



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**  
**HOSPITAL MÉDICA SUR, S. A. B. DE C. V.**

**EXPRESIÓN DE PROTEÍNA PRAME POR  
INMUNOHISTOQUÍMICA EN MELANOMAS  
INVASORES, MELANOMAS IN-SITU, NEVOS  
DISPLÁSICOS Y NEVOS COMPUESTOS, ANALIZADOS  
EN EL LABORATORIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA  
DEL HOSPITAL MÉDICA SUR DE LA CIUDAD DE  
MÉXICO, EN PERIODO DE TRES AÑOS.**

## **TESIS**

QUE PARA OBTENER EL:  
TÍTULO DE ESPECIALISTA

EN:  
**ANATOMÍA PATOLÓGICA**

PRESENTA:  
**ALEJANDRO RAMIREZ MUÑOZ**

TUTORA DE TESIS:  
DRA. RITA DORANTES HEREDIA

CIUDAD DE MÉXICO, 2023.





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.

## INVESTIGADOR RESPONSABLE

Dra. Rita Dorantes Heredia.  
Patóloga Adscrita al servicio de anatomía patológica, profesora adjunta del curso  
de especialidad de anatomía patológica.  
Departamento de Anatomía Patológica Hospital Médica Sur S.A.B De CV.

## INVESTIGADOR PRINCIPAL

Nombre y cargo: Dr. Alejandro Ramírez Muñoz.  
Médico residente de tercer año del curso de especialidad de anatomía patológica.  
Departamento de Anatomía Patológica Hospital Médica Sur S.A.B. De C.V.

## **SEDE:**

Departamento de anatomía patológica del Hospital Médica Sur.

## ÍNDICE:

I.	AGRADECIMIENTOS	4
II.	RESUMEN	5
III.	ANTECEDENTES	6
IV.	MARCO DE REFERENCIA	9
V.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	11
VI.	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	11
VII.	JUSTIFICACIÓN	11
VIII.	OBJETIVOS	12
IX.	HIPÓTESIS	12
X.	DISEÑO DEL ESTUDIO	13
XI.	MATERIALES Y MÉTODOS	14
XII.	DEFINICIÓN DE VARIABLES	15
XIII.	DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTOS	16
XIV.	CONSIDERACIONES ÉTICAS Y CONSENTIMIENTO INFORMADO	19
XV.	RESULTADOS	20
XVI.	DISCUSIÓN	25
XVII.	CONCLUSIONES	32
XVIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

## **I. AGRADECIMIENTOS:**

A mis maestros el Dr. Oscar Díaz, la Dra. Lizeth Pérez, la Dra. Nalleli Durán y en especial al Dr. Carlos Ortiz y la Dra. Rita Dorantes por las enseñanzas y apoyo recibido en estos años. De igual manera agradezco a mis compañeros residentes y al equipo que conforma el laboratorio de anatomía patológica del Hospital Médica Sur.

## II. RESUMEN:

Se realizó un estudio retrospectivo con el objetivo principal de determinar la expresión del marcador PRAME por inmunohistoquímica en nevos compuestos, nevos displásicos, melanomas *in-situ* y melanomas invasores diagnosticados en el laboratorio de anatomía patológica del Hospital Médica Sur en el periodo de tiempo de enero 2019 a diciembre 2022. Se evaluaron 24 casos en total, 14 de ellos con diagnóstico de melanoma invasor, 4 de melanoma *in-situ*, 4 de nevo displásico y 3 de nevo compuesto. La edad promedio de presentación fue de 54 años con una relación 1:1.4 mujer:hombre. Se revisaron bloques y laminillas en el laboratorio de anatomía patológica del Hospital Médica Sur y se les realizó inmunohistoquímica contra la proteína PRAME, obteniendo una positividad de 92.85% en melanomas invasores y de 100% en melanomas *in-situ* con expresión nuclear 4+, mientras que en todos los casos estudiados de nevos displásico y de nevos compuestos PRAME fue negativo con expresión nuclear 0+; esto corresponde a una sensibilidad del 94.4% y una especificidad de 100%, así como un Valor Predictivo Positivo del 100% y un Valor Predictivo Negativo del 85.7%. . Siempre que se evalúa una neoplasia melanocítica benigna y maligna, es indispensable realizar una evaluación histopatológica integral con estudios de inmunohistoquímica y de biología molecular. Es recomendable correlacionar los hallazgos histológicos de rutina y realizar reacciones con anticuerpos por medio de inmunohistoquímica en diagnósticos difíciles de separar entre lesiones melanocíticas benignas y malignas con el anticuerpo PRAME.

### III. ANTECEDENTES:

En el año 2020 a nivel mundial se registraron 324,635 casos de melanoma cutáneo con 57,043 muertes asociadas, ubicando a Latinoamérica y el caribe en el cuarto lugar afectado con una incidencia anual de 18.881 casos (1). La frecuencia de melanoma en México lo ubica en el lugar número veintiuno de los principales tipos de cáncer, con 2,051 casos nuevos y 773 muertes en el último año reportado (2).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) establece que el estándar de oro para el diagnóstico y clasificación del melanoma es la histopatología. La OMS clasifica a los melanomas en tres grandes grupos, primero el grupo de los melanomas que surgen en la piel expuesta al sol en donde se encuentran el melanoma con bajo contenido de daño solar acumulado (CSD) /melanoma de extensión superficial, melanoma con alto contenido de daño solar acumulado (CSD) /melanoma lentigo maligno y el melanoma desmoplásico; el segundo grupo corresponde a melanomas que surgen en sitios protegidos del sol o sin asociaciones etiológicas conocidas con la exposición a radiación UV donde se incluye el melanoma de Spitz, melanoma acral, melanoma mucoso, melanoma que surge en nevus congénito, melanoma que surge en nevus azul y melanoma uveal; y el último grupo con melanomas de contenido de daño solar acumulado alto/bajo donde se incluyen las entidades que no son encasilladas en los dos rubros anterior como los melanomas nodulares, nevoides y metastásicos (3,4) (Tabla 1).

CLASIFICACIÓN DE MELANOMA	
<b>Melanomas que surgen en la piel expuesta al sol</b>	<b>Vía I:</b> melanoma con bajo contenido de CSD/melanoma de extensión superficial
	<b>Vía II:</b> Melanoma con alto contenido de CSD/melanoma lentigo maligno
	<b>Vía III:</b> Melanoma desmoplásico
<b>Melanomas que surgen en sitios protegidos del sol o sin asociaciones etiológicas conocidas con la exposición a la radiación UV</b>	<b>Vía IV:</b> tumor maligno de Spitz (melanoma de Spitz)
	<b>Vía V:</b> Melanoma acral
	<b>Vía VI:</b> Melanoma mucoso
	<b>Vía VII:</b> Melanoma que surge en nevus congénito
	<b>Vía VIII:</b> Melanoma que surge en nevus azul
	<b>Vía IX:</b> Melanoma uveal

Tabla 1: Clasificación histológica del Melanoma. *Melanoma de CSD bajo/alto, melanoma en la piel con un grado bajo/alto de daño solar acumulativo. Varios: melanomas nodulares, nevoides y metastásicos.*

Realizar el diagnóstico diferencial entre un melanoma invasor o in-situ y nevos melanocíticos convencionales y displásicos es en muchas ocasiones un reto para el patólogo, debido a la gran variabilidad morfológica que engloba el apartado de lesiones melanocíticas. Una herramienta útil es el uso de reacciones de inmunohistoquímica, sin embargo, los anticuerpos utilizados frecuentemente en estas neoplasias como el S100, HMB-45 y MELAN-A/MART-1 no ayudan a discriminar entre células melanocíticas neoplásicas benignas y malignas.

Desde el descubrimiento de la sobreexpresión del gen PRAME (Antígeno Preferentemente Expresado en Melanoma) en 1997 (8); se ha avanzado e implementado el uso mediante inmunohistoquímica. Actualmente es un anticuerpo de uso rutinario en laboratorios de todo el mundo encontrando un porcentaje elevado de sensibilidad y especificidad en melanomas. El estudio más amplio se publicó en 2021 por Lezcano C. et al, con una serie de 400 casos incluyendo 155 casos de melanoma invasor e in-situ, mostró una positividad en los invasores de 83.2% y en los in-situ de 93.8%, así mismo en 140 casos de nevos melanocíticos 86.4% carecieron de expresividad nuclear de PRAME (19). De esta manera se vuelve una herramienta útil para diferencias lesiones melanocíticas benignas y atípicas de melanomas en un uso rutinario.

