



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
ENTIDADES PARTICIPANTES: HOSPITAL GENERAL "DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ"
CAMPO DE CONOCIMIENTO: CIENCIAS MÉDICAS

**"EXPRESIÓN DE CD10, BCL-2, P53 y Ki-67 EN NEVOS DISPLÁSICOS
COMPARADA CON NEVOS MELANOCÍTICOS Y MELANOMA CUTÁNEO"**

MODALIDAD DE GRADUACIÓN:
TESIS

PRESENTA:
DRA. CLAUDIA JESSICA ESPINOZA HERNÁNDEZ

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS E INVESTIGACIÓN

TUTOR PRINCIPAL:
DRA. MARÍA ELISA VEGA MEMIJE
JEFE DE DEPARTAMENTO DE DERMATOPATOLOGÍA
HOSPITAL GENERAL "DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ"

CIUDAD DE MÉXICO, AGOSTO 2017.



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 mi familia por su apoyo y cariño incondicionales.

A mi asesora de tesis, Dra. María Elisa Vega Memije por la orientación y ayuda que me brindó para la realización de esta tesis, por su apoyo y amistad que me permitieron aprender mucho más que lo estudiado en el proyecto.

A la Dra. Sonia Toussaint Caire, por su apoyo moral, enseñanzas, consejos y brindarme material para la elaboración del proyecto.

Al Dr. Juan Carlos Cuevas por su apoyo moral, brindarme material y equipo para la elaboración de proyecto y su enseñanza de la técnica inmunohistoquímica.

A todos mis profesores de la Maestría en Ciencias Médicas del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, por su profesionalismo, enseñanzas y paciencia.

ÍNDICE GENERAL

Contenido		No. de página
	Agradecimientos 2
I	Resumen 4
II	Marco teórico 5
III	Pregunta de investigación 21
IV	Planteamiento del problema 21
IV	Justificación 22
VI	Objetivos 22
VII	Hipótesis 23
VIII	Diseño del estudio 23
IX	Resultados 28
XI	Discusión 37
XII	Conclusiones 42
XIII	Referencias 42

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Características sociodemográficas de los grupos estudiados.	28
Tabla II. Características de los nevos displásicos.	29
Tabla III. Características observadas en el grupo con melanoma cutáneo.	29
Tabla IV. Nivel de expresión de CD10 en los grupos estudiados.	31
Tabla V. Nivel de expresión de Bcl-2 en los grupos estudiados.	32
Tabla VI. Nivel de expresión de p53 en los grupos estudiados.	34
Tabla VII. Nivel de expresión de ki-67 en los grupos estudiados.	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Inmunomarcación para CD10	31
Figura 2. Inmunomarcación para Bcl-2	33
Figura 3. Inmunomarcación para p53	34
Figura 4. Inmunomarcación para ki-67	36

I. RESUMEN

Marco teórico: Los nevos displásicos son considerados por algunos autores como un factor de riesgo importante para el desarrollo de melanoma cutáneo. Existe controversia en la definición de su nomenclatura, diagnóstico clínico, criterios dermatoscópicos, diagnóstico histopatológico y aspectos terapéuticos. Los aspectos moleculares de inmunohistoquímica pueden ser de utilidad para evaluar su comportamiento biológico y disipar las controversias existentes.

Objetivo: Se analizó la expresión inmunohistoquímica de marcadores anti-apoptóticos y de proliferación celular (CD10, Bcl-2, p53 y Ki-67) en nevos displásicos, la cual se comparó con la de nevos melanocíticos y de melanoma cutáneo.

Métodos: Se realizó un estudio observacional, transversal y comparativo que evaluó la expresión de los inmunomarcadores CD10, Bcl-2, p53 y Ki-67 en 23 muestras de nevos displásicos. De manera similar 23 muestras de nevos melanocíticos y 23 muestras de melanoma cutáneo fueron analizadas para su comparación. Fueron evaluadas las variables clínico-patológicas de edad, sexo, topografía, tipo histológico, índice de Breslow, presencia de ulceración, mitosis, regresión, alteraciones en el estroma, angiotropismo, neurotropismo.

Resultados: Se encontró en el análisis inmunohistoquímico una expresión negativa a débil de CD10 en el 4.3% de los nevos displásicos y de los nevos melanocíticos comparados con el grupo de melanoma cuya tasa de expresión global fue del 43.5% ($p=0.009$), con un patrón citoplásmico. Los tres grupos de estudio presentaron una positividad del 95.6% a Bcl-2, siendo su expresión en los 3 grupos moderada a fuerte con un patrón citoplásmico (nevos displásicos vs nevos melanocíticos $p=0.6$, nevos displásicos vs melanoma $p=0.45$). Ninguno de los casos de nevos displásicos y de nevos melanocíticos fueron positivos para p53, mientras que el 26% de los casos de melanoma lo expresaron ($p=0.10$). Se observó un mayor índice de proliferación celular medido por ki-67 con un patrón nuclear en las lesiones de melanoma (78.2%) comparado con las lesiones de nevos displásicos (0%, $p<0.001$) y nevos melanocíticos (4.3%).

Conclusiones: El comportamiento de los nevos displásicos es similar al observado en los nevos melanocíticos benignos, en donde ambos presentaron una tasa de expresión semejante de marcadores anti-apoptóticos y marcadores de proliferación celular.

II. MARCO TEÓRICO

Los nevos displásicos son considerados por algunos autores como un factor de riesgo para el desarrollo de melanoma cutáneo.¹ Desde su descripción ha sido fuente de controversia en diversos sentidos, desde el nombre asignado hasta los criterios clínicos e histológicos empleados. Asimismo, el tratamiento ha sido polémico, algunos autores plantean la necesidad de su extirpación quirúrgica completa, mientras que otros sugieren su observación periódica.^{1,2}

Las primeras observaciones fueron publicados por Clark *et al* en 1978, quienes reportaron un incremento en la incidencia de melanoma cutáneo en familias con múltiples lesiones melanocíticas. En base a ello se introdujo la teoría del modelo de progresión tumoral de melanoma a partir de una lesión melanocítica, acuñándose el término de “Síndrome B-K”, en referencia a la primera letra de dos pacientes especialmente útiles en el estudio de la entidad.^{1,3} En 1980, Elder y cols extendieron la teoría de “nevos-melanoma” e introdujeron el término de “nevos displásicos” como probables percursores de melanoma esporádico, en un contexto no-familiar. Actualmente, múltiples nombres son utilizados en la literatura para referirse a estas lesiones, incluyendo nevo B-K, nevo de Clark, nevo atípico, nevo con alteraciones arquitectónicas.^{1,4} La histopatología de estas lesiones es de igual manera controvertida y debatida. Múltiples nomenclaturas histológicas se han propuesto como: alteraciones arquitectónicas, proliferación melanocítica pagetoide, proliferación melanocítica atípica y neoplasia melanocítica intraepitelial.⁵ En un intento de resolver el debate, se acordó, en el *National Institutes of Health (NIH) Consensus Development Conference* en 1992, que los nevos displásicos son una entidad clínico-patológica distinta a los nevos melanocíticos comunes¹ y que el término “nevos displásicos” se sustituyera por “nevos con alteraciones arquitectónicas”, acompañada del grado de atipia (leve, moderada o severa); sin embargo este término no ha sido del todo aceptado y la mayoría de dermatólogos (62%) continúan utilizando el término de “nevo displásico”.^{1,2,5} Asimismo se definió el síndrome de nevos displásicos como: 1) ocurrencia de melanoma

en uno o más familiares de primer o segundo grado, 2) múltiples nevos melanocíticos (más de 50), algunos de los cuales son atípicos en forma y tamaño, 3) nevos melanocíticos con ciertas características histopatológicas.¹

El mayor reto en relación a los nevos displásicos radica en controversias en su nomenclatura, diagnóstico clínico, criterios dermatoscópicos, diagnóstico histopatológico, aspectos moleculares y tratamiento.

a) Aspectos epidemiológicos

La prevalencia de nevos displásicos en la población general no está bien establecida, en parte, debido a que la mayoría de los estudios epidemiológicos han basado el diagnóstico en la presentación clínica sin la confirmación histológica. Ésta varía de acuerdo a si el diagnóstico se realiza de manera clínica o histológica. Clínicamente es del 2% al 18%. De manera similar, por histopatología tienen una prevalencia del 10%.⁶ Steijlen *et al*, estimaron una prevalencia del 10% de nevos displásicos en 67 casos de autopsias⁵, mientras que Piepkorn *et al* estimaron una elevada prevalencia en la población caucásica de Utah del 50%.⁷

Existe una predilección por personas jóvenes (menores de 30-40 años de edad) y comienzan en la pubertad. Son lesiones dinámicas, que pueden progresar a lesiones con mayor o menor atipia, pueden permanecer estables, o mostrar regresión.⁵

b) Relación entre nevos displásicos y melanoma

El melanoma es el resultado de la interacción de factores genéticos, ambientales y factores inherentes al huésped. El principal factor de riesgo ambiental es la exposición a radiación ultravioleta. El aumento en el número de nevos es uno de los principales factores de riesgo del huésped. Otros factores inherentes al huésped incluyen el aumento de lentigos solares, fototipo claro e historia familiar de melanoma. Los principales factores de riesgo genéticos incluyen los genes de susceptibilidad de alto riesgo CDKN2A y CDK4.⁸ Algunos estudios han demostrado que la presencia de nevos displásicos confiere un riesgo más elevado de melanoma. Estudios observacionales, de casos y controles han confirmado esta asociación, con un aumento del riesgo

dependiendo del número de nevos displásicos.² El estimado del rango de riesgo para melanoma es de 2 a 12 veces más riesgo en este grupo de pacientes (presencia de una lesión única vs. más de 10 lesiones respectivamente); a pesar del control de variables interactoras como fotosensibilidad, fototipo, daño solar y número de lesiones melanocíticas.⁹

Holly et al en un estudio observacional, descriptivo, transversal, observaron la asociación entre el número de nevos melanocíticos y melanoma. Entre los principales hallazgos, destaca que la presencia de múltiples nevos melanocíticos (11 a 25) confiere un riesgo relativo de 4.4 ($p=0.01$), de 26 a 50 nevos el riesgo es de 5.4 ($p=0.008$) y de 51 a 100 nevos es de 9.8 ($p=0.001$). Los riesgos relativos para los nevos displásicos, fueron de 3.8($p=0.001$) con la presencia de 1 a 5 nevos y de 6.3 ($p=0.003$) para 6 o más lesiones.¹⁰

