otras causas como, pigmentos endógenos, exógenos, hematomas, drogas, infecciones micóticas o bacterianas y algunos tumores subungueales. En este estudio nos enfocaremos en la ML secundaria a activación de melanocitos y proliferación de melanocitos. Siendo de crucial importancia el reconocimiento en la densidad de melanocitos por mm<sup>2</sup> detectados específicamente por inmunohistoquímica HMB45 y su indicador de proliferación Ki67 ó MCM2.

La etiología de la ML es difícil de establecer solamente por clínica y/o dermoscopia. El estudio histológico de la matriz ungueal permanece siendo el estándar de oro para el diagnóstico de ML. La examinación histológica permite diferenciar dos grupos principales 1) activación de melanocitos (pigmentación del epitelio de la matriz sin incremento en el número de melanocitos) y 2) proliferación de melanocitos (aumento en el número de melanocitos basales, lentigo, nevo ungueal o melanoma subungueal).

La distinción entre activación de melanocitos, nevo melanocítico ungueal y estadios tempranos de melanoma subungueal puede ser difícil tanto clínicamente e histológicamente por lo que es crucial para interpretar estas lesiones pigmentarias, la historia clínica de la lesión, los hallazgos histopatológicos y recientemente aplicación de técnicas que inmunohistoquímica con estudios genéticos para apoyar hacia un diagnóstico más certero.

En este estudio se utilizara un anticuerpo monoclonal dirigido contra una glicoproteína componente del premelanosoma la gp100 (HMB45 la cual identifica el citoplasma de los melanocitos) en combinación con dos marcadores de implicación pronóstica (Ki67 y MCM-2). Lo que nos permitirá en primera instancia ( con el anticuerpo monoclonal HMB45) identificar los melanocitos del aparato ungueal y con los marcadores de implicación pronóstica su nivel de proliferación (ki67) o supresión tumoral (MCM-2).

Para así poder analizar la densidad y distribución de melanocitos por mm de la matriz ungueal de los casos diagnosticados como melanoniquia longitudinal secundaria a activación de melanocitos (melanoniquia racial, mácula subungueal, melanoniquia friccional) nevo ungueal y melanoma subungueal, en el servicio de Dermatopatología del Hospital General de México en un lapso de 15 años. Aunque en la literatura se describe la utilidad de marcadores de inmunohistoquímica en el diagnóstico de lesiones pigmentarias del aparato ungueal, existen pocos casos y ninguno en la población mexicana por lo que es de vital importancia este estudio para tomar como referencia nuestro patrón de expresión para estudios ulteriores y normar criterios en lesiones de difícil clasificación.



## **Marco Teórico.**

### **Anatomía del aparato ungueal**

Antes de la evaluación de las lesiones pigmentarias del aparato ungueal es necesario comprender la anatomía normal de la uña. La uña incluye la matriz ungueal, plato ungueal, lecho ungueal, pliegue proximal, distal y cutícula. La matriz proximal posee procesos interpapilares ligeramente redondeados, llamados “mamelones”, los cuales se aplanan progresivamente hasta la zona de transición con el lecho ungueal. La matriz proximal produce la parte superficial del plato ungueal mientras que la matriz distal produce el resto. Lo que explica que un daño a la matriz proximal produce un daño importante en el plato ungueal.

El lecho ungueal posee un epitelio delgado con procesos interpapilares elongados y paralelos entre sí, esta disposición solo puede observarse en un corte transversal. Es importante mencionar que no hay distinción entre la dermis papilar y la dermis reticular superficial en el aparato ungueal, no existen anexos exceptuando la piel acral adyacente.

### **Densidad de melanocitos en el aparato ungueal.**

Uno debe comprender la densidad y distribución de melanocitos en este sitio en particular ya que es diferente a otras topografías de la piel. En el epitelio normal del aparato ungueal la cantidad de melanocitos es menor, al de la piel normal. El número de melanocitos en la matriz suele ser discreto. Los melanocitos pueden encontrarse a nivel basal y supra basal en la matriz, especialmente en la matriz proximal en la cual pueden encontrarse dentro de las primeras cuatro capas celulares del epitelio.

Como se mencionó anteriormente la densidad de los melanocitos de la matriz en general es menor a la piel normal, esta es aproximadamente de 200 melanocitos/mm<sup>2</sup> comparada con 1150 melanocitos/mm<sup>2</sup> respectivamente. Normalmente la mayoría no sintetiza melanina, especialmente en la matriz proximal. En la matriz proximal hasta el 50% de los melanocitos pueden sintetizar melanina. Los melanocitos en el lecho son todavía menos activos y no sintetizan melanina. Esto sirve de explicación de por qué los melanomas que surgen del lecho, son amelanóticos, y dificulta su diagnóstico.