En un artículo publicado en 1997 por Ikeda et al, describieron la amplificación de un gen mediante la amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) en linfocitos T de un melanoma metastásico, encontrando dicho gen corresponde a los ADNc 5E10 y Hi2; al cual propusieron llamarle PRAME (Antígeno Expresado Preferentemente en Melanoma); éste se amplificó en diversos tumores encontrando una positividad para los siguientes: Melanoma (91%), carcinoma de células escamosas del pulmón (78%), adenocarcinoma de pulmón (46%), carcinomas renales (41%), sarcomas (39%), carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (39%) y leucemias agudas (33%). También se encontró en tejidos normales, principalmente es testículo, y en menor proporción en ovario, glándula suprarrenal, riñón, cerebro y piel (8,9).

Se han utilizado distintos marcadores melanocíticos por técnica de inmunohistoquímica. Entre ellos se encuentran la proteína S100, con especificidad de 97-100% y sensibilidad de 75-87%; HMB45 (Human Melanoma Black) con sensibilidad de 77 a 100% y MART1/MELANA (Melanoma Antigen Recognized by T cells 1) (7); sin embargo, estos, aunque muestran amplia sensibilidad no son discriminatorios entre células melanocíticas benignas y malignas (7).

El principal uso por inmunohistoquímica de PRAME está en realizar el diagnóstico de melanoma en lesiones melanocíticas difíciles y diferenciarlas de neoplasia imitadoras como nevos con displasia o atípicos (17, 18); en este sentido se han

publicado algunas series de casos donde se expone la expresividad de este marcador en neoplasias melanocíticas; con variabilidad de expresión distinta, en uno de ellos se mostró una positividad del 83.2% en melanomas invasivos, 93.8% en melanomas in-situ y este mismo fue negativo en 86.4% en nevos melanocíticos (12, 19).

#### **IV. MARCO DE REFERENCIA:**

Dentro del gran número de clasificaciones de lesiones melanocíticas benignas y atípicas, se encuentran los distintos tipos de nevos melanocíticos, entre los cuales se incluyen el lentigo simple, nevo melanocítico lentiginoso, nevos de unión, compuestos, dérmicos, nevos displásicos, nevo spilus, nevos en sitios especiales, nevo de Meyerson, nevo recurrente, nevo penetrante profundo y melanocitoma, melanocitoma epiteliode pigmentado, nevo combinado, nevo de Spitz, nevo de células fusiformes pigmentadas de Reed, nevo acral, nevo genital, nevo azul, nevo azul celular, nevo de Ota, nevo azul, lunar mongol, nevo melanocítico congénito, nevo melanocítico congénito con nódulos proliferativos, nevo conjuntival y neoplasia intraepitelial melanocítica conjuntival (4). En el grupo de neoplasias melanocíticas difíciles de clasificar o entidades intermedias se encuentran las proliferaciones melanocíticas atípicas superficiales de significado desconocido (SAMPUS), los tumores melanocíticos de potencial maligno incierto (MELTUMP) y melanoma delgado de potencial metastásico incierto (THIMUMP) (5).

Las vías moleculares del melanoma son amplias, la patogénesis genómica avanzó importantemente posterior al descubrimiento de la mutación BRAF (BRAF p.V600), principalmente en melanomas con contenido de daño solar acumulado alto, entre ellas, NF1, NRAS, BRAF distinto de p.V600E. Otros como la mutación del promotor TERT en estadios tempranos y la implicación de CDKN2A en la patogénesis han sido estudiados (4), sin embargo recientemente se han descrito cinco vías principales en la aparición, proliferación e invasión del melanoma, como la vía de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK), donde interviene la serina/treonina-proteína quinasa (BRAF), la vía fosfoidilinositol-3-quinasas (PI3K-AKT), el inhibidor dependiente de ciclina 2A (CDKN2A), la vía del factor de transcripción asociado a la microoftalmia (MITF) y finalmente la vía del factor nuclear kappa B (NFkB) (6).

La expresión del gen PRAME está dada principalmente por mecanismos epigenéticos como la metilación del ADN, éste es hipermetilado en la mayoría de los tejidos normales e hipometilado en células neoplásicas malignas (10). En cuanto a su mecanismo oncogénico, PRAME es un represor de la señalización del ácido retinoico (RAR); el cual en circunstancias normales induce la detención de la proliferación, diferenciación y apoptosis; sin embargo, en diversos tumores esta señal anómala del RAR contribuye al crecimiento y supervivencia de las células neoplásicas. (11).

El anticuerpo PRAME presenta inmuno-reactividad nuclear difusa realizado en cortes de bloques en parafina, con expresión de ARNm en melanomas cutáneos,

oculares y en mucosas (12, 13, 14). Con un puntaje de evaluación donde cero no tiñó en absoluto, 1+ tiñó del 1 al 25% de células tumorales, 2+ a 50% se califica como 2+, 51 a 75% como 3+ y el puntaje 4+ corresponde a más de 76% de las células tumorales con expresión nuclear difusa. (12). De igual manera este reactivo puede realizarse en preparados de citología (15) (Tabla 2).

También se puede realizar el inmunomarcaje por medio de inmunofluorescencia mediante la modificación de inmunoglobulina G utilizando un anticuerpo monoclonal 6H8 contra la proteína PRAME modificada con derivados de oxiamnina protegida de colorantes de tipo fluoresceína (16).

<b>Evaluación de PRAME</b>	<b>Porcentaje de células con positividad nuclear por inmunohistoquímica</b>
<b>0</b>	0%
<b>1+</b>	1-25%
<b>2+</b>	26-50%
<b>3+</b>	51-75%
<b>4+</b>	>76%

Tabla 2: Evaluación por inmunohistoquímica del anticuerpo PRAME.

En otro estudio PRAME fue realizado en melanomas cutáneos primarios y en melanomas metastásicos, con una expresividad del 87% y 83.2% respectivamente (20). Además, se han reportado estudios donde evalúan la positividad de metástasis a ganglios linfáticos a este anticuerpo, en uno de ellos hubo una expresión en 30/30 casos (100%) de metástasis ganglionares, lo cual muestra una sensibilidad y especificidad superior a otros marcadores melanocíticos (21). Quizá el uso más importante del anticuerpo para un patólogo es en neoplasias melanocíticas de diagnóstico complejo como el melanoma desmoplásico, el cual presenta pérdida de expresión de marcadores melanocíticos habituales (22,23).

En este sentido, con todo lo previamente mencionado, el anticuerpo PRAME se vuelve una herramienta por inmunohistoquímica accesible al patólogo, de gran ayuda diagnóstica en tumores melanocíticos; más aún en ausencia de acceso a estudios de las vías moleculares implicadas en melanoma.

## **V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

Las lesiones melanocíticas incluyen un amplio espectro de neoplasias con múltiples subclasificaciones y morfología diversa, por lo que la distinción entre ellas y lesiones limítrofes es complicada. Los marcadores melanocíticos habituales que no disciernen entre células neoplásicas benignas de malignas, por ello, es necesario estudiar, implementar y determinar las características de expresión por inmunohistoquímica de nuevos marcadores, que aportan información valiosa para realizar el diagnóstico certero en estas lesiones y así impactar en la terapéutica y pronóstico del paciente.

## **VI. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.**

¿Cuál es el porcentaje de expresión del marcador PRAME por inmunohistoquímica en lesiones melanocíticas incluyendo melanomas invasores, melanomas *in-situ*, nevos displásicos y nevos compuestos?

## **VII. JUSTIFICACIÓN.**

Las lesiones melanocíticas son neoplasias heterogéneas, las cuales tienen características morfológicas de difícil diagnóstico diferencial entre una lesión benigna o atípica y un melanoma, lo cual representa un reto para el patólogo. Conocer la expresión del nuevo marcador de inmunohistoquímica PRAME en nuestra población puede ser una herramienta útil que impacte en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento del paciente.

## **VIII. OBJETIVOS.**

Principal: Determinar la expresión del marcador PRAME por inmunohistoquímica en lesiones melanocíticas que incluyen melanoma invasor, melanoma *in-situ*, nevos displásicos y nevos compuestos diagnosticados en el laboratorio de Anatomía Patológica del Hospital Médica Sur en un periodo de tres años.

Secundario: Evaluar los porcentajes de expresión y negatividad del marcador PRAME en los casos con diagnóstico de neoplasias melanocíticas, calcular la sensibilidad y especificidad de este marcador con la finalidad de discutir su utilidad para el diagnóstico de estos tumores y si deberían utilizarse de manera rutinaria en neoplasias cuya sospecha clínica y morfológica sea de lesión melanocítica.

## **IX. HIPÓTESIS.**

Hipótesis de trabajo: El grado de expresión de proteína PRAME es significativamente distinta entre melanomas in-situ, melanomas invasores, nevos displásicos y nevos compuestos.

Hipótesis nula: El grado de expresión de proteína PRAME es similar entre melanomas in-situ, melanomas invasores, nevos displásicos y nevos compuestos.

## **X. DISEÑO DEL ESTUDIO.**

1. Manipulación por el investigador  
Observacional.
2. Grupo de comparación  
Descriptivo.
3. Seguimiento  
Transversal.
4. Asignación de la maniobra  
No aleatorio.
5. Evaluación  
a) Abierto.
6. Participación del investigador.  
a) Observacional.
7. Recolección de datos  
a) Retrolectivo.
8. Diseño:  
A) Transversal.