Arumi-Uria et al revisaron 6,275 casos de “nevos con alteraciones arquitectónicas”, los cuales fueron agrupados según el grado de atipia citológica en nevos con cambios “leves” (40%), cambios moderados (26%) y cambios severos (19.7%). Observaron que las lesiones con mayor atipia citológica poseían un riesgo aumentado para el desarrollo de melanoma (atipia severa vs leve OR 4.08, IC95% 2.91-5.7; atipia severa vs moderada OR 2.81, IC95% 2-3.95; atipia moderada vs leve OR 1.45, IC95% 1.13-1.87).¹¹

Shors et al estimaron el riesgo de melanoma asociada con nevos displásicos, siendo éste de 2.60 (OR) (IC95% 0.99-6.86) que persistió con el ajuste de variables confusoras (3.99, IC95% 1.02-15.71). Asimismo evaluaron la incidencia de melanoma en pacientes con y sin presencia de síndrome de nevos displásicos, estimando la incidencia a 10 años un riesgo acumulado de 10.7% en pacientes con síndrome de nevos displásicos y del 0.62% en la población control. Una limitación de este estudio fue la pobre confiabilidad interobservador ($kappa$ 0.28) en la gradación de la atipia histológica.¹²

Halpern et al estudiaron el desarrollo de melanoma en una cohorte de 153 pacientes con nevos displásicos en un periodo de 94 meses. 11 pacientes desarrollaron melanoma entre 11 y 43 meses (61 meses). La incidencia de melanoma ajustada a edad fue de 692/100,000 personas años. El desarrollo de melanoma se correlacionó de manera importante al antecedente personal y/o familiar de melanoma. Hay un aumento

aproximado de 100 veces de riesgo de melanoma en pacientes con un antecedente personal de melanoma, más de 200 veces riesgo en aquellos con al menos dos familiares afectados por melanoma, y más de 1200 veces el riesgo si coexisten antecedentes personales y familiares de melanoma.¹³

Tucker y cols reportaron en un estudio prospectivo en miembros de 23 familias susceptibles a melanoma, un riesgo acumulado a los 50 años del 48.9%±4.2%. En general, el riesgo relativo de melanoma entre los miembros de familias con historia de melanoma fue de 229 (IC95% 110-442). Observaron una variación en el riesgo de acuerdo al intervalo de tiempo, siendo de 362 en los primeros 5 años, disminuyendo a 120 después de los 5 años. El riesgo de melanoma estaba incrementado 85 veces (IC 95% 41-156) en miembros de familia con nevos displásicos. Adicional, neoplasia se presentó a edades más tempranas en este grupo de pacientes, con un 10% de casos de melanoma antes de los 20 años de vida.¹⁴

Uno de los metaanálisis más grandes realizados, fue el elaborado por el grupo de Gandiani et al, en el cual se evaluaron 47 bases de datos que contenían 10,499 casos y 14,256 controles. De ellas, 27 bases de datos publicaron el riesgo estimado para nevos displásicos. En general, se confirmó la presencia nevos displásicos como un factor de riesgo para melanoma. Trece estudios proporcionaron datos dicotómicos de nevos displásicos. Entre estos 13 estudios, la presencia de nevos displásicos confirió un aumento de riesgo de 10 veces para melanoma (RR=10.1; IC95% 5.0-20.3). Para 15 estudios con datos continuos sobre el número de nevos displásicos, los riesgos relativos variaron de 1.6 (IC 95% 1.4-1.8) para pacientes con 1 nevo displásico, a 10.5 (IC 95% 5.1-21.8) para pacientes con 5 o más nevos displásicos. Del mismo modo, los riesgos relativos para 1 solo nevo displásico en estudios de casos y controles (n=20) fueron mucho más bajos y más precisos que los de estudios de cohortes (n=8). De hecho, el RR de tener 5 nevos displásicos se redujo a 6.4 (IC 95% 3.8-10.3) cuando fueron considerados estudios de casos y controles únicamente. Concluyeron que a pesar de los diferentes diseños de estudios, la presencia de nevos displásicos constituye un factor de riesgo para el desarrollo de melanoma cutáneo.¹⁵

c) Aspectos moleculares

Los nevos displásicos han sido objeto de investigaciones a nivel molecular y se han identificado algunas diferencias y similitudes con respecto a los nevos melanocíticos comunes, a destacar¹:

Diferencias	Similitudes
Características histológicas distintas	Clonalidad
Marcador de riesgo para melanoma	Expresión de reguladores de apoptosis
Mayor índice de proliferación celular	Marcadores de senescencia
Distintos patrones de expresión genética	Pérdida de expresión de PTEN
Expresión alterada de p53	Riesgo de transformación a melanoma
	Probabilidad de recurrencia

Origen clonal de los nevos displásicos

A pesar de que varios estudios han demostrado que la mayoría de los nevos son neoplasias clonales (es decir, derivados de un solo melanocito), basados en el patrón de inactivación del cromosoma X en tejidos de pacientes femeninos, la mayoría se limitaron al estudio de los nevos melanocíticos comunes y solo uno de ellos a nevos displásicos.¹⁶ Robinson et al reportaron evidencia de clonalidad en el 81% de los nevos melanocíticos, 25% de los cuales fueron displásicos. No encontraron correlación entre la presencia o ausencia de displasia y la clonalidad. Sin embargo, la demostración de la clonalidad, no aporta información acerca de si los nevos displásicos surgen de novo, o bien, de un nevo melanocítico preexistente, ya que en las dos circunstancias, las células proliferantes se originan de una única célula progenitora.¹⁷

Perfil molecular

Aunque es conocida la existencia de diferencias en el perfil molecular de los nevos displásicos, su significancia clínica es desconocida.

Scatolini et al identificaron cambios en la expresión genética en biopsias de 18 nevos melanocíticos, 11 nevos displásicos, 23 melanomas cutáneos en fases de crecimiento radial, vertical (8 y 15 respectivamente) y 5 melanomas metastásicos. Los patrones de expresión en nevos displásicos fueron similares a los genes involucrados en el desarrollo ectodérmico, mientras que presentaron una mayor heterogeneidad en la expresión de

genes implicados en la regulación de la mitosis, apoptosis y de la transcripción. Observaron similitudes entre los nevos displásicos y los nevos comunes, en particular, en la expresión de genes involucrados en la mitosis, apoptosis y regulación transcripcional. Sin embargo, algunos genes de proliferación, se expresaron en niveles más elevados que los encontrados en nevos comunes.¹⁸

Mutaciones en BRAF/ y Ras

La vía de activación de RAS (proteína cinasa activada por mitógenos, MAPK por sus siglas en inglés) es característica de melanoma y el 60% de ellos expresa una mutación en BRAF (proteína-cinasa serin-treonina), potenciando así la señalización de Ras. Asimismo la mutación de BRAF puede estar presente en los nevos. Wu et al evaluaron la distribución de mutaciones de BRAF(V600E) en lesiones melanocíticas benignas. Incluyeron 34 nevos congénitos, 101 adquiridos, 11 displásicos, 124 no displásicos, 24 anogenitales y 111 nevos melanocíticos comunes. Encontraron una tasa de mutación del 81% de las lesiones estudiadas. Expresaron la mutación el 100% de los nevos en cabeza y cuello, 82% de los nevos en tronco, 62% de los nevos en extremidades y 76% de los nevos anogenitales. En relación a los nevos adquiridos, no existió correlación en la mutación de BRAF con el factor de fotoexposición. No existió diferencia significativa en la mutación entre nevos congénitos y adquiridos (76% vs 81%, $p=0.5$).¹⁹

Uribe y colaboradores reportaron frecuencias de mutación en BRAF similares en nevos displásicos (62%) vs nevos comunes (67%), concluyendo que BRAF no es un marcador útil en la distinción de nevos displásicos comparado con nevos comunes.²⁰

Mutación y expresión de genes supresores tumorales

La mutación de p53, promotor de la apoptosis, regulado por daño al ADN, se encuentra presente en más del 50% de todos los cánceres, y el melanoma no es la excepción. Algunos estudios han investigado la presencia de mutaciones en p53 en nevos displásicos. Lee et al encontraron 2 mutaciones sin sentido en 12 nevos displásicos estudiados. Levin et al encontraron mutaciones de p53 en 2/5 nevos displásicos y en 2 de 11 nevos comunes.²¹

El homólogo de fosfatasa y tensina (PTEN) funciona como supresor de tumores a través de la inhibición de la señalización de fosfatidil-inositol cinasa, lo cual resulta en una disminución en la activación de la cinasa de supervivencia Akt, mecanismo que es comúnmente perdido en la génesis tumoral. Hay estudios que han evaluado la expresión de PTEN en melanomas y nevos. La expresión de PTEN parece estar conservada en la mayoría de los nevos (60-70%) y ausente en la mayoría de melanomas. No se han evidenciado diferencias en la expresión de nevos comunes y displásicos.²²

Marcadores de proliferación

La presencia de glóbulos pigmentados oscuros en la periferia de algunos nevos displásicos en la dermatoscopia, sugiere que estos cambios pueden estar en relación a la proliferación activa de melanocitos. Hay estudios publicados que han evaluado la presencia de proliferación celular en los nevos displásicos. Lebe et al incluyeron 21 nevos melanocíticos adquiridos, 42 nevos displásicos y 17 melanomas primarios cutáneos. Encontraron que la expresión de ciclina D1 fue significativamente mayor en lesiones de melanoma comparada con nevos melanocíticos y displásicos, sin embargo no se observó diferencia entre la expresión en nevos displásicos y comunes. Por otro lado, ki-67 fue mayor en nevos displásicos con respecto a nevos comunes, pero menor comparado con melanoma.²³ En otro estudio similar, Alekseenko et al encontró diferencias significativas en la expresión de nevos comunes y displásicos. Reportaron una frecuencia de expresión del 8% en melanoma (n=14), 5% en nevos displásicos (n=24) y 0.3% en nevos comunes (n=10) para ciclina D1 y una frecuencia del 18% en melanomas, 6% para nevos displásicos y 2% en nevos comunes para ciclina D3.²⁴

Marcadores de apoptosis

Una de las posibles explicaciones para la persistencia de los nevos a largo plazo es que los melanocitos son más resistentes a mecanismos de apoptosis. Sin embargo, no hay evidencia que las células que conforman los nevos displásicos son más resistentes a la apoptosis que los melanocitos de los nevos comunes. La expresión del prototipo de los inhibidores de la apoptosis Bcl-2 en lesiones melanocíticas ha demostrado ser similar en nevos melanocíticos comunes y en nevos displásicos en dos estudios.^{25,26} Sin embargo

Tron et al reportaron la expresión de Bcl-2 en nevos comunes (5/7), más no en nevos displásicos (0/6).²⁷

Otro de los inhibidores de la apoptosis, la proteína survivina, es ampliamente expresada por los nevos comunes, sin existir diferencia en su expresión comparado con nevos displásicos.²⁸

Incremento de las especies reactivas de oxígeno en nevos displásicos

Pavel et al analizaron melanocitos de nevos displásicos, encontrando mayores niveles de especies reactivas de oxígeno más elevadas comparada con nevos comunes²⁸. Sin embargo, no está bien establecido el rol del papel oxidativo en el desarrollo y potencial progresión de los nevos displásicos.