Desde el punto de vista práctico es importante tener una idea de la densidad normal de los melanocitos a lo largo de la capa basal para poder analizar un incremento significativo que sugiera una proliferación de melanocitos.

La densidad de melanocitos se suele medir por intervalos de 1 mm en la unión de la matriz y lecho. En las uñas normales la densidad varía de 4 – 9 melanocitos (promedio de 7.7) por cada milímetro.

Los melanocitos matriciales son usualmente más pequeños y algunos pueden mostrar procesos dentríticos. Algunas veces son poco visibles y son mejor visualizados con técnicas de inmunohistoquímica incluyendo S100, HMB45, Melan A y MITF. El Melan-A como marcador de melanosomas puede exagerar la densidad de melanocitos especialmente en tumores con altas concentraciones de melanina. El MITF (microphthalmia transcription factor – 1) es un marcador nuclear el brinda una evaluación más precisa de la densidad y localización dentro de la matriz. Es importante hacer notar que el S-100 no debe ser utilizado como marcador único para melanocitos del aparato ungueal ya que no expresa un antígeno reproducible en el aparato ungueal. 1

### **Melanoniquia longitudinal ML y Contexto clínico**

La melanoniquia longitudinal es una pigmentación color café-negra del plato ungueal definida como una banda que se extiende longitudinalmente desde el pliegue proximal a la parte libre del plato ungueal. Si abarca todo el plato ungueal se denomina melanoniquia total. La pigmentación del plato ungueal puede ser secundaria a depósito de melanina o puede tener otras causas como hematomas subungueales, depósitos de pigmentos endógenos y exógenos (Argiria, Addison, Porfiria), fármacos (minociclina, psoralenos, ciclofosfamida, zidovudina), infecciones bacterianas o micóticas y otros tumores subungueales diferentes a melanoma. En este estudio nos enfocaremos en el estudio de las lesiones pigmentarias producidas por activación de melanocitos (con aumento en la producción de melanina), hiperplasia de melanocitos y en el melanoma subungueal principalmente in situ en la que la clínica fue primeramente una melanoniquia longitudinal.

Además de una comprensión básica de la histología del aparato ungueal, uno debe obtener la mayor cantidad de información clínica posible para poder interpretar cualquier lesión pigmentaria de la unidad ungueal. La mayoría de lesiones pigmentarias del aparato ungueal se presentan clínicamente como una banda de melanoniquia longitudinal, siendo el ancho de la melanoniquia el punto clave en la evaluación de la misma. Los datos demográficos como la edad y el dedo afectado también son importantes. Por ejemplo, el melanoma casi siempre afecta a personas de edad avanzada siendo el pulgar y el hallux, los sitios más afectados. Más ejemplos de la utilidad del contexto clínico abarcan la activación de melanocitos, los lentigos y nevo ungueales los cuales miden de 3 a 5 mm en el ancho de la banda de melanoniquia mientras que los melanomas suelen tener una banda más ancha. 1-2

La mayoría de lentigos y nevos ungueal se presentan clínicamente como una banda de melanoniquia longitudinal de color café claro a marrón oscuro. Una lesión pigmentaria benigna es comúnmente homogénea a la mayoría de lesiones pigmentarias del aparato ungueal surgen de la matriz distal, por lo que no es usual encontrar pigmentación periungueal (signo de Hutchinson).

Dominguez J et al, refieren que la causa más común de melanoniquia longitudinal en México es la secundaria al incremento en la síntesis de melanina (melanoniquia racial, mácula melanótica o activación de melanocitos) ésta por lo general no rebasa los 3 mm de ancho en la banda de melanoniquia y raramente se observa acompañada de distrofia ungueal, el color predominante es el café claro, y generalmente existe afección de múltiples dedos. En su estudio se recomienda toma de biopsia en aquéllos pacientes que clínicamente tengan una melanoniquia total, variación la regularidad de la banda y variaciones en el color de la melanoniquia, pacientes hispanos con reciente aparición de melanoniquia longitudinal y una banda de melanoniquia mayor a 4mm en población hispana. 2

## **Técnica de biopsia e Inclusión del tejido**

Existen numerosas técnicas de biopsia de aparato ungueal comúnmente usadas en lesiones pigmentarias entre las que se incluyen; sacabocado a través del pliegue proximal hasta la matriz (la más común), remoción del plato ungueal y toma de sacabocado del área pigmentada, la biopsia longitudinal en bloque (estándar de oro) especialmente si la lesión pigmentaria es lateral. Cualquiera de estas técnicas puede causar distrofia ungueal permanente, sin embargo, la toma de muestra de la matriz distal tiende a producir menor daño.