## **XI. MATERIALES Y MÉTODOS.**

1. Universo de estudio. Población de estudio. – Todos los casos de lesiones melanocíticas que incluyan melanomas invasores, melanomas *in-situ*, nevos displásicos y nevos compuestos que se encuentren en el laboratorio de anatomía patológica en el Hospital Médica Sur de enero 2019 a diciembre 2022.

2. Tamaño de la muestra.

a) Estudio descriptivo.

Número total de casos del estudio = Todos los casos de lesiones melanocíticas que incluyan melanomas invasores, melanomas *in-situ*, nevos displásicos y nevos compuestos estudiados en el laboratorio de anatomía patológica en el Hospital Médica en el periodo de tiempo de enero 2019 a diciembre 2022.

3. Muestreo.

A) No probabilística.

Consecutivo.

4. Criterios de Selección:

1. Criterios de Inclusión.

Todas las lesiones melanocíticas que incluyan melanomas invasores, melanomas *in-situ*, nevos displásicos y nevos de unión con diagnóstico histopatológico realizado en el laboratorio de anatomía patológica en el Hospital Médica en el periodo de tiempo de enero 2019 a diciembre 2022 (sistema PATHOX).

2. Criterios de exclusión.

Resultados de estudios histopatológico distintos a melanomas invasores, melanomas *in-situ*, nevos displásicos y nevos de unión diagnosticados en el laboratorio de anatomía patológica en el Hospital Médica Sur (sistema PATHOX).

### 3. Criterios de eliminación.

Resultados de estudios histopatológicos con diagnóstico de lesiones melanocíticas que incluyan melanomas invasores, melanomas *in-situ*, nevos displásicos y nevos de unión (encontrados en sistema PATHOX) pero no cuenten con el material histológico (bloque de parafina) dentro del servicio de patología del Hospital Médica Sur.

## XII. DEFINICIÓN DE VARIABLES

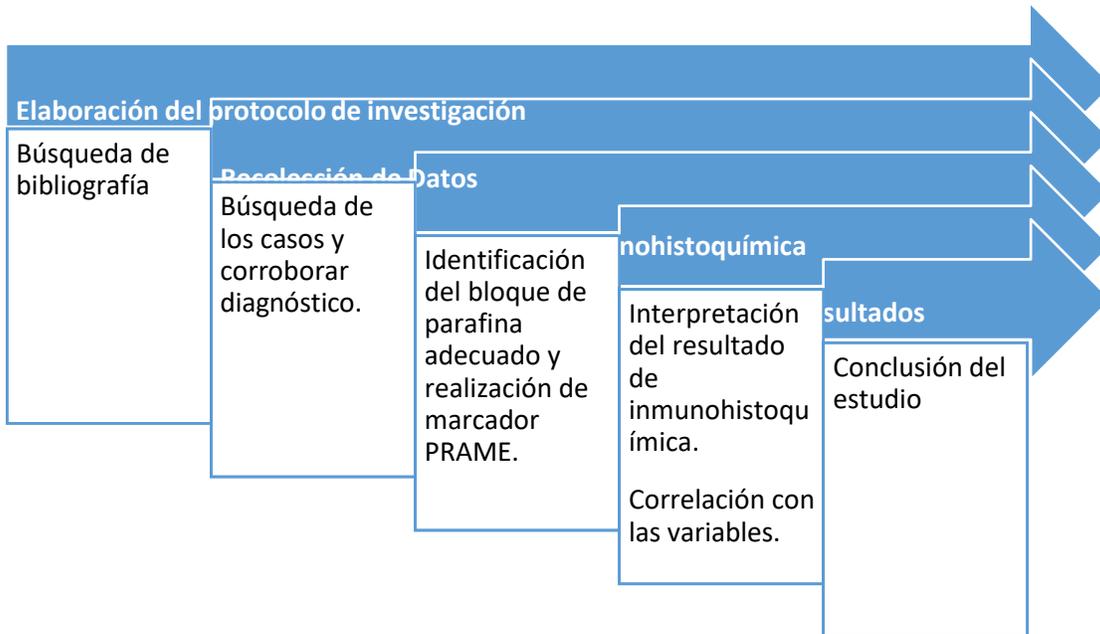
Independientes. Son causa de variación de los fenómenos en estudio <b>(CAUSA)</b>		Dependientes. Datos que son efecto de las variables independientes en estudio <b>(EFECTO)</b>	
<b>Variable</b>	<b>Escala (intervalo, ordinal, nominal)</b>	<b>Variable</b>	<b>Escala (intervalo, ordinal, nominal)</b>
-Edad	- Nominal cuantitativa intervalo 0-99	- Expresión de PRAME	- Cualitativa dicotómica (positivo/negativo) y cuantitativa (1+, 2+, 3+ y 4+).
- Ubicación topográfica (anatómica) del tumor	- Nominal cualitativa		
- Tamaño	- Nominal cuantitativa (mm)		

### XIII. DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTOS.

Se recolectarán todos los casos aleatorios de lesiones melanocíticas, incluyendo nevos compuestos, nevos displásicos, melanomas *in-situ* y melanomas invasores en un periodo de 3 años, revisando laminillas para corroborar el diagnóstico y se llenará base de datos con cada una de las variables.

Posteriormente se identificará el bloque de parafina que contenga el material histológico más adecuado para realizar el marcador de inmunohistoquímica PRAME. Por último, se realizará análisis estadístico, valoración de sensibilidad, especificidad y análisis descriptivo de los resultados obtenidos, así como el cálculo y el reporte del valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo (VPP y VPN).

#### Diagrama de flujo



## Hoja de captura de datos.

Número Quirúrgico (folio).	Edad.	Sexo.	Tipo histológico.	Localización anatómica.	Tamaño (mm).	Breslow (mm).	Expresión de PRAME.	Intensidad de expresión.

## Calendario.

### CALENDARIO DE ACTIVIDADES AÑO 2023

MES 2023	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
DIAS DEL MES	01-31	01-28	01-31	01-30	01-31	01-30	01-31	01-31	01-30	10-31	10-30	01-31
Revisión bibliográfica												
Elaboración del protocolo												
Obtención de la información												
Procesamiento y análisis de los datos												
Elaboración del informe técnico final												
Divulgación de resultados												

## **Recursos.**

### 1. Recursos Humanos.

Investigador: Alejandro Ramírez Muñoz.

Actividad: Recolección de datos, realizar base de datos, revisión de la bibliografía y reporte de resultados.

Número de horas por semana 10 horas.

Investigador: Dra. Rita Dorantes Heredia

Actividad: Revisión de todos los pasos y datos.

Número de horas por semana: 10 horas.

### 2. Recursos materiales.

Los recursos que se requiere adquirir son:

Computadora, Excel, expediente de patología del hospital (PATHOX), SPSS 2019.

### 3. Recursos financieros.

El trabajo se financiará por el departamento de Anatomía Patológica ya que la obtención de los datos se realizará en el programa PATHOX, propio del departamento. Así como también la paquetería de Office de Excel y el programa SPSS 2019 serán los previamente instalados en las computadoras del departamento de Anatomía Patológica del Hospital Medica Sur.

Reactivo de inmunohistoquímica para fines académicos PRAME con el que cuenta el laboratorio de inmunohistoquímica.

## **XIV. CONSIDERACIONES ÉTICAS Y CONSENTIMIENTO INFORMADO**

### **Consideraciones éticas:**

Todos los procedimientos estarán de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud.

En todo momento se asegurará la confidencialidad de datos personales de los reportes registrados en el expediente electrónico de patología del hospital (PATHOX), con la asignación de un folio consecutivo a cada caso para ser identificado. Todos los datos sensibles y de identificación personal, serán omitidos al momento de la creación de los datos.

### **Consentimiento informado:**

Para nuestro estudio. El aviso de privacidad del hospital, firmado por los pacientes al ingreso, estipula que los datos clínicos pueden ser utilizados para investigación. Todos los datos sensibles, escritos y electrónicos, serán omitidos al momento de la creación de las bases de datos.

## XV. RESULTADOS.

Durante el periodo de 3 años en el laboratorio de anatomía patológica del hospital Médica Sur, se registraron 24 casos de estudio como elegibles dentro de los lineamientos del protocolo de esta tesis; dentro de ellos los diagnósticos de nevo compuesto, nevo displásico, melanoma *in-situ* y melanoma invasor (Tabla 3 y Gráfico 2). Distribuidos de la siguiente manera: Nevos compuestos: 3 casos (tabla 4), nevos displásicos: 4 casos (tabla 5), melanomas *in-situ*: 3 casos (tabla 6), melanomas invasores: 14 casos (tabla 7). Los casos tuvieron una distribución heterogénea del sexo, 10 lesiones en el sexo femenino y 14 en el sexo masculino (grafico 1). El promedio de edad fue de 54 años con una mediana de 62 años. En nevos compuestos la presentación de mayor edad fue de 50 años y la menor de 12 años, en nevos displásicos la mayor de 45 años y la menor de 19 años, en melanomas *in-situ* la mayor fue de 77 años y la menor de 62 años y en los melanomas invasores el caso de mayor edad fue de 32 años y el de mayor edad de 97 años.