Marcadores de senescencia

Otro de los modelos actuales para tratar explicar del desarrollo de nevos y su transformación maligna incluye el concepto de la senescencia o la detención del crecimiento terminal; en el que el nevo, inicialmente es resultado de la proliferación de melanocitos, seguido de un estado de senescencia. El fracaso en la senescencia de algunos melanocitos puede dar lugar al desarrollo de melanoma. En este modelo, la hiperproliferación celular inicial y la inducción subsecuente de la senescencia es mediada por la activación de un oncogén (como lo es BRAF mutado) y este estado es mantenido gracias a la expresión de p16. Consistente con este modelo, la expresión de BRAF mutado en melanocitos humanos favorece el crecimiento celular seguido de la detención de su crecimiento, en donde algunos melanocitos expresan marcadores de senescencia como p16 y beta-galactosidasa ácida.²⁹ Bennett inicialmente propuso que los nevos displásicos pueden escapar a la senescencia mediada por p16 y su grupo subsecuentemente encontró que los nevos displásicos poseían una expresión menor de p16.³⁰

d) Aspectos clínicos

De manera frecuente en la práctica clínica, el diagnóstico de nevos displásicos resulta un problema dado que tiene la capacidad de compartir características morfológicas con los nevos comunes y con melanoma.⁴

Clark en sus primeras descripciones reportó que los nevos en las familias estudiadas, mostraban características distintas en cuanto a tamaño, bordes y pigmentación comparado con los nevos comunes.^{1,5}

La falta de consenso en relación al diagnóstico clínico de los nevos atípicos da lugar a múltiples definiciones de estas lesiones. Una de ellas se basa en la presencia de al menos tres de las siguientes características: 1) diámetro mayor a 5 mm, 2) bordes mal definidos, 3) presencia de un componente macular o papular.²

Otra herramienta útil en para su diagnóstico es el uso de la regla del ABCDE. La lesión es considerada atípica cuando es asimétrica (A), de bordes irregulares (B), múltiples colores (C), diámetro >5 mm (D) y elevación presente (E).

Estos nevos se presentan por lo general de manera aislada, aunque en raras ocasiones pueden agruparse.⁶

e) Aspectos histológicos

De manera general para el diagnóstico de un nevo displásico incluye los criterios histológicos de alteración en la arquitectura, atipia citológica y respuesta inflamatoria.⁵

En las primeras descripciones llevadas a cabo por Clark y cols se destacaron cuatro características principales en este tipo de nevos: presencia de hiperplasia melanocítica atípica, melanocitos con características citológicas sugerentes de melanocitos malignos, cambios mesenquimales en la dermis papilar (fibroplasia eosinofílica) y un infiltrado inflamatorio linfocítico.¹

Posteriormente, diversos grupos, han publicado criterios adicionales que permitan un abordaje más adecuado hacia este tipo de lesiones. Uno de ellos, la *World Health Organization* determinaron la presencia de criterios mayores y menores para el diagnóstico de nevos displásicos. Dentro de los criterios mayores se destaca: proliferación basal de melanocitos atípicos hasta los procesos interpapilares, con organización de esta proliferación en un patrón lentiginoso o epitelioides. Los criterios menores incluyen la presencia de fibrosis lamelar concéntrica o fibrosis eosinofílica concéntrica, neovascularización, respuesta inflamatoria y fusión de los procesos interpapilares.^{1,5}

f) Evaluación de la atipia

La evaluación de la atipia se realiza en base a la arquitectura de la lesión (límites, simetría, distorsión de crestas epidérmicas, fibrosis y migración pagetoide). A continuación se describen los aspectos principales de cada una de ellas.

Atipia leve: lesiones bien delimitadas, simétricas. Las crestas epidérmicas suelen estar ligeramente elongadas y distorsionadas. Asimismo existe fibrosis dérmica papilar evidente, eosinofílica con presencia ocasional de lamelas finas debajo de ellas. Las células névicas están dispuestas tanto de forma individual como en grupos en la unión dermo-epidérmica, estando preferentemente dispuestas en las crestas epidérmicas, con muy poca afección de la región suprapapilar. A un aumento mayor los núcleos de los melanocitos son ovoides o elipsoidales, hipercromáticos, indentados y muchas veces sin nucléolo visible o nucléolo único pequeño. Hay variabilidad considerable en la forma nuclear. El citoplasma frecuentemente está colapsado, formando un espacio claro o halo alrededor de la célula. No se observa migración pagetoide de melanocitos a capas altas y en caso de que existiese una mínima migración, nunca debe localizarse en la periferia de la lesión. No hay mitosis en el componente dérmico.

Atipia moderada: Persiste la simetría de la lesión, con presencia de componente de la unión más allá de las crestas epidérmicas del componente dérmico. Las crestas epidérmicas también se encuentran frecuentemente elongadas y distorsionadas, formando un complejo de interconexiones, especialmente en el centro de la lesión. Los márgenes de la lesión se encuentran bien delimitados, de la epidermis adyacente libre de la lesión névica. Existe una mezcla de células névicas melanocíticas alargadas dentro del complejo de crestas epidérmicas entremezcladas, formadas por células névicas dispuestas en forma individual y en grupos. La proliferación de células névicas se localiza principalmente en las crestas pero puede afectar las regiones situadas entre las crestas epidérmicas y el centro de la lesión, aunque nunca en la periferia de la misma. Los nidos están dispuestos de forma irregular a los lados de las crestas epidérmicas. Las células névicas pueden aparecer dispersas entre los queratinocitos de las crestas, sin embargo la dispersión es mínima en la epidermis por encima de las crestas y en la región situada entre ellas. La dermis papilar es fibrosa con haces de colágeno eosinófilo. Los

melanocitos son del mismo tamaño, o con ligero aumento con respecto a los queratinocitos, núcleo hipercromático, ovoidal, con nucléolo prominente. Su citoplasma se encuentra agrandado comparado con los de los melanocitos inactivo normales y no siempre se colapsa ni muestra halo a su alrededor. Pueden observarse algunas mitosis típicas en la parte superior del componente dérmico, cerca de la epidermis.

Atipia severa: Los nevos se encuentran frecuentemente distorsionados, no son simétricos, sin embargo se distinguen bien de la epidermis adyacente. Hay distorsión prominente de las crestas epidérmicas con fusión de procesos interpapilares, componente dérmico con fibrosis eosinofílica. Las células névicas se encuentran dispuestas de manera individual y en nidos; existe un mayor involucro del componente epidérmico en los platos suprapapilares. Los núcleos de los melanocitos son grandes y de mayor tamaño comparados con los queratinocitos. Frecuentemente hay mezcla de células con núcleos hipercromáticos y bizarros junto con otras de núcleos más pequeños con cromatina dispersa. Los nucléolos son prominentes. Puede haber mitosis en el componente de la unión, sin embargo no en el componente dérmico.^{31, 11}

Aspectos terapéuticos

Así como existe controversia clínica e histológica, actualmente no hay un consenso o guías para el tratamiento de los nevos displásicos. Tripp y cols encontraron una gran variabilidad en la conducta terapéutica de estas lesiones. Noventa y nueve por ciento de los dermatólogos estudiados recomendaron que los pacientes realizaran una autoexploración, 75% que el dermatólogo realizara una revisión de cuerpo completo en cada visita de seguimiento, 49% recomendó la toma de fotografías basales para todos los pacientes, y 23% que se utilizara la dermoscopia como herramienta para detección precoz de melanoma de manera rutinaria. En cuanto a la frecuencia de seguimiento médico, observaron que el 58% recomendaron visitas cada 12 meses y 33% cada 6 meses. En cuanto al tratamiento, se apreció que el 86% de los dermatólogos realizaron una extirpación completa de la lesión, 75% usaron márgenes de $\geq 2\text{mm}$ y 67% ampliaron los márgenes de la lesión cuando quedaban positivos. La positividad de los márgenes quirúrgicos es un problema frecuente, ya que la proliferación de melanocitos puede

extenderse más allá de la percepción clínica; y la decisión de ampliar o re-extirpar comparado con una conducta expectante depende de la decisión del médico clínico.³²

Duffy y cols en el 2012 reportaron el papel que juega el grado de atipia histológica y el estado de los márgenes quirúrgicos sobre la decisión de re-extirpar vs observar los nevos remanentes después de la biopsia. Observaron una mayor frecuencia de re-extirpación cuando el estado de los márgenes era positivo y sobre todo cuando la atipia citológica era moderada a severa. EL 81% favorecieron la re-extirpación cuando los márgenes eran positivos con atipia moderada, mientras que el 9% optaron por ampliar cuando la atipia era moderada, aun cuando los márgenes fueron negativos. Los principales escenarios que favorecían la re-extirpación fueron cuando existía atipia citológica severa y cuando se buscaba prevenir recurrencias.³³

g) El problema con el término “displasia”

Una de las críticas al término “displasia” en la descripción histopatológica, fue realizada por Ackermann, haciendo referencia en su denotación semántica hacia un proceso neoplásico.^{1,2} Displasia tiene sus orígenes del griego *Dys* (malo o mala función) y *plasia* (crecimiento, desarrollo o cambio), entendiéndose como un cambio en la citología hacia una neoplasia o malignidad. Las descripciones originales de nevos displásicos, en particular las características histológicas, pudieran ser análogas a una displasia epitelial presente en las queratosis actínicas, pólipos colónicos y displasia cervical intraepitelial, como precursores potenciales de lesiones malignas, sin embargo su papel como lesiones precursoras en el desarrollo de melanoma no es del todo convincente.⁴

h) Ausencia de marcadores predictivos en nevos displásicos

Como se comentaba anteriormente, los nevos displásicos constituyen una entidad histológica distinta, puede compartir algunas características histopatológicas con los nevos comunes, así como también atipia citológica y respuesta inflamatoria dérmica presente en lesiones de melanoma. Otro problema frecuentemente observado es que los nevos comunes y los nevos displásicos a menudo no pueden distinguirse entre ellos basados en la exploración física y en ocasiones los nevos displásicos tienen

características morfológicas asociadas con melanoma, como la presencia de pigmento irregular, asimétrico, borde irregular. ^{1,5}

A pesar de los múltiples esfuerzos para el establecimiento de criterios clínicos e histológicos con fines diagnósticos, poco es conocido acerca del comportamiento biológico de los nevos displásicos y su potencial papel en el desarrollo de melanoma. En la actualidad no existen marcadores validados para predecir su comportamiento biológico. Para el médico clínico resulta importante el saber el comportamiento benigno o maligno de este tipo de lesiones, su capacidad de recurrencia, transformación a melanoma o progresión clínica. Mientras se cuenta con múltiples marcadores pronósticos para melanoma (por ejemplo grado de ulceración o profundidad), no existen tales para nevos displásicos, por tanto es posible que análisis moleculares ayuden a identificar diferencias entre lesiones melanocíticas como nevo comunes, nevos displásicos y melanoma maligno. De tal manera que resulta interesante el estudio de los mismos.