Factores que complican la interpretación microscópica incluyen una muestra insuficiente, lo que produce aplastamiento y cizallamiento del tejido, tejido mal orientado. El personal técnico debe estar familiarizado a manejar queratina como la del plato ungueal, el cual puede ser difícil de seccionar sin una adecuada hidratación, como por ejemplo humedecer el bloque de parafina en agua antes de seccionar. 1

## **Definiciones e Histología de las lesiones pigmentarias del aparato ungueal.**

Uña normal, Bijal A et al refiere que la cantidad de melanocitos por milímetro en la matriz es de 4 a 9 melanocitos, con un promedio de 7.5 melanocitos por mm marcados por inmunohistoquímica con técnica de IMHQ Melan-A y la distribución ocupaba los melanocitos estaban en la capa basal y supra basal. No existía confluencia de melanocitos ni patrón inflamatorio liquenoide. 3

La Activación de melanocitos/hipermelanosis es probablemente la causa más común de melanoniquia en adultos. Esta consiste principalmente en hiperpigmentación del epitelio de la matriz ungueal sin incremento en el número de melanocitos los cuales tienen una síntesis aumentada de melanina. 1 La densidad de melanocitos puede ser resaltada con uso de técnicas de inmunoperoxidasa como Melan MITF con tinciones de contraste como rojo cromógeno o giemsa permiten observar más detalladamente la inmunotinción. Algunos autores consideran la melanoniquia racial, melanoniquia friccional, macula subungueal sinónimo de activación de melanocitos.

Beth et al define al lentigo del aparato ungueal como el aumento en el número de melanocitos (10-31 células/mm) sin mostrar confluencia. Pueden estar presentes melanocitos dentríticos. La atípia celular es ausente o mínima y los melanocitos suprabasales deben ser raramente encontrados. En la activación de melanocitos pueden existir numerosos melanófagos. 1-2

Bijal incluye la activación de melanocitos y el lentigo ungueal en un grupo llamado “Máculas melanóticas subungueales benignas” y establece como criterio histológico el aumento en el pigmento melánico con o sin incremento de melanocitos. Este incremento de melanocitos va desde los 5 a los 31 melanocitos por mm con una media de 15.3 melanocitos por mm. Cifra aproximada a lo reportado por Beth et al. En este estudio no reportan confluencia de melanocitos, ni patrón inflamatorio presente. 1-2

Nevo melanocítico ungueal es la causa más común de melanoniquia en niños. El nevo ungueal de la matriz es usualmente un nevo de unión y raramente compuesto. También se pueden encontrar otros tipos con menor frecuencia como nevo de reed, nevo azul y nevo sptiz. El aparato ungueal se trata de un lugar “especial”, en el cual las características de los nevos son similares a los nevos acrales. Usualmente se observa un patrón lentiginoso de melanocitos en lesiones tempranas. Se pueden observar nidos irregulares y ocasionalmente confluentes, especialmente si se analizan longitudinalmente. Los melanocitos no deben estar presentes en las capas superficiales del epitelio matricial ya que este dato nos debe orientar hacia un melanoma. Los melanocitos pueden ser más grandes e hiper cromáticos especialmente si se trata de un nevo congénito. 1 Un estudio de Chelsea et al concluye que la melanoniquia longitudinal en niños, está asociada a una proliferación benigna y estable de melanocitos y debe manejarse únicamente conservadoramente. La biopsia en estos casos únicamente está indicada en aquellas melanoniquias mayores de 3 mm, patrón multicolor y signo de Hutchinson. 5

El Melanoma subungueal es un tumor extramadamente peligroso comparado con el resto de melanomas en otras topografías, este en particular tiene una alta mortalidad. La supervivencia varía entre 16 al 87 años a los 5 años % dependiendo de la serie. La relación con la exposición solar no ha sido elucidada. La mayoría de melanomas emergen del primer dedo del pie (hallux), y dedos de la mano dominante. En un estudio grande reporta que el promedio del Breslow al momento del diagnóstico es de 4.8mm. Cuando el melanoma clínicamente se presenta como melanoniquia longitudinal (76% de los casos) produce una banda de melanoniquia mayor a los 3mm, la cual aumenta con el paso del tiempo. El involucro del pliegue proximal (signo de Hutchinson) suele ser un signo clave de la evolución. Adelgazamiento o distrofia del plato ungueal acompañado de la pigmentación es otra característica relevante. Los melanomas originados del lecho ungueal suelen ser amelanóticos y usualmente se presentan como un nódulo ó con onicolisis.