La topografía fue diversa en los nevos compuestos se reportaron en región perianal, mejilla y conjuntiva cada uno con un 33.33% del total; en nevos displásicos la región afectada mayormente fue el muslo en un 50%, mientras que en melanomas *in-situ* los casos reportados fueron en la extremidad inferior con localización en planta del pie, pierna y muslo en un 33.33% respectivamente y en cuanto a los melanomas invasores la región el pie fue la predominante en un 21.42%.

El tamaño por eje mayor de longitud tuvo variaciones considerables, en los nevos compuestos el de mayor tamaño fue de 6.0 mm y el menor de 4.2 mm, en nevos displásicos de 6.0 mm y 2.0 mm respectivamente, en melanomas *in-situ* desde 25 mm a 8 mm; en estas tres categorías no aplicó profundidad de invasión (Breslow). Mientras que en los melanomas invasores el de eje menor midió 4.02 mm y el mayor midió 80.0 mm, y en cuanto a la profundidad de invasión la menor fue de 0.6 mm y la mayor de 6.9 mm; predominando el subtipo nodular en un 35.71% seguido del tipo extensión superficial en un 28.57%.

Para la evaluación del marcador PRAME se revisaron los bloques de parafina almacenados en el laboratorio de patología. Se evaluaron las laminillas correspondientes a los tumores estudiados. Para la valoración morfológica de los tumores. Se clasificó los tumores según las variantes morfológicas reconocidas por la Organización Mundial de la Salud

PRAME fue positivo en 13 de los 14 casos de melanoma invasor estudiados con una sensibilidad del 92.85 %, mientras que en los melanomas *in-situ* fue positivo en 4 de 4 casos estudiados con una sensibilidad del 100%. En el eje opuesto fue

negativo en 4 de 4 casos de nevos displásicos y en 3 de 3 casos de nevos compuestos (tablas 8 y 9). Esto corresponde a una sensibilidad del 94.4% y una especificidad de 100%, así como un Valor Predictivo Positivo del 100% y un Valor Predictivo Negativo del 85.7% (tabla 10).

### TABLAS:

Tipo de lesión melanocítica	Número de casos estudiados
Melanomas invasores	14
Melanomas <i>in-situ</i>	3
Nevos displásicos	4
Nevos de unión	3
<b>Total:</b>	<b>25</b>

Tabla 3: Total de casos estudiados.

NEVOS COMPUESTOS								
Número de caso	Edad (años)	Sexo	Localización anatómica	Tipo histológico	Tamaño	Índice de Breslow	PRAME	Intensidad PRAME
1	15	M	Conjuntiva	Compuesto	4.2 mm	N/A	Negativo (-)	0+
2	12	M	Mejilla	Compuesto	6.0 mm	N/A	Negativo (-)	0+
3	40	M	Perianal	Compuesto	5.9 mm	N/A	Negativo (-)	0+

Tabla 4: Casos estudiados de nevos compuestos.

NEVOS DISPLÁSICOS								
Número de caso	Edad (años)	Sexo	Localización anatómica	Tipo histológico	Tamaño	Índice de Breslow	PRAME	Intensidad PRAME
1	19	F	Muslo	Displásico	4.0 mm	N/A	Negativo (-)	0+
2	20	M	Muslo	Displásico	6.0 mm	N/A	Negativo (-)	0+
3	26	M	No especificado	Displásico	5.2 mm	N/A	Negativo (-)	0+
4	45	M	Espalda	Displásico	2.0 mm	N/A	Negativo	0+

Tabla 5: Casos estudiados de nevos displásicos.

MELANOMAS <i>IN-SITU</i>								
Número de caso	Edad (años)	Sexo	Localización anatómica	Tipo histológico	Tamaño	Índice de Breslow	PRAME	Intensidad PRAME
1	62	M	Conjuntiva	<i>In-situ</i>	25 mm	N/A	Positivo (+)	4+
2	77	F	Mejilla	<i>In situ</i> con nevo displásico	10 mm	N/A	Positivo (+)	4+
3	62	M	Perianal	<i>In-situ, extensión superficial</i>	8 mm	N/A	Positivo (+)	4+

Tabla 6: Casos estudiados de melanoma *in-situ*.

MELANOMAS INVASORES								
Número de caso	Edad (años)	Sexo	Localización anatómica	Tipo histológico	Tamaño	Índice de Breslow	PRAME	Intensidad PRAME
1	63	F	No especificado	Nodular	6.57 mm	1.17 mm	Positivo (+)	4+
2	97	M	Planta del pie	Nodular	34 mm	6.9 mm	Positivo (+)	4+
3	32	F	Espalda	Extensión superficial	4.02 mm	0.75 mm	Negativo	0+
4	50	F	Mano	Lentigo maligno	12.0 mm	1.6 mm	Positivo (+)	4+
5	85	M	Piel cabelluda	Nodular	10.0 mm	3.11 mm	Positivo (+)	4+
6	55	F	Dedo del pie	Acral	10.0 mm	1.43 mm	Positivo (+)	4+
7	78	M	Piel cabelluda	Nodular	5.0 mm	2.2 mm	Positivo (+)	4+
8	46	M	Pierna	Extensión superficial	10.0 mm	1.66 mm	Positivo (+)	4+
9	70	M	Planta del pie	Extensión superficial	10.0 mm	2.76 mm	Positivo (+)	4+
10	72	F	Espalda	Originado en nevo congénito	80.0 mm	20.0 mm	Positivo (+)	4+
11	68	M	Cara	Desmoplásico	4.5 mm	4.3 mm	Positivo (+)	4+
12	72	F	Pierna	Extensión superficial	15.0 mm	0.74 mm	Positivo (+)	4+

13	46	F	Umbilical	Lentigo maligno	25.0 mm	0.6 mm	Positivo (+)	4+
14	84	F	Pie	Nodular	20.0 mm	4.0 mm	Positivo (+)	4+

Tabla 7: Casos estudiados de melanoma invasor.

Tipo de lesión melanocítica	Número de casos estudiados	PRAME (+)	Porcentaje positividad
Melanomas invasores	14	13	92.85%
Melanomas <i>in-situ</i>	3	3	100%
Nevos displásicos	4	0	0%
Nevos de unión	3	0	0%

Tabla 8: porcentaje de positividad de PRAME en las lesiones estudiadas.

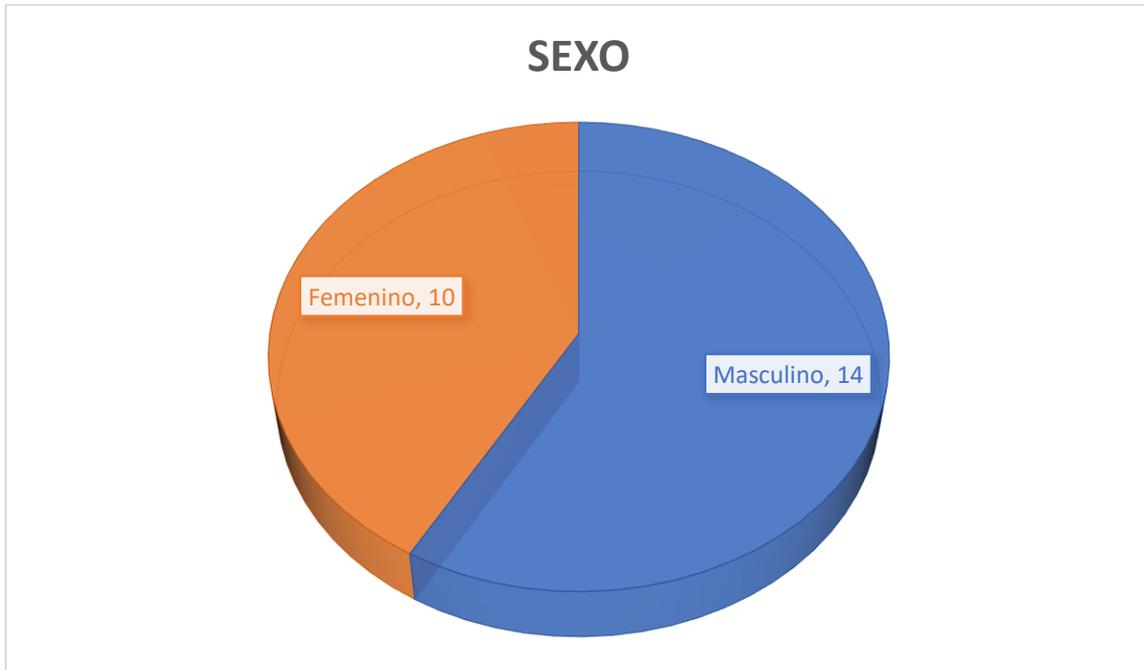
Tipo de lesión melanocítica	Número de casos estudiados	PRAME (-)	Porcentaje negatividad
Melanomas invasores	14	1	7.15%
Melanomas <i>in-situ</i>	3	0	0%
Nevos displásicos	4	4	100%
Nevos de unión	3	3	100%