INMUNOMARCADORES

Dada la elevada morbi-mortalidad del melanoma maligno y el incremento de su incidencia, es importante ampliar nuestros conocimientos en los factores de riesgos y los cambios inmunológicos, lo cual permitiría una mejor comprensión de la enfermedad y contribuir al desarrollo de estrategias efectivas para la prevención y tratamiento. Es en este sentido que la evaluación de factores moleculares podría ser de utilidad para identificar a pacientes en riesgo de presentar la neoplasia.

Entre estos marcadores, se sabe que el CD10, conocido también como endopeptidasa neural, encefalinasa, neprilisina o antígeno de leucemia linfoblástica aguda, constituye una metaloproteinasa de 90-110 kd localizado en la membrana celular, dependiente de zinc el cual inactiva una variedad de péptidos fisiológicamente activos. Se expresa normalmente en células B, pro-B, pre-B, centros germinales de ganglios linfáticos y por múltiples tejidos como próstata, riñón, intestino, endometrio, glándulas adrenales y pulmones. Se le describió por primera vez como un antígeno específico en leucemia linfoblástica aguda y linfomas. Sin embargo se ha demostrado últimamente que se

encuentra expresado en neoplasias gastrointestinales, genitourinarias, sarcomas, y melanoma primario. Si bien no se conoce su actividad fisiológica a ciencia cierta, se ha sugerido que su expresión se relaciona a apoptosis; por ejemplo, se expresa en células B germinales, las cuales son particularmente susceptibles a apoptosis, sin embargo no se expresa en células B maduras.³⁴ Cutrona y cols, demostraron la correlación entre la expresión de CD10 y células T apoptóticas in vivo y ex vivo, con lo que determinaron que uno de los mecanismos de acción pudiera ser la eliminación o escisión de mediadores inflamatorios o proinflamatorios derivado de las células T comprometidas y por tanto la presencia de CD10 podría funcionar como un mecanismo protector contra la reacción inflamatoria mediada por las células T apoptóticas. La expresión neoplásica de CD10 se ha relacionado con progresión tumoral y menor supervivencia de los pacientes en múltiples neoplasias, por mencionar, cáncer de vejiga, tumores pancreáticos, de próstata, entre otros. Se ha demostrado que la encefalina y sustancia P son capaces de suprimir la progresión tumoral en melanoma. Asimismo se conoce que la expresión de CD10 tiene la capacidad de degradar estas proteínas promoviendo la invasión tisular y metástasis.³⁵

En cuanto a melanoma, Oba y cols evidenciaron que CD10 se expresó principalmente en melanomas metastásicos (75%) en comparación con melanomas primarios (53%) y nevos melanocíticos (10%). Asimismo demostraron que su expresión se relacionaba de manera positiva con una mayor profundidad por escala de Breslow, Clark y mayor ulceración. El análisis univariado reveló 4 factores independientes significativos para la supervivencia: expresión de CD10, nivel elevado de Breslow o Clark, y presencia de ulceración ($p < 0.01$ cada uno); el análisis multivariado demostró que la expresión de CD10 representa un factor pronóstico independiente.³⁶

Otro marcador que puede resultar útil es la expresión de Bcl-2. La familia de Bcl-2 se divide en dos grandes grupos: el primero, el de las proteínas pro-apoptóticas que incluye a Bax, Bcl-Xs, Bak, Bid, Bad, Hrk, entre otras; y el segundo, en el que se ubican las proteínas antiapoptóticas: Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-w, A1, mcl-1. La manera en que la proteína bcl-2 protege a la célula de la muerte no se conoce con exactitud, aunque parece que el sitio clave de acción está en la membrana externa mitocondrial en donde controla la permeabilidad membranal impidiendo la liberación del citocromo c (inicialmente

denominado APAF-2) y del factor inductor de la apoptosis (AIF) a través del canal de aniones dependiente de voltaje (VDAC). Lo anterior evita que se forme el apoptosoma y se desencadene la cascada de caspasas, que son proteasas de cisteína efectoras de la apoptosis.³⁹

Se sabe que la proteína bcl-2 en células normales puede favorecer la transición del estado de progresión del ciclo celular al estado quiescente, o bien puede detener el ciclo en la fase G1 de manera transitoria. Sin embargo, los mecanismos de esta nueva función son poco comprendidos G1. No obstante, es cierto que bcl-2 es una proteína de supervivencia celular. Esto significa que cuando hay altos niveles de dicha proteína, la célula hará todo lo posible por mantenerse viva, inducirá todo tipo de sistemas de defensa y detendrá el programa de muerte apoptótica, aun y cuando la célula se encuentre dañada genéticamente, lo que puede tener un papel importante en el desarrollo y supervivencia de células tumorales. Asimismo se conoce que otra propiedad atribuible a la sobreexpresión de bcl-2 es un aumento en la angiogénesis en las melanoma maligno, a través de la inducción de VEGF secundario a hipoxia.

Zhang et al, demostraron que bcl-xL, bcl-2 jugaron un papel importante en la progresión de melanoma y apoptosis inducida por radiación UVB. Se estimó la viabilidad celular y apoptosis tras exponer a células de melanoma a 30, 60 y 180 mJ/cm² UVB. Se observaron cifras bajas de bcl-xL y bcl-2 en melanoma primario.³⁹ Asimismo, Sáenz y cols demostraron una mayor expresión de bcl-2 en nevos melanocíticos benignos con respecto a lesiones avanzadas de melanoma, en donde su expresión fue débil, lo que traduce su pobre expresión en la progresión y transformación maligna de la neoplasia.⁴⁰

El gen supresor de tumores y factor de transcripción nuclear, p53, constituye una fosfoproteína tetramérica de 393 aminoácidos que tiene la capacidad de regular la transcripción genética, síntesis y reparación del ADN, regulación del ciclo celular, senescencia, y muerte celular. Es activado por estrés oxidativo celular y daño al ADN, con lo cual activa mecanismos de muerte celular mediada por apoptosis y detención del ciclo celular.⁴² Se han encontrado mutaciones de p53 en el 50% de todos los cánceres humanos y en la mayoría de todos los cánceres cutáneos y su mutación parece ser un cambio genético temprano en el desarrollo de neoplasias cutáneas inducidas por

radiación ultravioleta. Con respecto a cáncer de piel no melanoma (queratosis actínicas), se ha encontrado una alta frecuencia de mutaciones de esta proteína.⁴²

Väisänen y cols evidenciaron que la expresión elevada de Ki-67 con p53 se correlacionó con la presencia de metástasis en lesiones de melanoma ($p=0.16$) y una menor supervivencia. En los casos donde la expresión de p53 fue positiva la supervivencia a 10 años disminuyó del 76% al 59% con respecto a los casos en donde la expresión era negativa.⁴³

La expresión de la proteína ki-67 se asocia a proliferación celular. Durante la interfase, el antígeno se detecta de manera exclusiva en el núcleo, mientras que en la mitosis se localiza predominantemente en la superficie de los cromosomas. Se le considera una herramienta útil para determinar el índice de proliferación celular de una población celular, ya que se encuentra expresada en todas las fases activas del ciclo celular (G1, S, G2), sin embargo es ausente en estado de reposo (fase G0). Ha sido especialmente útil en cáncer de mama y próstata. En el contexto de melanoma maligno resulta un marcador útil que lo diferencia de lesiones melanocíticas benignas, correlacionándose una mayor expresión con una menor supervivencia de los pacientes y un menor tiempo libre de enfermedad ($p=0.03$).⁴⁴

En relación a factores pronósticos de melanoma maligno, los principalmente utilizados por excelencia son los parámetros histopatológicos, como el nivel de Breslow, Clark, presencia de ulceración, número de mitosis, entre otros; sin embargo, marcadores moleculares como los descritos previamente pudieran ser de utilidad para identificar a pacientes en alto riesgo de enfermedad metastásica.⁴⁵

III. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Será diferente la expresión de CD10, Bcl-2, p53 y Ki-67 en nevos displásicos comparado con los nevos melanocíticos y melanoma cutáneo?

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los nevos displásicos han sido fuente de controversia desde su primera descripción en 1978, por Clark. Son relativamente comunes, presentándose con una prevalencia que varía del 2 al 18% de la población mundial.

Representan lesiones ambiguas desde el punto de vista clínico e histológico. Clínicamente pueden confundirse con melanoma maligno, por la presencia de asimetría, irregularidad de los bordes, color heterogéneo y diámetro mayor a 5 mm; o bien mostrar características de nevos comunes. En cuanto a la histología pueden presentar diversos grados de atipia celular, presencia de infiltrado inflamatorio peritumoral y fibrosis dérmica, propios de lesiones de melanoma. Asimismo, estudio observacionales han demostrado que la presencia de nevos displásicos confiere un riesgo más elevado de melanoma de manera significativa.

Es por ello, que estos hallazgos representan un reto diagnóstico y terapéutico en la actualidad. El uso de estrategias moleculares presentes en melanoma, podrían ser de utilidad para evaluar el comportamiento de este tipo de lesiones y en base a ello, tomar decisiones terapéuticas, quirúrgicas y de seguimiento. La presencia de evasión tumoral (marcadores de apoptosis, proteína supresora de tumores p53), nuevos marcadores de agresividad en melanoma (CD10,) y un alto índice de proliferación (ki-67) en estas lesiones nos serían de utilidad en la evaluación y clasificación de los nevos displásicos.

IV. JUSTIFICACION

Actualmente, la incidencia y mortalidad del melanoma cutáneo han aumentado en las últimas décadas en muchos países y México no es la excepción. Hay descritos varios factores de riesgo; de entre ellos, algunos autores postulan al nevo displásico como probable precursor.