Los criterios para el diagnóstico de melanoma subungueal siguen evolucionando El International Melanonychia Study Group establece el diagnóstico con las siguientes criterios diagnósticos: lesión mal circunscrita, aumento de la densidad de melanocitos individuales intraepidermicos, distribución irregular de melanocitos incluyendo confluencia de nidos, dispersión suprabasal, atípia celular, infiltrado linfocitario, anisodendrocitosis (variación en el tamaño de las dendritas). El uso de tinciones de inmunoperoxidasa puede ser crucial para el diagnóstico para poder identificar la densidad y la disposición de los melanocitos. En recientes estudios el número de melanocitos promedio en el melanoma in situ fue de 58.9 por milímetro comparada con 15.3 de léntigo ungueal. 1 Beth et al refiere que al menos un foco de melanocitos confluentes debe estar presente. Se puede encontrar células multinucleadas y la atípia celular va desde moderada a severa. La migración pagetoide se encuentra en todos los casos y el patrón inflamatorio que rodea la proliferación. El melanoma invasor suele mostrar características parecidas a cualquier otra parte de la piel.

La medida del Breslow es reportada de forma similar a otros sitios cutáneos, con una medición desde la capa más superficial visible del epitelio, hasta la parte más gruesa del componente dérmico. Normalmente no existe capa granulosa, pero se puede generar en estadios más avanzados de melanoma. No existe distinción entre la dermis papilar y el plano subcutáneo, pero está presente en la piel periungueal y se puede utilizar, si esta invadida para estimar el nivel de Clark. En general se considera Clark V con involucro del periosteo de la falange. 1

Izumi M et al divide al melanoma subungueal en cuatro estadios 1.- Estadio temprano; melanocitos atípicos dispersos individualmente a lo largo de la capa basal. Los melanocitos suprabasales son extremadamente raros. Los melanocitos son pequeños y el grado de atípia es leve. (atípia se define como agrandamiento nuclear, hipercromatismo, contorno nuclear irregular, nucleólo prominente), atípia leve: cuando el tamaño del núcleo del melanocitos es igual a la célula epitelial del epitelio matricial “onicocito”, atípia moderada: hasta tres veces más grande y atípia severa: tres veces mayor), estadio moderado: atípia moderada o severa cúmulos de melanina gruesa variable, sin mitosis visibles y se asocia con migración pagetoide, atípia severa: de 0-11 mitosis por campo de alta resolución, destrucción del plato ungueal, 4) Invasión a hueso. Estos últimos dos estadios son más fáciles de reconocer.

Park Se-Won define atípia nuclear como agrandamiento nuclear en comparación con el núcleo del onicocito igual o menor en atípia leve, diámetro hasta dos veces más grande atípia moderada y severa más de tres veces. Distribución pagetoide la define como la distribución de melanocitos en todo el espesor del epitelio y los gradúa de la siguiente manera : “nula distribución pagetoide, focal (involucrando <10% del área de la biopsia) o substancial (>10%)” Mismos criterios que utilizamos

## 6.- Inmunohistoquímica en melanoniquia longitudinal.

La biopsia del ML puede ser un reto por varias razones entre las que se encuentran: muestra pequeña, patología poco frecuente y la escasez de expertos en esta área. El principal problema diagnóstico es diferenciar entre una lesión maligna temprana y una lesión benigna lo que a veces resulta un reto para el dermatopatólogo. Se han propuesto criterios para poder diferenciar un lentigo ungueal de un melanoma in situ entre los que se encuentran; aumento en la densidad de melanocitos, melanocitos multinucleados, migración pagetoide multifocal, atíпия citológica y presencia de un moderado a denso infiltrado inflamatorio liquenoide. 4

Theunis a et al reportan la utilidad de inmunotinciones en la melanoniquia longitudinal. La especificidad en los marcadores usualmente utilizados para melanoma varia, enormemente para la proteína S-100 es del 69.93% para HMB-45 del 69 al 92% y para Melan-A del 75 al 92%.

La sensibilidad de la proteína S-100 es baja en proliferaciones benignas y en melanocitos intraepiteliales malignos de la matriz ungueal. Si este marcador es utilizado como único marcador puede ser mal interpretado. Sin embargo, el uso de la proteína S-100 es esencial para diferenciar melanoma invasor carente de componente intraepitelial y particularmente en melanoma desmoplásico de otras proliferaciones epiteliales y mesenquimales.