Tabla 9: porcentaje de negatividad de PRAME en las lesiones estudiadas

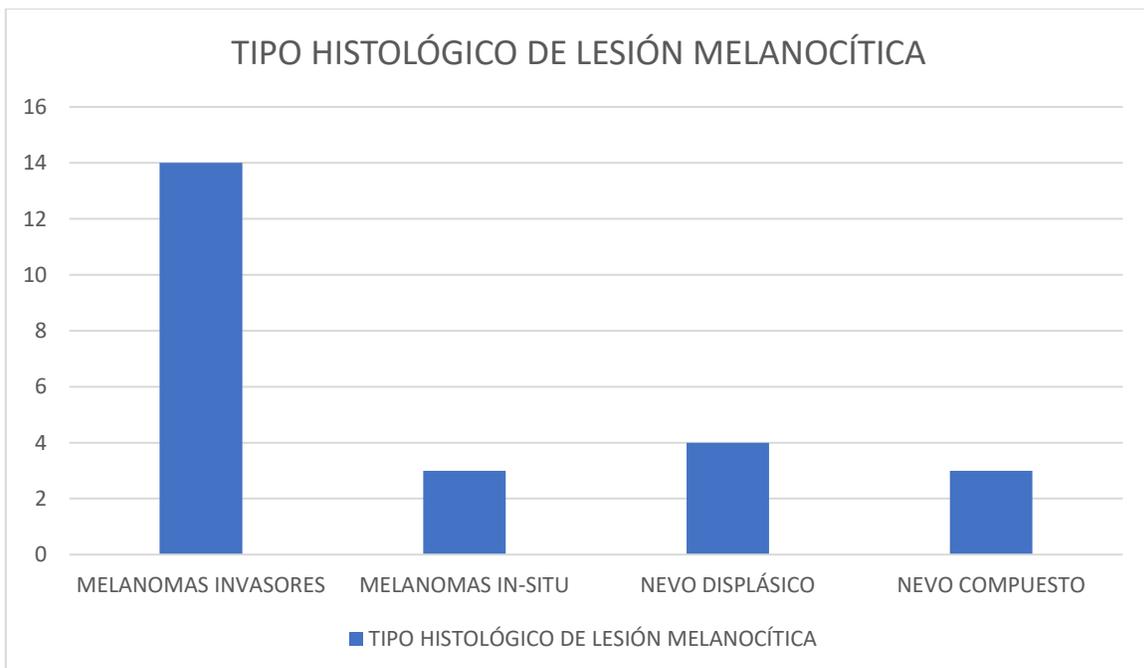
ANTICUERPO PRAME	Melanomas (invasores e <i>in-situ</i> ).	Nevos (displásicos y de unión).	Total
<b>Positivos</b>	17	0	17
<b>Negativos</b>	1	6	7
	18	6	24
<b>Sensibilidad (%)</b>	94.4	Valor Predictivo Positivo	100 (%)
<b>Especificidad (%)</b>	100	Valor Predictivo Negativo	85.7 (%)

Tabla 10: Sensibilidad, Especificidad, Valor Predictivo Positivo y Valor Predictivo Negativo de PRAME en los casos estudiados.

**GRAFICOS:**



Grafica 1: Distribución de casos estudiados por sexo.



Grafica 2: Distribución de los 24 casos estudiados por subtipo histológico de lesión melanocítica.

## XVI. DISCUSIÓN:

Las lesiones melanocíticas son tumores frecuentes en la población mexicana; éstos tienen variantes morfológicas diversas y las de estirpe maligno repercuten negativamente en la morbi-mortalidad de la población de este país. Para el patólogo quirúrgico el diagnóstico cotidiano de éstas es frecuente, sin embargo, también es habitual que entre el gran número de casos se enfrenten a lesiones limítrofes histológicamente, las cuales son difíciles encasillar en la bi-partición de benigno o maligno. Algunos autores han propuesto lesiones de potencial maligno incierto como las proliferaciones melanocíticas atípicas superficiales de significado desconocido (SAMPUS), los tumores melanocíticos de potencial maligno incierto (MELTUMP) y melanoma delgado de potencial metastásico incierto (THIMUMP); en este sentido los marcadores por inmunohistoquímica utilizados habitualmente en los laboratorios de anatomía patológica del país incluyen HMB-25, S-100, MELAN-A/MART-1, MITF-1 entre otros. Por lo que encontrar métodos diagnósticos accesibles que puedan discernir entre células névicas y células de melanoma se hace tentador. He ahí el objetivo de este estudio, determinar la factibilidad del uso rutinario del anticuerpo PRAME en lesiones melanocíticas de difícil diagnóstico histopatológico.

Se obtuvo una población de 24 lesiones melanocíticas, diagnosticadas en el laboratorio de anatomía patológica del Hospital Médica Sur en el periodo de 3 años (enero 2019-diciembre 2022) con el objetivo de valorar la expresión y falta de expresión de la proteína PRAME por inmunohistoquímica en nevos compuestos, nevos displásicos, melanomas *in-situ* y melanomas invasores.

Las lesiones que se estudiaron en ese trabajo se basan en la clasificación por la Organización de las Naciones Unidas en el libro “WHO Classification of Tumors – Skin Tumors” en su última edición (4ta, 2018); sin embargo en nuestro medio no contamos con marcadores de biología molecular descritos en los diversos tumores melanocíticos como BRAF p.V600e, NF1, NRAS, BRAF distinto de p.V600e, mutación del promotor TERT, CDKN2A, vía MAPK, PI3K- AKT, MITF) y NFkB, que nos permitan clasificar estas lesiones molecularmente.

Microscópicamente de acuerdo al texto de tumores de la piel de la OMS (4ta edición, 2018), los nevos displásicos muestran características comunes como alteraciones arquitectónicas, las cuales engloban la presencia de hombros de unión (extensión lateral) adyacentes a un componente dérmico, puentes de nidos entre crestas interpapilares alargadas adyacentes, dispersión suprabasal de melanocitos confinados a los niveles epidérmicos inferiores. menos acentuado que en el melanoma, fibroplasia concéntrica y laminar alrededor de las crestas interpapilares

alargadas y un infiltrado linfocítico parcheado. La atipia citológica está dada por aumento de tamaño de los núcleos, aglutinación de cromatina e hipercromatismo, y nucléolos variablemente prominentes. Las mitosis de melanocitos lesionales intraepidérmicos son infrecuentes, sin embargo, sí están frecuentes son considerados una característica citológica grave, lo que debate el diagnóstico diferencial de melanoma *in situ* (figura 2). Mientras que, en los nevos compuestos, nidos de células neoplásicas están presentes en la unión dermo-epidérmica e intra-dermicos. Las células de la dermis pueden evolucionar desde grandes células epitelioideas de tipo A del nevo hasta pequeñas células de tipo B parecidas a linfocitos y células fusiformes de tipo C con núcleos serpentinos, estructuras que imitan los órganos terminales de los nervios sensoriales y una menor tendencia a la anidación. El mecanismo de maduración subyacente de este cambio fenotípico no está claro. La maduración puede reflejar cambios citológicos inducidos por factores secretados por estructuras epiteliales, como la epidermis y los apéndices (figura 3).

Los melanomas *in situ* e invasores mostraban proliferación intraepidérmica de células individuales en muchos niveles de la epidermis y nidos de tamaño variable a lo largo de la unión dermoepidérmica. Los melanocitos atípicos tienen núcleos grandes, cromatina agrupada irregularmente o densa, nucléolos prominentes y citoplasma eosinofílico o ligeramente pigmentado, y en el caso del segundo grupo con ruptura de la membrana basal e invasión a la dermis subyacente (figura 4).