Estas lesiones desde su descripción en 1978 por Clark, han sido tema de controversia en diferentes sentidos, desde la nomenclatura asignada, a los criterios clínicos e histológicos y de tratamiento propios que los caracterizan. Asimismo, la evaluación de las mismas según el grado de atipia en leve, moderada o severa ha generado múltiples controversias al basarse en criterios histopatológicos, quizás susceptibles a cierta subjetividad y por su utilidad o no respecto al riesgo de desarrollar melanoma, teniendo en cuenta que no todos los nevos displásicos son precursores obligados de la neoplasia. A la fecha, no está bien establecido el comportamiento biológico de estas lesiones, y poco se sabe acerca de la utilidad del uso de marcadores para determinar este comportamiento.

En este contexto, el presente trabajo pretende evaluar la presencia de marcadores que permitan realizar una clasificación basada en criterios objetivos, no susceptibles de interpretación subjetiva, mediante el análisis de datos clínicos y técnicas de inmunohistoquímica. De estar presentes estos marcadores comúnmente expresados en lesiones de melanoma, (CD10; marcadores de apoptosis: Bcl-2; proteínas supresoras de tumores: p53 y marcadores de proliferación: Ki 67) en los nevos displásicos, nos sería de utilidad en determinar su posible comportamiento activo, lo que puede cambiar el abordaje tanto diagnóstico, como terapéutico de este tipo de lesiones.

V. OBJETIVOS

a) General

- Comparar la expresión de los marcadores anti-apoptóticos y de proliferación celular (CD10, Bcl-2, p53 y Ki-67) en nevos displásicos comparados con nevos melanocíticos y melanoma cutáneo.

b) Secundarios

- Describir las características histopatológicas de los casos

VI. HIPOTESIS

Existirán diferencias en la expresión de los marcadores anti-apoptóticos y de proliferación celular (CD10, Bcl-2, p53 y Ki-67) en nevos displásicos comparados con nevos melanocíticos y melanoma cutáneo. Este grupo de lesiones presentará un nivel de expresión intermedio entre nevos benignos y melanoma.

VII. DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio observacional, transversal y comparativo.

VIII. METODOLOGÍA

a) Universo de estudio: Se estudiaron las muestras de piel incluidas en parafina con el diagnóstico histopatológico de “Nevos melanocíticos”, “nevos displásicos” y “melanoma cutáneo”, obtenidas del servicio de Dermatopatología del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”.

b) Periodo de estudio: 2013-2016

c) Tamaño de la muestra:

Comparación de dos proporciones de expresión de los marcadores, con un IC del 95%, y error 5%, se incluyeron 23 casos de lesiones melanocíticas benignas, 23 casos de nevos displásicos y 23 casos de melanoma maligno.

d) Criterios de selección

Criterios de inclusión

- **Lesiones melanocíticas benignas:** Se incluyeron muestras con el diagnóstico histopatológico de nevos melanocíticos intradérmicos provenientes del servicio de Dermatopatología del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”. Se define

como nevo melanocítico intradérmico a la presencia de nidos de melanocitos en la dermis.

- **Nevos displásicos:** Se incluyeron muestras con el diagnóstico histopatológico de nevos displásicos en cualquiera de sus variedades provenientes del servicio de Dermatopatología del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”; definidos histológicamente como una proliferación de melanocitos atípicos, hiperplasia melanocitaria y alteración estructural (variaciones de tamaño, forma). En dermis papilar con fibrosis lamelar eosinifílica concéntrica e infiltrado inflamatorio perivascular.
- **Melanoma cutáneo:** Se incluyeron muestras con el diagnóstico histopatológico de melanoma cutáneo en cualquiera de sus variedades provenientes del servicio de Dermatopatología del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”. La definición de sus variantes consiste en: Léntigo maligno: proliferación de melanocitos atípicos en la capa basal de la epidermis, Extensión superficial: proliferación de melanocitos atípicos, individuales y en nidos con migración pagetoide. Consumo epidérmico, Nodular: ausencia de componente epidérmico. Invasión epidérmica de dermis subyacente y Acral lentiginoso: patrón de crecimiento radial, proliferaciónm lentiginosa de melanocitos atípicos.

Criterios de Eliminación

- Muestras en la cuales la cantidad de material de estudio fue insuficiente para su procesamiento.
- Estudios de inmunohistoquímica de mala calidad para su interpretación.

8.6. Definición de variables

Variable	Tipo de variable	Escala de medición	Parámetro de medición
CD10	Dependiente	Cualitativa ordinal	+, ++, +++, +++++*
Bcl-2	Dependiente	Cualitativa ordinal	+, ++, +++, +++++
p53	Dependiente	Cualitativa ordinal	+, ++, +++, +++++
Ki-67	Dependiente	Cualitativa ordinal	+, ++, +++, +++++
Grado atipia nevos displásicos	Independiente	Cualitativa ordinal	Leve, moderada, severa**

Subtipo melanoma	Independiente	Cualitativa nominal	Léntigo maligno, extensión superficial, nodular, acral lentiginoso
Lesión precursora	Independiente	Cualitativa nominal	Nevo de cualquier tipo, otro
Topografía del tumor	Independiente	Cualitativa nominal	Cabeza, tronco anterior, extremidades superiores, extremidades inferiores, palmas, plantas, genitales
Localización histológica del tumor	Independiente	Cualitativa nominal	Intraepidérmico, dérmico, tejido celular subcutáneo
Índice de Breslow	Independiente	Cuantitativa discreta	Estadio I, II, III, IV, V***
Presencia de ulceración	Independiente	Cuantitativa discreta	Presente/ausente
Número de mitosis	Independiente	Cuantitativa discreta	Numérico
Fenómeno de regresión	Independiente	Cualitativa nominal	Presente/ausente
Morfología celular	Independiente	Cualitativa nominal	Epitelioide, fusiforme, dendrítico, células claras, células anaplásicas gigantes, anillo de sello
Alteraciones del estroma	Independiente	Cualitativa nominal	Desmoplasia, mixoide
Angiotropismo	Independiente	Cualitativa nominal	Presente/ausente
Neurotropismo	Independiente	Cualitativa nominal	Presente/ausente
Metástasis satelitales	Independiente	Cualitativa nominal	Presente/ausente
Edad	Demográficas	Cuantitativa discreta	Numérico
Sexo	Demográficas	Cualitativa nominal	Femenino/masculino

*Porcentaje de expresión: (+) <5%, (+) 5-25%, (++) expresión 25-50%, (+++) 50-75%, (++++) >75%; ** (leve) Nevo de la unión o compuesto con alteración arquitectónica sin atipia citológica, (moderada) Nevo de la unión o compuesto con alteración arquitectónica con atipia citológica leve (severa) Nevo de la unión o compuesto con alteración arquitectónica con atipia citológica moderada-severa ;***Profundidad: (I) ≤0.75 mm, (II) 0.75-1.5 mm, (III) 1.51-2.25, (IV) 2.225-3.0 mm, (V) ≥3.0 mm;

PROCEDIMIENTO

Se revisaron los diagnósticos histológicos del archivo del departamento de Dermatopatología del Hospital “Manuel Gea González” de los años 1993 a 2015 disponibles, basados en el diagnóstico emitido por el médico dermatopatólogo adscrito. Las laminillas teñidas con hematoxilina y eosina (HyE) fueron revisadas

microscópicamente por el tutor y el alumno para la confirmación diagnóstica de los casos. Se incluyeron un total de 69 lesiones, 23 de las cuales correspondieron a nevos displásicos, 23 a nevos melanocíticos y 23 a melanoma. Se realizaron cortes histológicos de los bloques de 2 micrómetros de espesor para su procesamiento inmunohistoquímico, con lo cual se obtuvieron 4 laminillas por tejido para su inmunomarcación (CD10, Bcl-2, p53 y ki-67).

Técnica de inmunohistoquímica (IHQ)

Se estandarizó la técnica de inmunohistoquímica para cada anticuerpo en estudio. Los tejidos se desparafinaron en xilol y se rehidrataron en alcoholes a diferentes concentraciones, se hizo la recuperación antigénica con citrato de sodio al 0.1% pH6.2 durante 10 min en un horno de alto poder. Se lavó con buffer salino de fosfatos (PBS) por 5min y se inactivó la peroxidasa endógena con peróxido de hidrógeno al 0.9% incubándola por 5 minutos a temperatura ambiente, posteriormente se realizaron los lavados con agua destilada y se dejaron en reposo por 5 minutos en PBS.

Los tejidos se incubaron durante 45 minutos con los anticuerpos primarios: CD10, bcl-2, p53 y ki-67 como se especifica en la tabla I. Posteriormente se lavaron con PBS y se le agregaron de 2 o 3 gotas del anticuerpo secundario antimouse/antirabbit así como el complejo estreptavidina/peroxidasa por 30 minutos a cada uno de ellos. La reacción se visualizó con Diaminobencidina (Dako) para después contrateñirse en hematoxilina de Hills. El control positivo para CD10 y ki-67 fue tejido de amígdala, para p53 fue carcinoma de tiroides y para Bcl-2 apéndice.

Características de los anticuerpos primarios:

Anticuerpo	Marca	Clona	Dilución
CD10	Dako	O10	1:50
Bcl-2	Dako	DO-7	1:100
P53	Dako	Policlonal	1:300
Ki-67	Dako	MIB	1:100

La evaluación de la técnica inmunohistoquímica se realizó por parte de dos evaluadores, quienes determinaron los sitios histológicos positivos en los distintos anticuerpos dependiendo de la naturaleza del tumor; así como el grado de inmunorreactividad a través de una técnica semicuantitativa como se especifica la tabla:

Nivel de expresión		Definición
Negativo	(-)	<5% de positividad en las células tumorales
Expresión débil	(1+)	5-25% de positividad en las células tumorales
Expresión moderada	(2+)	26-50% de positividad en células tumorales
Expresión fuerte	(3+)	≥50% de positividad en células tumorales

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó el programa estadístico STATA versión 12.0.

Para la descripción de variables cuantitativas (edad, tiempo de evolución, índice de Breslow, mitosis/mm²) se utilizaron medidas de tendencia central (media y mediana) y de dispersión (desviación estándar y rango intercuartilar) de acuerdo a la distribución observada con la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk (que obedece a tamaños muestrales menores de 50 observaciones). Para las variables cualitativas se describieron frecuencias y porcentajes.

Para la comparación entre las diferencias en la expresión antigénica de CD10, Bcl-2, p53 y ki-67 (negativa-débil/ moderada-fuerte) en: nevos displásicos vs nevos melanocíticos, nevos displásicos vs melanoma cutáneo, nevos displásicos vs melanoma in situ, nevos displásicos vs melanoma invasor y nevos displásicos vs melanoma metastásico, se utilizó el test exacto de Fisher, por presentar más del 50% de las frecuencias esperadas en las celdas menores a 5. Se consideró como significancia estadística un valor de p menor o igual a 0.05.