HMB45 y Melan-A son más sensibles que S-100 para la evaluación de melanocitos intramatriciales siendo el HMB45 el marcador más intenso. En el componente dérmico HMB45, Melan A son menos sensibles que S-100. Ellos concluyen que el panel para la evaluación de una ML debe incluir HMB-45 y/o Melan-A y proteína S-100 solamente si se sospecha invasión. 4



## Material y Métodos:

Se realizó un estudio descriptivo, observacional, retrospectivo y transversal en el servicio de Dermatopatología utilizando los archivos, laminillas y bloques de parafina correspondientes con los diagnósticos de activación de melanocitos (lentigo ungueal, melanoniquia racial), y proliferación de melanocitos (nevo ungueal, melanoma subungueal), del periodo de 1980-2016. Excluyendo todos los diagnósticos de melanoniquia secundaria a otra causa no incluida en activación de melanocitos o proliferación de melanocitos. Se realizó a cada caso técnica de doble inmunohistoquímica marcando (rojo cromógeno el HMB45) HMB45/ki67 y HMB45/MCM2 para ver el nivel de expresión de los marcadores pronósticos (MCM2 y Ki67 Marrón nuclear) en las células marcadas con HMB45.

Los datos recabados incluyeron: Genero, edad, localización de la lesión, tamaño del ancho de la melanoniquia. **Atipia nuclear** la cual se definió a lo propuesto por *Park S et al* como atipia nuclear: agrandamiento del nucleo del melanocito en comparación con el núcleo del onicocito. Igual o menor *atipia leve*, diámetro hasta dos veces más grande *atipia moderada* y *atipia severa* más de tres veces. **Distribución pagetoide** la cual se definió como la distribución de melanocitos en todo el espesor del epitelio graduado de la siguiente manera : “nula” distribución pagetoide, *focal* (involucrando <10% del área de la biopsia) o *sustancial* (>10%)”. **Densidad de los melanocitos**, número de melanocitos en un mm de matriz. **Expresión de Marcadores Ki67 y MCM2** en los melanocitos identificados con HMB45 graduados como Ki67 expresión 1) No detectable 2) >10% y 3) 10-50% 4) > 50% y MCM2 : 1) Intenso, 2) Pálido y 3) No detectable. Cinco casos de melanoma subungueal fueron utilizados como control positivo en los marcadores.

Se realizó el análisis estadístico con el programa SPSS, ANOVA siendo el factor independiente el diagnóstico clínico y los criterios evaluados en el estudio: ***Atipia nuclear, Distribución, Densidad , Expresión de Ki67 y MCM2 en melanocitos marcados con HMB45.***

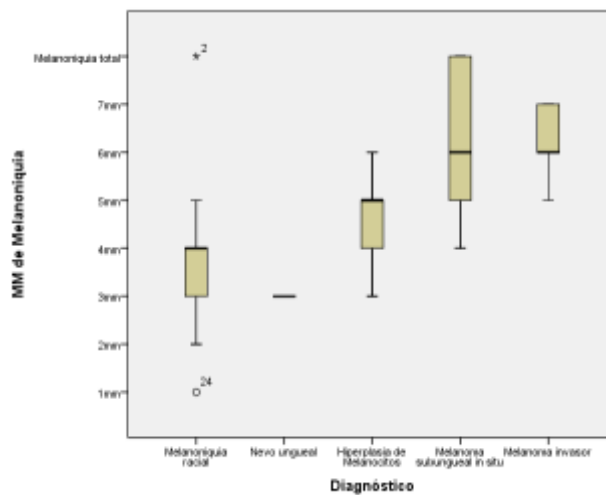
## Resultados:

En el servicio de Dermatopatología del Hospital General de México se encontraron un total de 46 casos con diagnóstico clínico de ML en un periodo de 15 años. De los cuales 29 casos (65%) fueron mujeres y 15 fueron hombres (35%). La edad al momento del diagnóstico osciló entre 1 año de edad hasta 94 años (Edad promedio de 52 años). El sitio más frecuente fue el pulgar y más específicamente de la mano derecha seguido por el primer dedo del pie. La banda de melanoniquia estaba presente en todos los casos al momento del diagnóstico. Únicamente 29 casos contaban con registro de medida del ancho de la banda de melanoniquia la cual guardaba una correlación estadísticamente significativa entre el ancho de la banda y el diagnóstico ( $p < 0.013$  ANOVA). Tabla 1.0. De los 46 casos recabados 14 correspondían a melanoniquia racial (30%), nevo ungueal 3 casos (6.5%), hiperplasia de melanocitos 8 (17%), melanoma subungueal in situ 6 casos (13%) y melanoma invasor 14 casos (30%).