En este estudio se revisaron los cortes teñidos con hematoxilina y eosina de 24 lesiones melanocíticas. En el análisis microscópico identificó y corroboró la adecuada categorización diagnóstica en melanomas invasores, melanomas *in-situ*, nevos displásicos y nevos compuestos. En nuestro estudio tuvimos una población heterogénea de 14 hombres y 10 mujeres, con una edad promedio de 54 años (rango de 12 a 97 años). En nuestra población se identificaron puntos a resaltar de acuerdo a cada tipo de lesión estudiada. En primera instancia la localización no siguió patrones repetitivos, de tal manera que se estudiaron topografías diversas. En los nevos compuestos hubo tres localizaciones, la conjuntiva, la mejilla y la región perianal; mientras que en los nevos displásicos dos casos se localizaron en el muslo, uno en la espalda y el caso restante en sitio no especificado. Por su parte en los melanomas *in-situ*, se incluyeron lesiones en la planta del pie, pierna y muslo en los tres casos estudiados. En la mayor parte de la muestra representada por los melanomas invasores es donde se destaca mayor diversidad localizados en la planta del pie, espalda, piel cabelluda, pie y pierna con dos casos en cada zona, en menor medida la mano, cara, región umbilical y sitio no especificado con un caso cada uno de ellos.

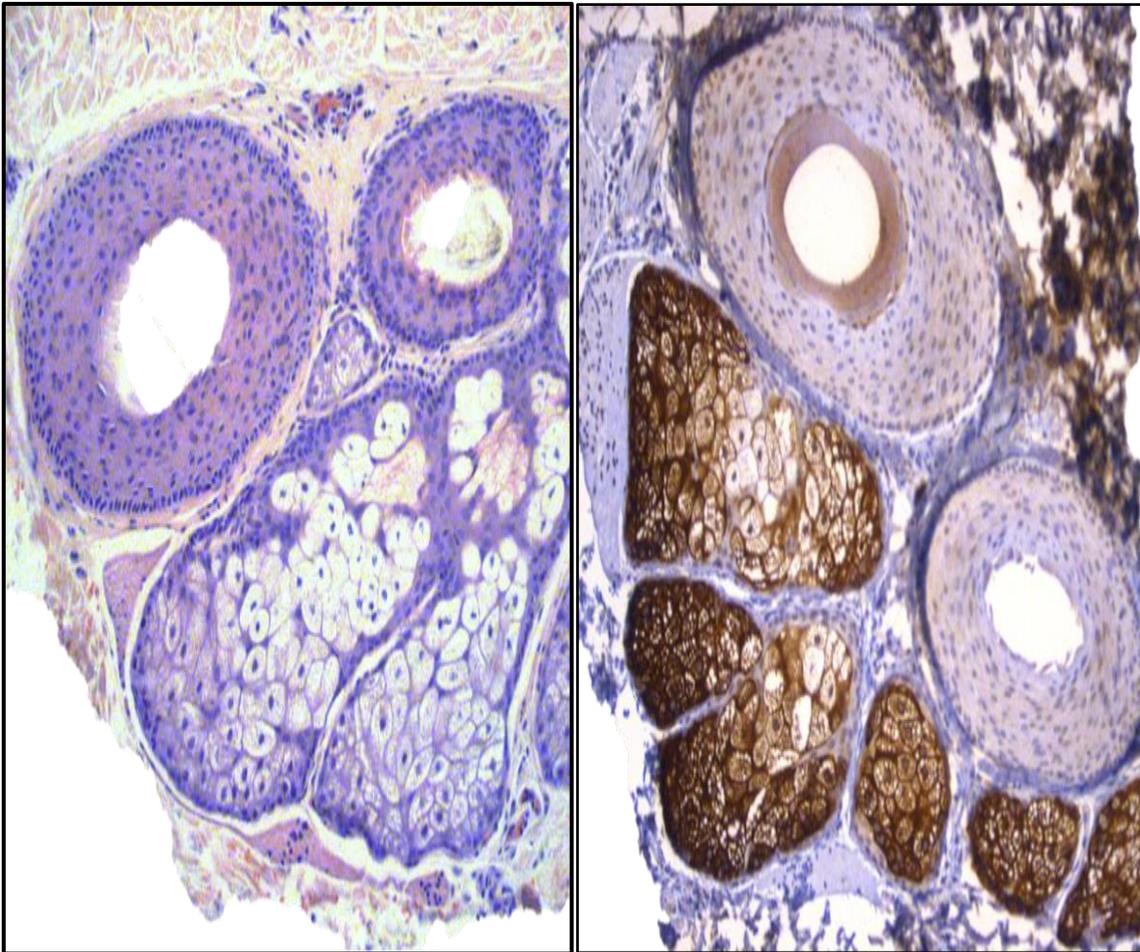
El tamaño de los tumores melanocíticos en nuestro estudio fue altamente variable. El de mayor tamaño fue un melanoma invasor originado en un nevo congénito en

región dorsal, con una longitud en el eje mayor de 80.0 mm, y en cuanto a la profundidad de invasión éste también fue el de mayor penetrancia con un índice de Breslow de 20.0 mm.

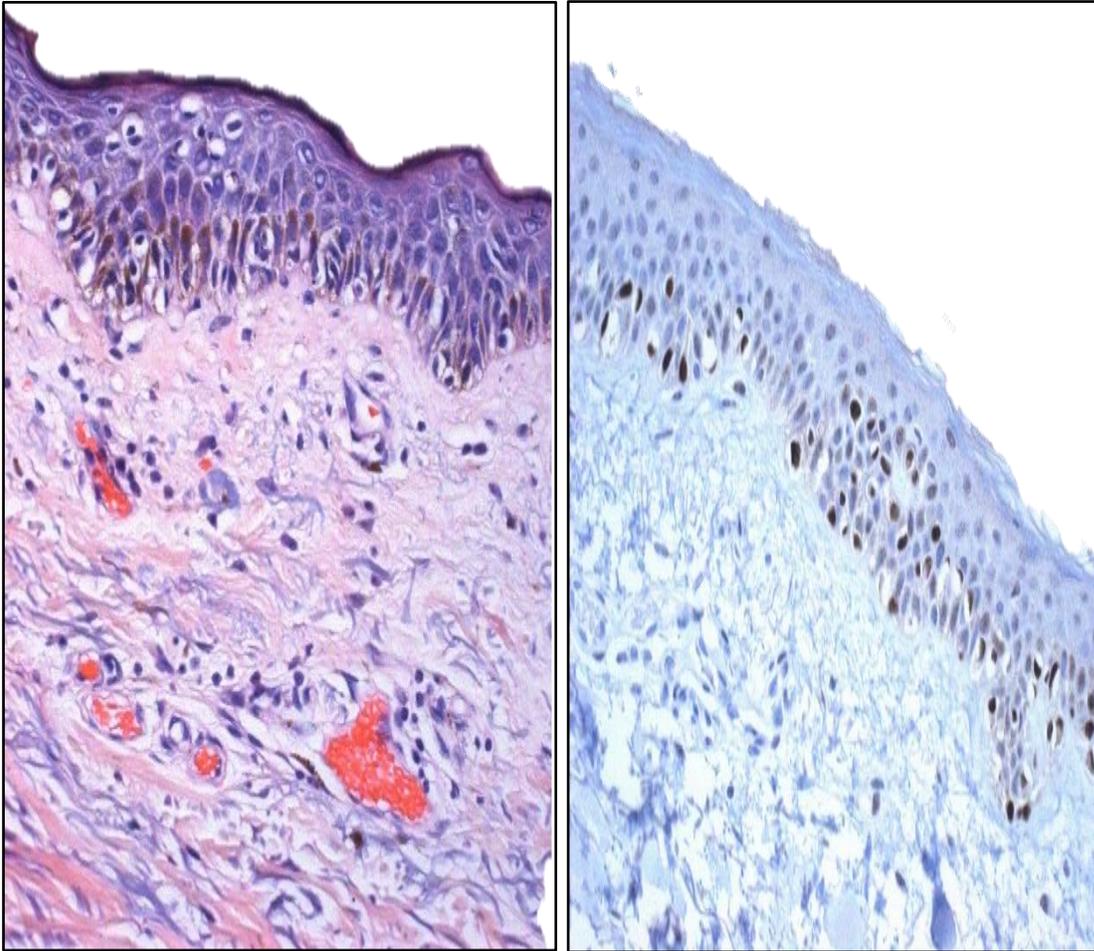
Por lo anterior y debido a las dificultades que el patólogo puede enfrentar con un análisis histopatológico convencional solo con hematoxilina y eosina de estas lesiones es indispensable el apoyo de estudios complementarios, por lo menos, estudios de inmunohistoquímica, para realizar el diagnóstico de lesiones melanocíticas benignas, displásicas o francamente malignas.