IX. RESULTADOS

Se incluyeron un total de 69 muestras tisulares, de las cuales, 23 correspondieron a nevos displásicos, 23 lesiones melanocíticas benignas y 23 lesiones de melanoma. En cuanto a la distribución por sexo, el 52.2% del grupo con nevos displásicos correspondieron al sexo femenino y el 47.8% al sexo masculino. La edad media del grupo de nevos displásicos fue de 38.8 años, comparado con 37.2 años del grupo de nevos melanocíticos y 65.1 años del grupo de melanoma. En cuanto a la distribución por topografía afectada se observó que el 52% de las lesiones de nevos displásicos se localizó en el tronco, de los nevos melanocíticos la mayoría (86.9%) se localizó en la cabeza y cuello y del grupo de melanoma la mayor frecuencia se observó en las palmas y plantas (Tabla I).

Tabla I. Características sociodemográficas de los grupos estudiados

	Nevo melanocítico n(%)	Nevo displásico n(%)	Melanoma n(%)
Sexo			
Masculino	4(17.4)	11 (47.8)	8 (34.5)
Femenino	19 (82.6)	12 (52.2)	15(65.2)
Edad, años	37.2(±19.0)	38.8(±13.8)	65.1(16.8)
Tiempo de evolución, años	17(4-23)	10(5-30)	2(0.25-3)
Topografía			
Cabeza y cuello	20 (86.9)	7 (30.4)	6 (27.3)
Tronco	3 (13.1)	12 (52.2)	2 (9.1)
Extremidades	0	4 (17.4)	5 (22.7)
Palmas o plantas	0	0	7 (31.8)
Unidad ungueal	0	0	2 (9.1)

En lo referente al estudio del grupo de nevos displásicos, los tipos histológicos más frecuentes fueron los nevos compuestos. En el 82.6% se encontró un grado de atipia leve en este grupo de tumores, en el 17.4% restante se encontró una atipia moderada, mientras que ningún caso tuvo atipia severa (Tabla II).

Tabla II. Características de los nevos displásicos

Características	n(%)
Tipo	
Unión	11 (47.8)
Compuesto	12 (52.2)
Grado de atipia	
Leve	19 (82.6)
Moderada	4 (17.4)
Severa	0

En lo referente al grupo de melanoma, el subtipo clínico más frecuente observado fue el melanoma acral lentiginoso en el 21.7% de los casos. El 65.2% de las lesiones estudiadas presentaron un crecimiento vertical, el 21.7% un crecimiento horizontal y el 13% fueron lesiones metastásicas. En cuanto a la descripción de factores pronósticos se observó un nivel promedio de profundidad de 1.55(0.4-3.1) mm medido por escala de Breslow, 26.1% de los casos tuvieron ulceración, 8.7% presentó neurotropismo, 34.8% tuvo angiotropismo, 4.3% tuvo satelitosis y tuvieron 1(0-2) mitosis por campo (Tabla III)

Tabla III. Características observadas en el grupo con melanoma cutáneo

Características	No. (%)
Tipo de crecimiento	
Radial	5 (21.7)
Vertical	15 (65.2)
Metastásico	3 (13.0)
Subtipo clínico	
Acral lentiginoso	5 (21.7)
Subungueal	3 (13.0)
Nodular	4 (17.4)
Extensión superficial	3 (13.0)
Lentigo maligno	5 (21.7)
Metastásico	3 (13.0)
Nivel de Breslow, mm*	1.55(0.4-3.1)
pT[†]	
pTx	3(13.0)
pTis	4 (17.4)
pT1	6(26.1)
pT2	5(21.7)
pT3	2(8.7)
Metastásico	3(13.0)
Clark	

I	4 (20.0)
II	3 (15.0)
III	6 (30.0)
IV	4 (35.0)
Ulceración	6 (26.1)
Mitosis/mm ² *	1 (0-2)
Neurotropismo	2 (8.7)
Angiotropismo	8 (34.8)
Satelitosis	1 (4.3)

* mediana (rango intercuartilar); †pT: pTx tumor primario no puede ser evaluado; pT1 tumor ≤ 1 mm, pT2 tumor mayor a 1 mm, menor de 2 mm; pT3 tumor mayor a 2 mm, menor a 4 mm; pT4 tumor ≥ 4 mm.

INMUNOMARCACIÓN

Resultados de la inmunomarcación para CD10

Por inmunomarcación con CD10, se observó que el 100% de los melanocitos que componen a los nevos displásicos y a los nevos melanocíticos tuvieron una expresión negativa a débil (0-25%); en donde 1(4.3%) caso del grupo de nevos displásicos fue positivo para este inmunomarcador con un patrón citoplásmico, siendo débil a intensidad de expresión (1+: 5-25%), hallazgo que fue similar en el grupo de nevos melanocíticos, en donde solo se encontró un caso con la misma intensidad de expresión (p=1.0), con una tasa de positividad global en ambos grupos del 4.3%.

Las lesiones de melanoma mostraron una tasa de positividad global del 43.5% comparado contra nevos displásicos. Se observó una expresión moderada a fuerte en 7(30.4%) en el grupo de melanoma (p=0.009).

La tasa de positividad para CD10 en melanomas in situ fue del 33.3%, expresado en uno de los 3 casos con una expresión moderada a fuerte, comparada con una expresión negativa a débil en los nevos displásicos (p=0.11). El grupo de los melanomas invasores, la tasa global de expresión fue del 40%, en comparación con el 4.3% de melanomas metastásicos y del 33.3% de melanomas invasores, con una expresión moderada a fuerte en el 35.3% de los casos (p=0.003). En el grupo de melanomas metastásicos, uno de ellos (33.3%) presentó una expresión débil (26-50%), mientras que el resto de casos fueron negativos. (Tabla IV, Figura 2).

Tabla IV. Nivel de expresión de CD10 en los grupos estudiados

Expresión de CD10	Nevos displásicos n=23 n(%)	Nevos melanocíticos n=23 n(%)	Melanoma n=23 n(%)	Melanoma		
				In situ n=3 n(%)	Invasor n=17 n(%)	Metastásico n=3 n(%)
Negativa-débil (0-25%)	23(100)	23(100)	16(69.5)	2(66.7)	11(64.7)	3(100)
Moderada- fuerte (≥26%)	0	0	7(30.4)	1(33.3)	6(35.3)	0
Total de casos (+)	1	1	10	1	8	0
Tasa de positividad	4.3%	4.3%	43.5%*	33.3%†	40.0%‡	33.3%

*Nevo displásico vs melanoma, $p=0.009$

†Nevo displásico vs melanoma in situ, $p=0.11$

‡Nevo displásico vs melanoma invasor, $p=0.003$

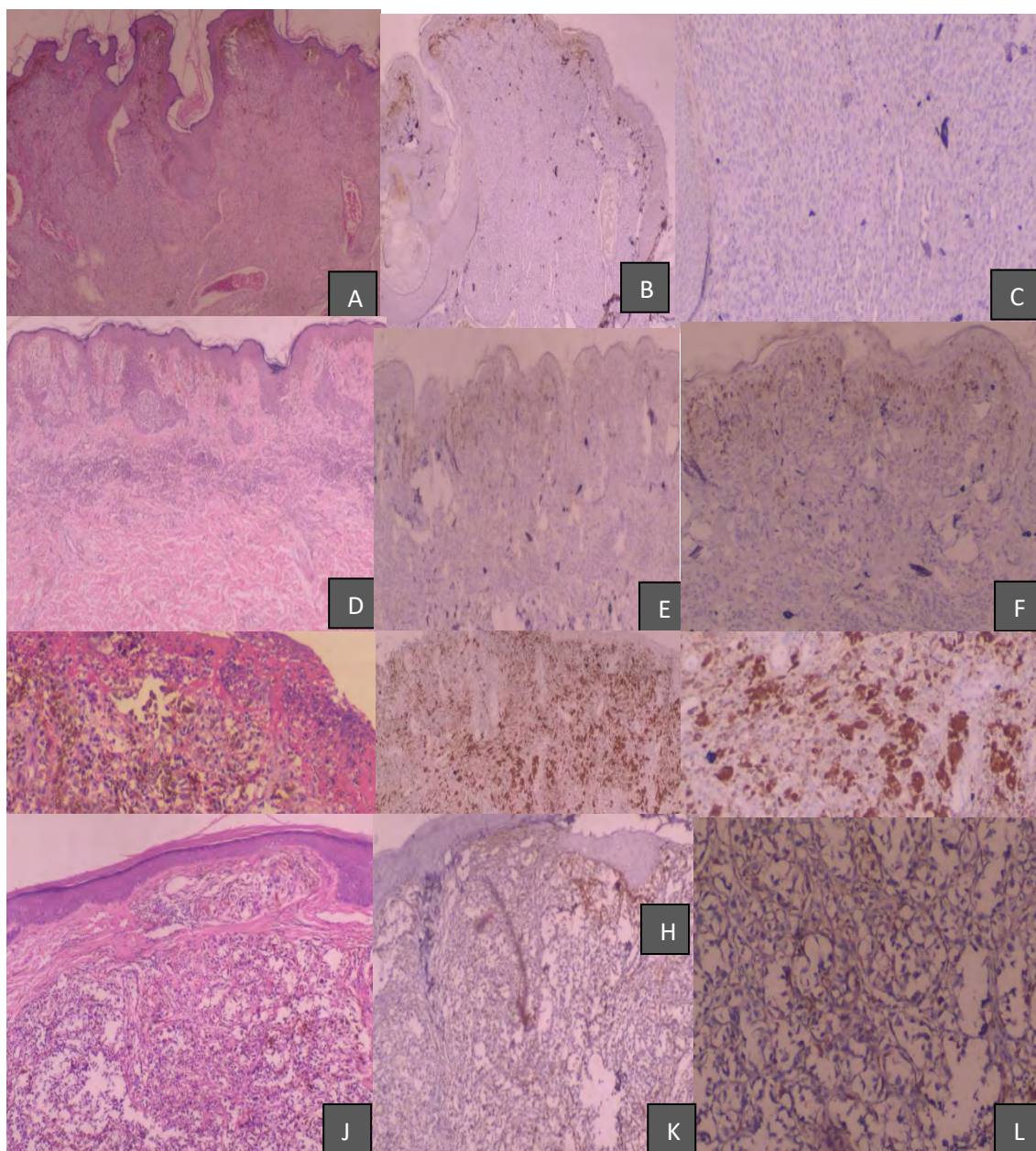


Figura 1. Inmunomarcación para CD10. (A-C) Nevo melanocítico intradérmico: (A) HyE 4x, (B) CD10 a 4x, (C) CD10 a 10x; (D-F) Nevo displásico: (D) HyE a 4x, (E) CD10 a 10x, (F) CD10 a 10x; (G-I) Melanoma: (G) CD10 a 4x, (H) CD10 a 10x; (J-L) Melanoma metastásico: (J) CD10 a 4x, (K) CD10 a 10x, (L) CD10 a 10x.