Debido al procesamiento técnico de las muestras únicamente se obtuvieron 26 piezas con tejido viable para la realización de doble inmunohistoquímica con HMB45/ki67-HMB45-MCM2 y el análisis de las variables propuestas en este trabajo. De las 26 biopsias; 20 de las biopsias del aparato ungueal (76%) correspondieron a biopsia longitudinal lateral y 6 (24%) correspondieron a biopsia de matriz ungueal. Tabla 1.1

El número de casos por cada variable se encuentra analizado y detallado en las tablas 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8. En la tabla 1.9 se detalla gráficamente la densidad de melanocitos por diagnóstico

1.0 Tabla de Correlación entre ancho de melanoniquia longitudinal y diagnóstico.



Tipo de Biopsia ungueal Tabla 1.1

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido Biopsia Longitudinal Lateral de aparato Ungueal.	20	76,9	76,9	76,9
Biopsia de Matriz Ungueal	6	23,1	23,1	100,0
Total	26	100,0	100,0	

En la tabla 1.3 se muestran los datos obtenidos al realizar prueba estadística ANOVA como factor independiente el diagnóstico clínico y los criterios evaluados en el estudio: **Atipia nuclear, Distribución, Densidad , Expresión de Ki67 y MCM2** en los melanocitos marcados con HMB45 siendo altamente significativos para todas las variables. En las tablas siguientes se muestra el número de casos por diagnóstico y por escala de la variable analizada. (Tabla 1.4, 1.5 , 1.5, 1.6, 1.7).

**ANOVA Tabla 1.3**

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Expresión MCM2	Entre grupos	4,385	4	1,096	6,577	,001
	Dentro de grupos	3,500	21	,167		
	Total	7,885	25			
Expresión Ki67	Entre grupos	23,638	4	5,909	19,989	,000
	Dentro de grupos	6,208	21	,296		
	Total	29,846	25			
Confluencia de melanocitos	Entre grupos	4,944	4	1,236	16,688	,000
	Dentro de grupos	1,556	21	,074		
	Total	6,500	25			
Distribución pagetoide	Entre grupos	19,218	4	4,804	46,567	,000
	Dentro de grupos	2,167	21	,103		
	Total	21,385	25			
Atipia nuclear	Entre grupos	18,074	4	4,518	37,333	,000
	Dentro de grupos	2,542	21	,121		
	Total	20,615	25			

**Atipia nuclear \*Diagnóstico Histológico tabulación cruzada Tabla 1.4**

Recuento

		Diagnóstico Histológico					Total
		Melanoniq uia racial	Nevo ungueal	Hiperplasia de melanocito s	Melanoma subungueal in situ	Melanoma subungueal invasor	
Atipia nuclear	Atipia nuclear leve	9	2	3	0	0	14
	Atipia nuclear moderada	0	1	0	3	0	4
	Atipia nuclear severa	0	0	0	5	3	8
Total		9	3	3	8	3	26

**Distribución pagetoide\*Diagnóstico Histológico tabulación cruzada 1.5**

Recuento

		Diagnóstico Histológico					Total
		Melanoniq uia racial	Nevo ungueal	Hiperplasi a de melanocito s	Melanoma subungue al in situ	Melanoma subungue al invasor	
Distribución pagetoide	Sin distribución pagetoide	9	3	1	0	0	13
	Distribución focal	0	0	2	2	0	4
	Distribución sustancial	0	0	0	6	3	9
Total		9	3	3	8	3	26

**Confluencia de melanocitos\*Diagnóstico Histológico tabulación cruzada 1.6**

Recuento

		Diagnóstico Histológico					Total
		Melanoniq uia racial	Nevo ungueal	Hiperplasi a de melanocit os	Melanoma subungue al in situ	Melanoma subungue al invasor	
Confluencia de melanocitos	Confluencia de melanocitos	2	0	0	8	3	13
	Sin confluencia de melanocitos	7	3	3	0	0	13
Total		9	3	3	8	3	26

**Expresión Ki67\*Diagnóstico Histológico tabulación cruzada 1.7**

Recuento

		Diagnóstico Histológico					Total
		Melanoniqi a racial	Nevo ungueal	Hiperplasia de melanocitos	Melanoma subungueal in situ	Melanoma subungueal invasor	
Expresión Ki67	Indetectable	9	3	1	0	0	13
	Menor al 10 %	0	0	2	3	0	5
	Del 10 al 50 %	0	0	0	3	2	5