Al realizar la reacción por inmunohistoquímica con el anticuerpo PRAME evaluado con un puntaje de evaluación donde cero no tiñó en absoluto, 1+ tiñó del 1 al 25% de células tumorales, 2+ a 50% se califica como 2+, 51 a 75% como 3+ y el puntaje 4+ corresponde a más de 76% de las células tumorales con expresión nuclear difusa y control interno en las glándulas sebáceas de la unidad pilo-sebácea dérmica (figura 1) (de acuerdo al estudio de Lezcano C. et al. 2018), se obtuvieron resultados interesantes, en la hipótesis planteada se plasmó que los melanomas *in-situ* e invasores tendrán expresión de PRAME, mientras que los nevos compuestos y displásicos serán negativos. En ese sentido en 13 de los 14 melanomas invasores con una sensibilidad del 92.85%, el caso negativo corresponde a un melanoma invasor, tipo extensión superficial localizado en la espalda en una mujer de 32 años con un tamaño de 4.02 mm y una profundidad de invasión medida con el índice de Breslow de 0.75 mm, mientras que los melanomas *in-situ* fueron positivos en 3 de 3 casos estudiados. En la contraparte las lesiones melanocíticas no malignas como los nevos compuestos y los nevos displásicos no tuvieron expresión nuclear de PRAME en ninguno de los casos realizados.

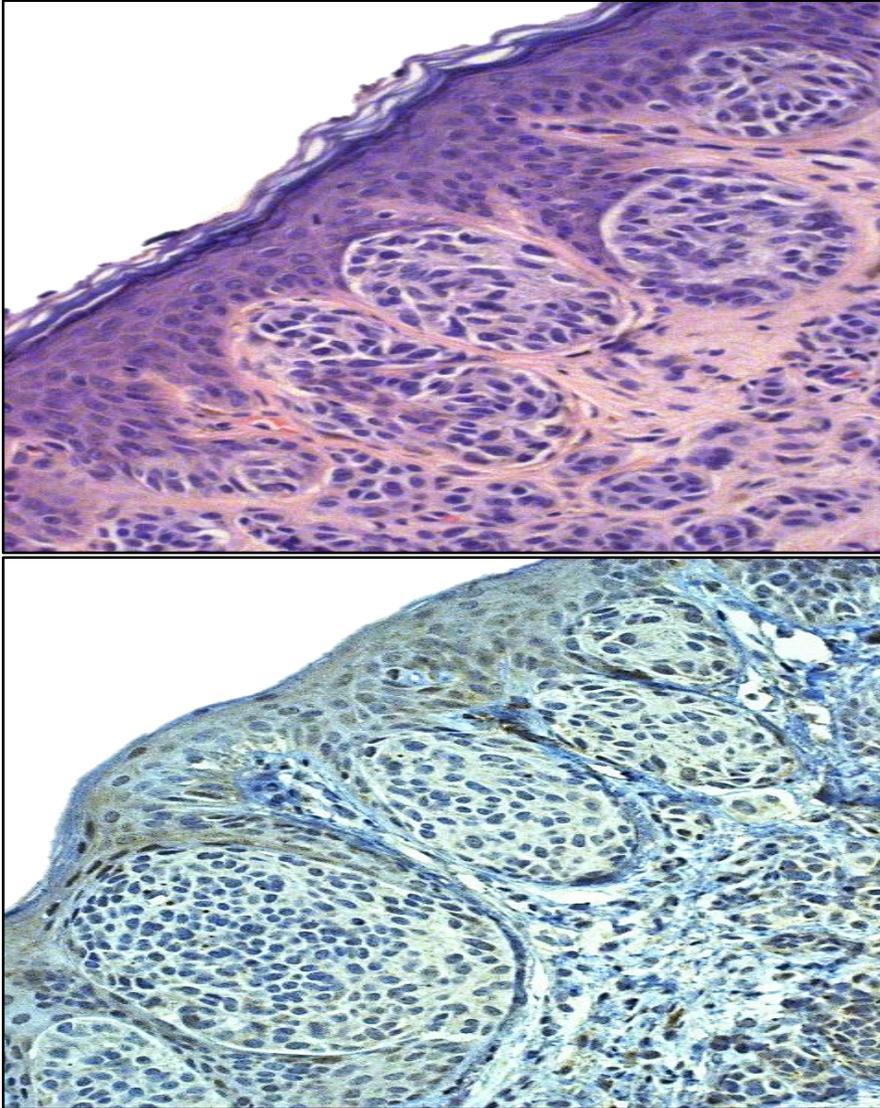
El estudio que realizamos se centró primordialmente en el aspecto diagnóstico de este grupo de lesiones melanocíticas para hacer una distinción inmunohistoquímica entre células névicas benignas o displásicas y células de melanoma francamente malignas. La bibliografía disponible pone en evidencia la poca utilización de este anticuerpo en regiones como Latinoamérica, mientras que ha sido mayormente estudiado y utilizado en países como Estados Unidos y gran parte de Europa, de donde se obtuvieron las fuentes de información. Por lo que es un área de oportunidad y una herramienta accesible el contar con el anticuerpo PRAME, para el diagnóstico cotidiano de lesiones melanocíticas difíciles de diagnósticas entre benignas y malignas, principalmente en laboratorios de anatomía patológica sin área de biología molecular.



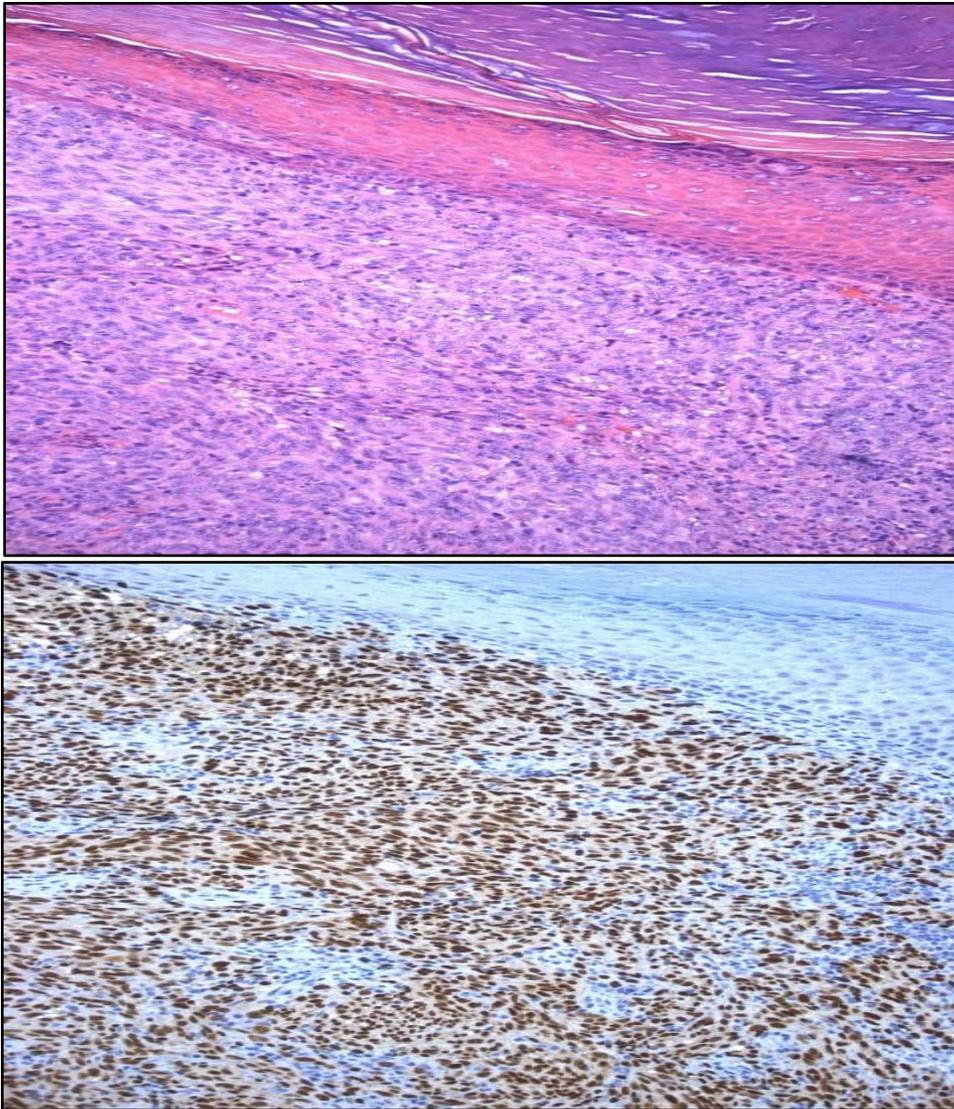
**Figura 1:** A) Hematoxilina/eosina 40x; unidad folículo-sebácea en un caso de melanoma *in-situ* (caso 1). B) Inmunohistoquímica PRAME 40x; control interno con tinción citoplásmica en células de la glándula sebácea.



**Figura 2:** A) Hematoxilina/eosina 40x; melanoma *in-situ* (caso 1). B) Inmunohistoquímica PRAME 40x; positivo nuclear 4+ en células de melanoma *in-situ*.



**Figura 4:** A) Hematoxilina/eosina 40x; nevo compuesto (caso 3). B) Inmunohistoquímica PRAME 40x; negativo en células névicas.



**Figura 3:** A) Hematoxilina/eosina 40x; melanoma invasivo, subtipo nodular en piel acral (caso 1). B) Inmunohistoquímica PRAME 40x; positivo nuclear 4+ en células de melanoma invasor nodular.