Resultados de la inmunomarcación para Bcl-2

La inmunomarcación para Bcl-2 se encontró positiva con un patrón citoplásmico en los 3 grupos de estudio, predominando el nivel expresión fuerte (3+).

La tasa de positividad global fue similar en los nevos displásicos y en los nevos melanocíticos, expresándose en un 95.6% de los casos. Los nevos displásicos presentaron 1 caso con expresión negativa, 2 casos con expresión débil, 4 casos con expresión moderada y 16 casos con expresión fuerte. En los nevos melanocíticos se observó 1 caso con expresión negativa y 22 casos con expresión fuerte. Se mostró una expresión negativa a leve (0-25%) en el 13% de los nevos displásicos con respecto al 4.3% de los nevos melanocíticos; y moderada a fuerte ($\geq 26\%$) en el 87% de nevos displásicos con respecto al 95.6% en los nevos melanocíticos ($p=0.60$).

La tasa de positividad global fue del 95.% en lesiones de melanoma, siendo la expresión negativa a débil en el 26.1% de los casos y moderada a fuerte en el 73.1% de los casos comparada con nevos displásicos ($p=0.45$).

En los melanomas in situ se observaron 2 casos (66.7%) con una expresión moderada a fuerte ($\geq 26\%$) y 1 caso con expresión débil (33.3%), $p=0.40$. En los melanomas invasores el 85.7% fue positivo para el marcador, con una expresión negativa a leve en el 23.5% de los casos y moderada a fuerte en el 76.5% de los casos, que comparada con la de los nevos displásicos fue ligeramente menor su expresión ($p=0.43$). El 100% de los melanomas metastásicos expresaron Bcl-2, con un patrón moderado a fuerte ($p=1.0$). (Tabla V, Figura 2).

Tabla V. Nivel de expresión de Bcl-2 en los grupos estudiados

Expresión de Bcl-2	Nevos displásicos n=23 n(%)	Nevos melanocíticos n=23 n(%)	Melanoma n=23 n(%)	Melanoma		
				In situ n=3 n(%)	Invasor n=17 n(%)	Metastásico n=3 n(%)
Negativa-débil (0-25%)	3(13.0)	1(4.3)	6(26.1)	1(33.3)	4(23.5)	0
Moderada- fuerte (≥26%)	20(87.0)	22(95.6)	17(73.1)	2(66.7)	13(76.5)	3(100)
Total de casos (+)	22	22	22	3	16	3
Tasa de positividad	95.6%	95.6%*	95.6%†	100%‡	85.7%**	100%***

*Nevos displásicos vs nevos melanocíticos, p= 0.60

†Nevo displásico vs melanoma, p= 0.45

‡Nevo displásico vs melanoma in situ, p=0.40

**Nevo displásico vs melanoma invasor, p=0.43

***Nevo displásico vs melanoma metastásico, p=1.0

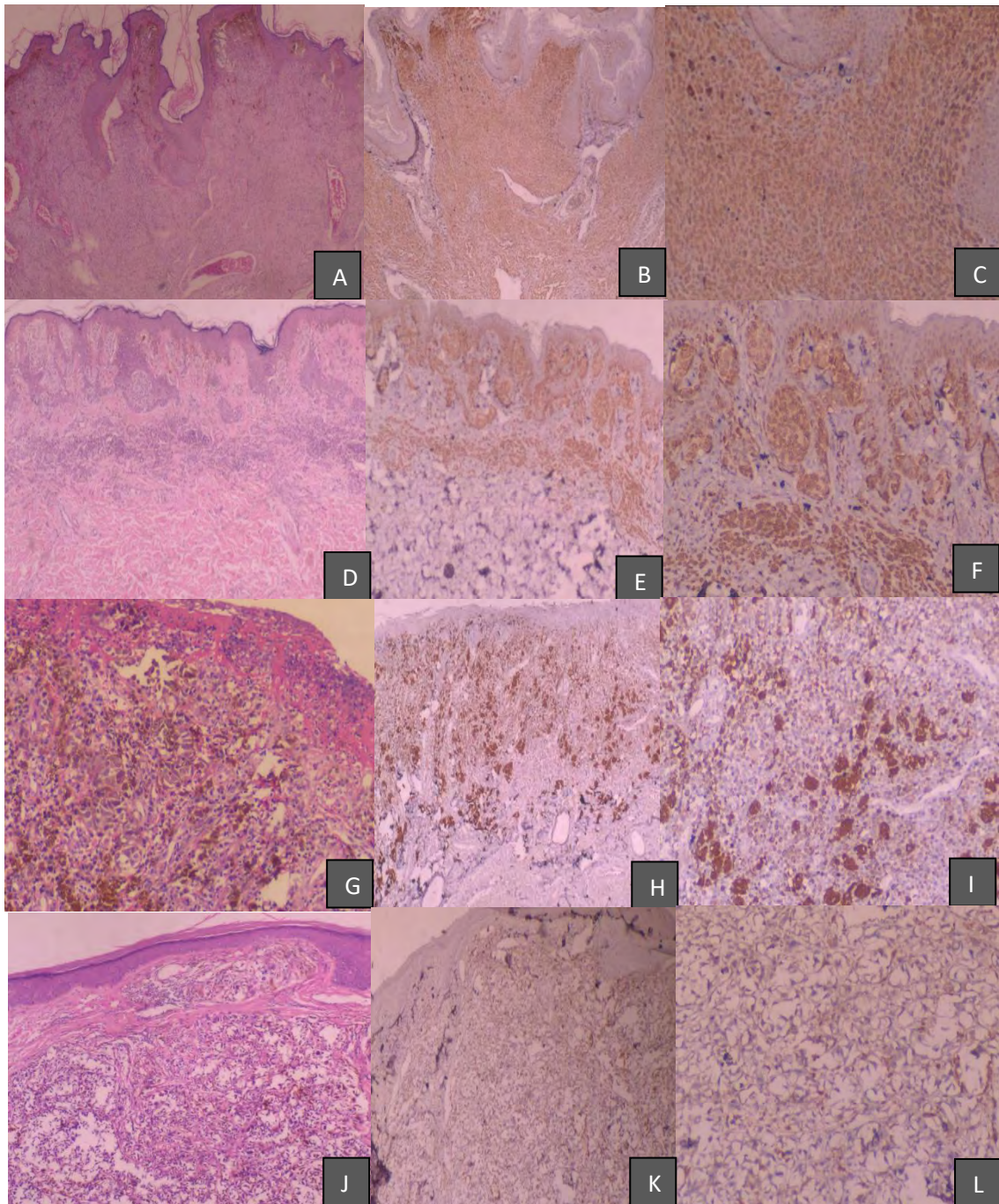


Figura 2. Inmunomarcación para Bcl-2. (A-C) Nevo melanocítico intradérmico: (A) HyE 4x, (B) Bcl-2 a 4x, (C) Bcl-2 a 10x; (D-F) Nevo displásico: (D) HyE a 4x, (E) Bcl-2 a 10x, (F) Bcl-2 a 10x; (G-I) Melanoma: (G) Bcl-2 a 4x, (H) Bcl-2 a 10x; (J-L) Melanoma metastásico: (J) Bcl-2 a 4x, (K) Bcl-2 a 10x, (L) Bcl-2 a 10x.

Resultados de la inmunomarcación para p53

El marcador p53 se encontró negativo en los grupos de nevos displásicos y nevos melanocíticos ($p=1.0$). Comparado con el grupo de melanoma en donde el 26% mostró positividad, de predominio negativo a débil en el 82.6% de los casos y moderada a fuerte en el 17.4% de los casos ($p=0.10$). Asimismo se observó dentro de este grupo estratificado, que el 100% de los melanomas in situ fueron negativos para este inmunomarcador; mientras que el 23.5% de los casos de melanoma invasor expresaron p53, en un patrón negativo a leve en el 82.3% de los casos y moderado a severo en el 17.6% de los casos, $p=0.06$. Por su parte el 66.6% los casos de melanoma metastásico expresaron un nivel de inmunomarcación nula a débil comparado con nevos displásicos ($p=0.11$) (Tabla VI, Figura 3).

Tabla VI. Nivel de expresión de p53 en los grupos estudiados

Expresión de p53	Nevos Displásicos n=23 n(%)	Nevos melanocíticos n=23 n(%)	Melanoma n=23 n(%)	Melanoma		
				In situ n=3 n(%)	Invasor n=17 n(%)	Metastásico n=3 n(%)
Negativa-débil (0-25%)	23(100)	23(100)	19(82.6)	3(100)	14(82.3)	2(66.7)
Moderada- fuerte (≥26%)	0	0	4(17.4)	0	3(17.6)	1(33.3)
Número de casos (+)	0	0	6	0	4	2
Tasa de positividad	0%	0%	26%*	0% [†]	23.5%‡	66.6%**