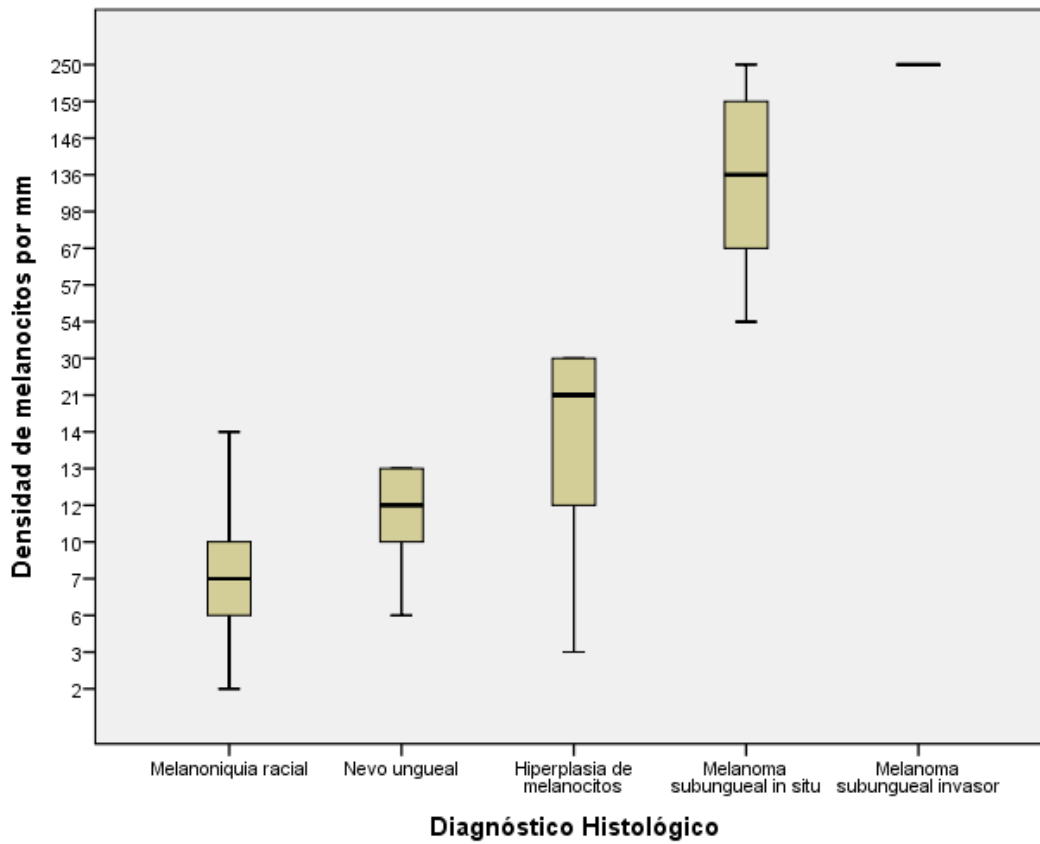
Mayor de 50 %	0	0	0	2	1	3
Total	9	3	3	8	3	26

**Expresión MCM2\*Diagnóstico Histológico tabulación cruzada 1.8**

Recuento

		Diagnóstico Histológico					Total
		Melanoni- a racial	Nevo ungueal	Hiperplasia de melanocitos	Melanoma subungueal in situ	Melanoma subungueal invasor	
Expresión MCM2	Café intenso	9	3	3	3	0	18
	Café pálido	0	0	0	4	3	7
	No detectable	0	0	0	1	0	1
Total		9	3	3	8	3	26

La tabla 1.9 Muestra la Gráfica de dispersión entre la densidad de melanocitos y el diagnóstico histológico.





## **Discusión:**

La Melanoniquia longitudinal representa la forma clínica más común del melanoma subungueal debido al hecho, de que la matriz ungueal es el origen de la mayoría de los casos. Por lo que el diagnóstico temprano en casos de ML que clínicamente son sospechosos de melanoma debe ser analizado cautelosamente para descartar el diagnóstico y así cambiar el pronóstico de la vida del paciente.

En nuestro estudio hubo un franco predominio en mujeres con un 65% siendo el primer dedo de la mano derecha y el primer dedo del pie los lugares más comunes en los que se presentó la ML semejante a lo reportado en la literatura asiática. Es clara la asociación ya previamente reportada por Dominguez J et al. Entre el ancho de la melanoniquia y el diagnóstico definitivo, en población hispana, concordando con su estudio en el que una banda longitudinal de melanoniquia mayor a 4 mm tiene un alto riesgo de tratarse de un melanoma subungueal ( $p < 0.013$  ANOVA). En este estudio se perdieron un número considerable de casos por cuestiones como biopsia ineficiente, mala preservación de tejido y dificultades técnicas al incluir los bloques analizados.