## **XVII. CONCLUSIONES:**

Se revisaron 24 lesiones diagnosticadas en el laboratorio de anatomía patológica del Hospital Médica Sur de la ciudad de México en un periodo de 3 años. Los tumores analizados tuvieron los diagnósticos de nevo compuesto, nevo displásico, melanoma *in-situ* y melanoma invasor. Se evaluó las características histopatológicas e inmunofenotípicas con el marcador PRAME. Se encontró una alta sensibilidad y especificidad en cuanto a la positividad de células de melanoma en los melanomas *in-situ* y en los melanomas invasores (100% y 92.85% respectivamente), mientras que en las células névicas de los nevos compuestos y los nevos displásicos el anticuerpo no tuvo expresión; esto corresponde a una sensibilidad del 94.4% y una especificidad de 100%, así como un Valor Predictivo Positivo del 100% y un Valor Predictivo Negativo del 85.7%. Los diversos subtipos de las lesiones melanocíticas categorizados en la calificación actual de la Organización Mundial de la Salud, son bastos, de tal manera que es fundamental distinguir entre cada uno de ellos, en ese sentido la bi-partición fundamental del diagnóstico se divide entre benignas y malignas, sin embargo, en ocasiones hay entidades morfológicamente difíciles de categorizar en estos dos rubros, es ahí donde estriba la importancia de encontrar y realizar técnicas y métodos que ayuden al patólogo, en ese caso se analizó el anticuerpo PRAME como un auxiliar útil, siempre de la mano con el aspecto histopatológico para poder diferenciar estas lesiones entre benignas y malignas, o dicho de otro modo, entre nevos y melanomas.

## XVII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Melanoma of skin Source: Globocan 2020. 2020 [cited 2022 Dec 5]; Available from: <https://gco.iarc.fr/today>
2. Mexico, Source: Globocan 2020. 2020 [cited 2022 Dec 5]; Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/484-mexico-factsheets.pdf>
3. Massi D, Cree I, Elder DE, Kazakov D, Scolyer RA. WHO Classification of Skin Tumours. WHO classification of skin tumours. International Agency for Research on Cancer(IARC); 2018. 201–202 p.
4. Ferrara G, Argenziano G. The WHO 2018 Classification of Cutaneous Melanocytic Neoplasms: Suggestions From Routine Practice. *Front Oncol* [Internet]. 2021 Jul 2 [cited 2022 Dec 5];11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34277420/>.
5. Roncati L, Pisciole F, Pusiol T. SAMPUS, MELTUMP and THIMUMP-Diagnostic Categories Characterized by Uncertain Biological Behavior SAMPUS, MELTUMP a THIMUMP-diagnostické kategorie charakterizované nejistým biologickým chováním. *Klin Onkol* [Internet]. 2017 [cited 2022 Dec 5];30(3):221–3. Available from: [www.linkos.cz](http://www.linkos.cz).
6. Mimeault M, Batra SK. Novel biomarkers and therapeutic targets for optimizing the therapeutic management of melanomas. 2012 [cited 2022 Dec 5]; Available from: <http://dx.doi.org/10.5306/wjco.v3.i3.32>
7. Quilaqueo N, Navarrete F, Sandoval C, Roa I, Pellón M, Paredes M. Immunohistochemical Markers in the Differential Diagnosis of Melanoma and Nevus in Humans Marcadores Inmunohistoquímicos en el Diagnóstico Diferencial de Melanoma y Nevos en Humanos. *Int J Morphol*. 2021;39(5):1509–15.
8. Ikeda H, Lethé B, Lehmann F, van Baren N, Baurain JF, de Smet C, et al. Characterization of an antigen that is recognized on a melanoma showing partial HLA loss by CTL expressing an NK inhibitory receptor. *Immunity*. 1997;6(2):199–208.
9. Xu Y, Zou R, Wang J, Wang Z wei, Zhu X. The role of the cancer testis antigen PRAME in tumorigenesis and immunotherapy in human cancer. *Cell Prolif* [Internet]. 2020 Mar 1 [cited 2022 Dec 5];53(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32022332/>
10. Schenk T, Stengel S, Goellner S, Steinbach D, Saluz HP. Hypomethylation of PRAME is responsible for its aberrant overexpression in human malignancies. *Genes Chromosomes Cancer* [Internet]. 2007 Sep [cited 2022 Dec 5];46(9):796–804. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17534929/>
11. Cazzato G, Mangialardi K, Falcicchio G, Colagrande A, Ingravallo G, Arezzo F, et al. Preferentially Expressed Antigen in Melanoma (PRAME) and Human Malignant Melanoma: A Retrospective Study. *Genes (Basel)* [Internet]. 2022 Mar 1 [cited 2022 Dec 5];13(3). Available from: [/pmc/articles/PMC8951616/](https://pmc/articles/PMC8951616/)

12. Lezcano C, Jungbluth AA, Nehal KS, Hollmann TJ, Busam KJ. PRAME Expression in Melanocytic Tumors. *Am J Surg Pathol* [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2022 Dec 5];42(11):1456–65. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30045064/>
13. Toyama A, Siegel L, Nelson AC, Najmuddin M, Bu L, LaRue R, et al. Analyses of Molecular and Histopathologic Features and Expression of PRAME by Immunohistochemistry in Mucosal Melanomas. *Mod Pathol* [Internet]. 2019 Dec 1 [cited 2022 Dec 5];32(12):1727. Available from: </pmc/articles/PMC6881537/>
14. LeBlanc RE, Miller DM, Zegans ME. PRAME immunohistochemistry is useful in the evaluation of conjunctival melanomas, nevi, and primary acquired melanosis. *J Cutan Pathol* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2022 Dec 5];48(12):1442–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34089198/>
15. Ronchi A, Zito Marino F, Moscarella E, Brancaccio G, Argenziano G, Troiani T, et al. PRAME Immunocytochemistry for the Diagnosis of Melanoma Metastases in Cytological Samples. *Diagnostics* [Internet]. 2022 Mar 1 [cited 2022 Dec 5];12(3). Available from: </pmc/articles/PMC8947731/>
16. Sapozhnikova KA, Misyurin VA, Ryazantsev DY, Kokin EA, Finashutina YP, Alexeeva A v., et al. Sensitive Immunofluorescent Detection of the PRAME Antigen Using a Practical Antibody Conjugation Approach. *International Journal of Molecular Sciences* 2021, Vol 22, Page 12845 [Internet]. 2021 Nov 27 [cited 2022 Dec 5];22(23):12845. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/23/12845/htm>
17. Gassenmaier M, Hahn M, Metzler G, Bauer J, Yazdi AS, Keim U, et al. Diffuse PRAME Expression Is Highly Specific for Thin Melanomas in the Distinction from Severely Dysplastic Nevi but Does Not Distinguish Metastasizing from Non-Metastasizing Thin Melanomas. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2021 Aug 1 [cited 2022 Dec 5];13(15). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34359765/>
18. Lohman ME, Steen AJ, Grekin RC, North JP. The utility of PRAME staining in identifying malignant transformation of melanocytic nevi. *J Cutan Pathol* [Internet]. 2021 Jul 1 [cited 2022 Dec 5];48(7):856–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33433032/>
19. Lezcano C, Jungbluth AA, Busam KJ. PRAME Immunohistochemistry as an Ancillary Test for the Assessment of Melanocytic Lesions. *Surg Pathol Clin* [Internet]. 2021/04/28. 2021 Jun;14(2):165–75. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34023098>
20. Lezcano C, Pulitzer M, Moy AP, Hollmann TJ, Jungbluth AA, Busam KJ. Immunohistochemistry for PRAME in the Distinction of Nodal Nevi From Metastatic Melanoma. *Am J Surg Pathol* [Internet]. 2020 Apr 1 [cited 2022 Dec 5];44(4):503–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31633488/>.
21. Ronchi A, Montella M, Zito Marino F, Argenziano G, Moscarella E, Brancaccio G, et al. Cytologic diagnosis of metastatic melanoma by FNA: A practical review. *Cancer Cytopathol* [Internet]. 2022 Jan 1 [cited 2022 Dec 5];130(1):18. Available from: </pmc/articles/PMC9292535/>

22. Alomari AK, Tharp AW, Umphress B, Kowal RP. The utility of PRAME immunohistochemistry in the evaluation of challenging melanocytic tumors. *J Cutan Pathol* [Internet]. 2021 Sep 1 [cited 2022 Dec 5];48(9):1115–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33660310/>.
23. Plotzke JM, Zoumberos NA, Hrycaj SM, Harms PW, Bresler SC, Chan MP. PRAME expression is similar in scar and desmoplastic melanoma. *J Cutan Pathol* [Internet]. 2022 Sep 1 [cited 2022 Dec 5];49(9):829–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35752877/>