Histológicamente se observó que ninguno de los casos clasificados como melanoniquia racial tenían atipia citológica mismo que reporta Park-S et al en su estudio poniendo de alto valor pronóstico la presencia de atipia citológica (la medición del núcleo de melanocitos en comparación con el onicocito adyacente). El cual fue estadísticamente significativo en nuestro estudio. La Distribución pagetoide no se encontró en ninguno de los casos de melanoniquia racial, siendo presente de manera focal en 2 casos de hiperplasia de melanocitos y presente ya sea de manera focal ó substancial en melanoma subungueal y melanoma invasor siendo más importante en melanoma invasor como era de esperarse. Con una  $p$  de 0.000 altamente significativa. La confluencia de melanocitos se encontro en 2 casos de melanoniquia racial, 8 casos de melanoma subungueal in situ y en 3 de melanoma invasor siendo altamente sugerente que la confluencia de melanocitos debe ser interpretada como sugerente de melanoma.

La densidad de melanocitos en correlación con el diagnóstico coincide con lo reportado por Amin et al. Siendo que nuestro rangos entre 2 a 14 melanocitos por mm correspondían a melanoniquia racial, de 6 a 13 melanocitos por mm a nevo ungueal, 10 a 30 a hiperplasia de melanocitos y apartir de 54 hasta los melanocitos incontables los diagnósticos corresponden a melanoma subungueal in situ e invasor. Los índices de proliferación tanto ki67 como MCM2 fueron altamente significativos siendo el Ki67 más elevado en melanoma ungueal in situ y melanoma invasor y gracias a la doble inmunohistoquímica pudimos detallar específicamente el melanocitos que era positivo para el índice de proliferación. El MCM2 al contrario la baja intensidad del mismo se encontro más en casos de melanoma in situ y melanoma invasor.

**Conclusión:**

El estudio de la melanonquia longitudinal debe ser tomado cautelosamente y debe ser analizado por un dermatopatologo experto para asegurar que el diagnóstico y la clínica mandada tengan una correlación clínico-patológica adecuada. En este estudio proponemos con buen éxito el estudio de doble inmunomarcación para tener datos objetivos en los criterios de clasificación entre, melanoniquia racial, melanoniquia longitudinal y melanoma subungueal in situ y melanoma invasor.

## **Bibliografía:**

- 1.- Ruben BS, Pigmented lesions of the nail unit. Sem Cut Med Surg. 2015 Jun; 34:101-108. Review.
- 2.- Domienguez-Cherit J, Roldan Marin r. Pichardo-velázquez P, et al: Melanonychia hyperplasia, and nail melanoma in a Hispanic population, J am acad Dermatol 59:785-791, 2008
- 3.- Amin b, nehal KS, Jungbluth AA, et a: Histologic distinction between subungual lentigo and melanoma, am J Surg pathol 32:835-843,2008.
- 4.- Theunis a, Richer b, Sass U, Lateur N, Sales f, andré J. Inmunohistochemical study of 40 cases of longitudinal melanonychia. Am J Dermatopathol. 2011;33:27-34.
- 5.- Cooper C, Arva N, Lee c, Yelamos O, Obregon R, Sholl L, Wagner a, Shen I, guitar j, Gerami P. a clinical, histopathologic, and outcome study of melanonchia striata in childhood. J Am acad Dermatol. 2015, 773-779
- 6.- Izumi M, Ohara K, Hoashi T et al. Subungual melanoma: histological examination of 50 cases from early to bone invasion, J dermatol/35-695-703.
- 7.-Park S, Jang K, et al. Scattered atypical melanocytes with hyperchromatic nuclei in the nail matrix: diagnostic clue for early subungual melanoma in situ, J Cutan Pathol 2016;43-41-52.
- 8.- NCCN Clinical Practice guidelines in Oncology, Melanoma 2012, [www.nccn.com](http://www.nccn.com)
- 9.- Levine S, Shapiro R. Surgical treatment of malignant melanoma, Practical Guidelines, Dermatol Clin 2012; 30: 487-501.
- 10.- Clarkson JH, Mc Allister RM, Cliff SH. Subungual melanoma in situ: two independent streaks in one nail bed, Br J Plast Surg 2002; 55:165-167.
- 11.- Moehrle M, Metzger S, Schippert W. Functional surgery in subungual melanoma, Dermatol Surg 2003; 29: 366-74.
- 12.- High WA, Quirey RA, Guillen DR. Presentation histopathologic findings and clinical outcomes in 7 cases of melanoma in situ of the nait unit, Arch Dermatol 2004; 140: 102-106.

13.- Lazar A, Abimelec P, Dumontier C. Full thickness skin graft for nail unit reconstruction, J Hand Surg Br 2005; 30: 194-198.

14.- Ebskov LB. Major amputation for malignant melanoma: an epidemiological study. J Surg Oncol 1993;52:89–91.