*Nevo displásico vs melanoma, $p= 0.10$

[†]Nevo displásico vs melanoma, $p= 0.10$

‡ Nevo displásico vs melanoma invasor, $p=0.06$

**Nevo displásico vs melanoma metastásico, $p= 0.11$

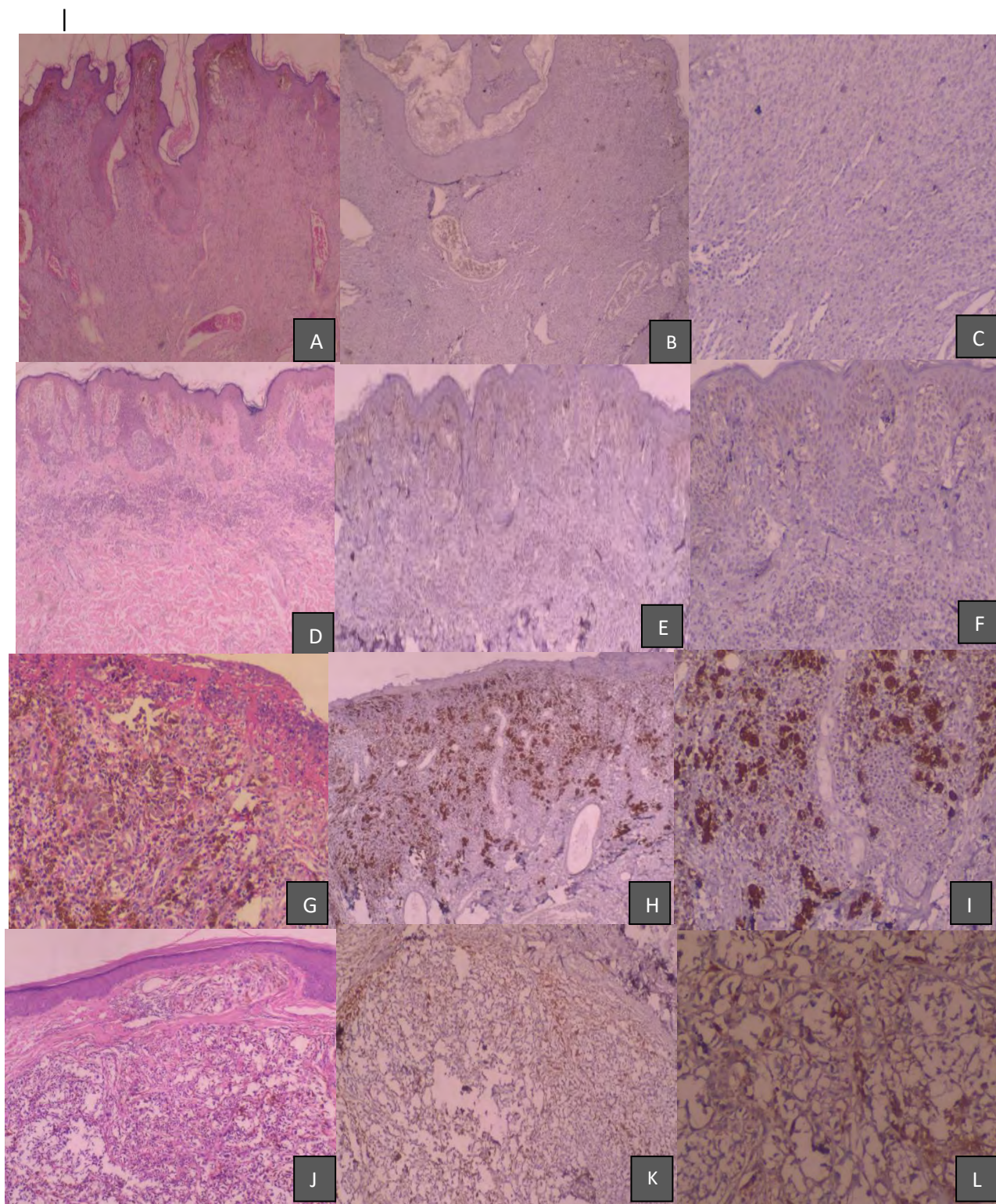


Figura 3. Inmunomarcación para p53. (A-C) Nevo melanocítico intradérmico: (A) HyE 4x, (B) p53 a 4x, (C) p53 a 10x; (D-F) Nevo displásico: (D) HyE a 4x, (E) p53 a 10x, (F) p53 a 10x; (G-I) Melanoma: (G) p53 a 4x, (H) p53 a 10x; (J-L) Melanoma metastásico: (J) p53 a 4x, (K) p53 a 10x, (L) p53 a 10x.

Resultados de la inmunomarcación para ki-67

El índice de proliferación celular medido por ki-67 fue negativa a débil (menor al 25%) en todos los casos de nevos displásicos y nevos melanocíticos ($p=1.0$), siendo en un solo caso (4.3%) positivo débil en los nevos displásicos.

En el grupo de melanoma, el 78.2% de los casos presentaron un índice de proliferación celular negativa a débil (0-25%) en 12(52.2%) de los casos y moderada a fuerte ($\geq 26\%$) en 11(47.8%) de los casos, que comparado con los nevos displásicos fue mayor ($p<0.001$). Dentro del grupo de melanoma, el 66.7% de los melanomas in situ fueron positivo para el inmunomarcador, mayor que el expresado en los nevos displásicos (0.002), con un índice de proliferación celular menor al 25% en un caso y del 26-50% en el otro caso. Para el caso de los melanomas invasores, el 70.5% de los casos mostró positividad para el inmunomarcador. El 58.8% de ellos tuvo un índice de proliferación celular negativo a leve (0-25%) y el 41.1% de los casos un índice de proliferación celular moderado a fuerte (mayor al 26%, $p=0.001$). Los 3(100%) melanomas metastásicos expresaron un índice de proliferación celular moderado a fuerte (mayor al 26%) con respecto a los nevos displásicos ($p<0.001$) (Tabla VII).

Tabla VII. Resultados de inmunohistoquímica para Ki-67 en los grupos estudiados

Expresión de ki-67	Nevos Displásicos n=23 n(%)	Nevos melanocíticos n=23 n(%)	Melanoma n=23 n(%)	Melanoma		
				In situ n=3 n(%)	Invasor n=17 n(%)	Metastásico n=3 n(%)
Negativa-débil (0-25%)	23(100)	23(100)	12(52.2)	2(66.7)	10(58.8)	0
Moderada- fuerte ($\geq 26\%$)	0	0	11(47.8)	1(33.3)	7(41.1)	3(100)
Número de casos (+)	0	1	18	2	12	3
Tasa de positividad	0%	4.3%*	78.2%†	66.7%‡	70.5%**	100%***

*Nevos displásicos vs nevos melanocíticos , $p= 1.0$

†Nevo displásico vs melanoma, $p<0.001$

‡Nevo displásico vs melanoma in situ, $p=0.02$

**Nevo displásico vs melanoma invasor, $p=0.001$

***Nevo displásico vs melanoma metastásico, $p<0.001$

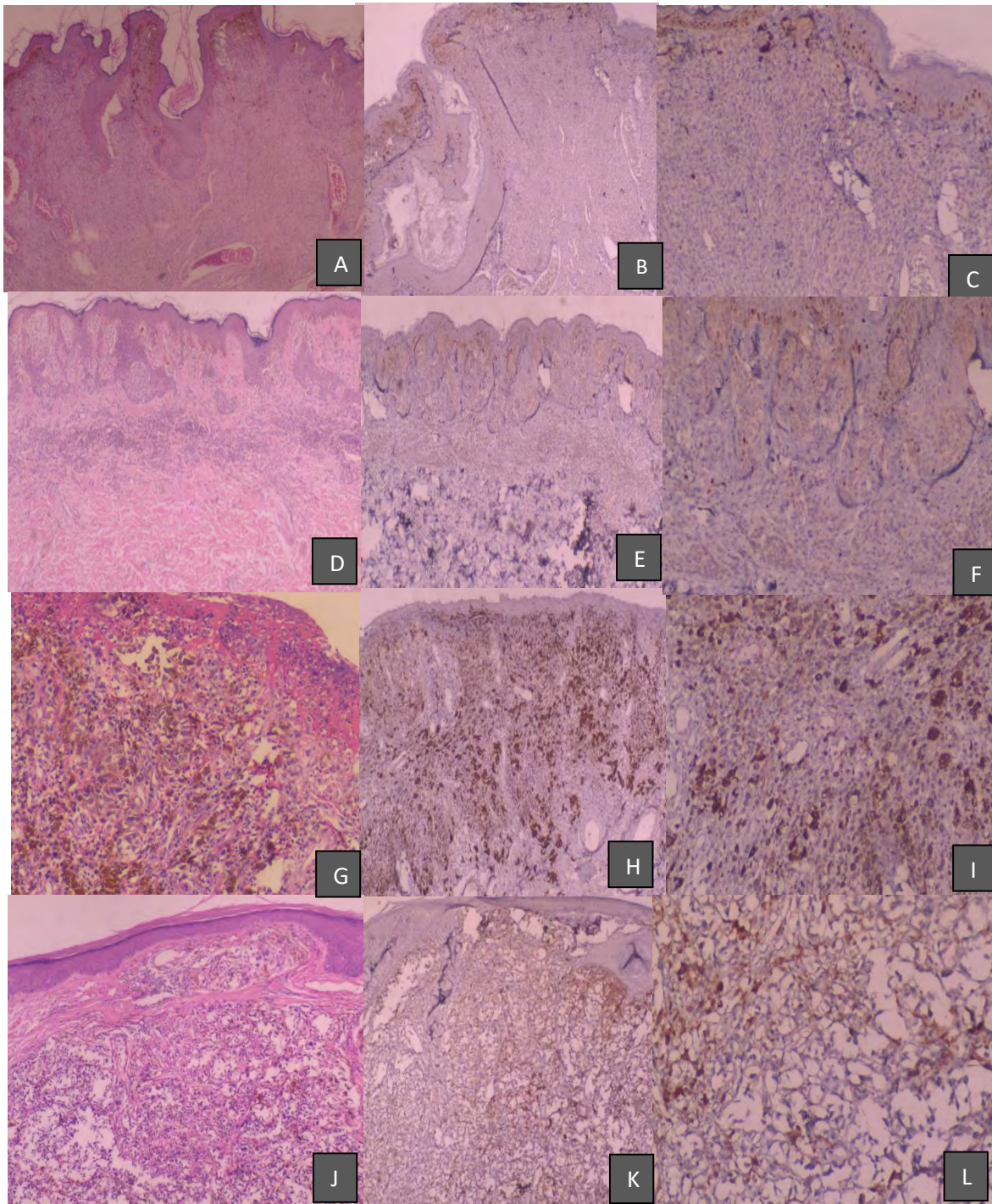


Figura 4. Inmunomarcación para ki-67. (A-C) Nevo melanocítico intradérmico: (A) HyE 4x, (B) ki-67 a 4x, (C) ki-67 a 10x; (D-F) Nevo displásico: (D) HyE a 4x, (E) ki-67 a 10x, (F) ki-67 a 10x; (G-I) Melanoma: (G) ki-67 a 4x, (H) ki-67 a 10x; (J-L) Melanoma metastásico: (J) ki-67 a 4x, (K) ki-67 a 10x, (L) ki-67 a 10x

DISCUSIÓN

Los nevos displásicos han sido descritos como parte de un continuo entre nevos melanocíticos y melanoma cutáneo, ya que de acuerdo a algunos autores, son lesiones que presentan una morfología y un comportamiento biológico intermedio entre estos dos grupos de tumores.¹ En cuanto a su frecuencia, son relativamente comunes, presentándose del 2% al 18% de la población mundial.⁶ Han sido fuente de controversia desde su primera descripción en 1978, por Clark,^{1,2} a partir de lo cual se han desarrollado debates acerca de su nomenclatura y criterios de clasificación clínica e histológica. Después de múltiples consensos, se ha acordado que para definir clínicamente a estas lesiones es necesario que presenten un área de componente macular con al menos tres de las siguientes características: bordes mal definidos, tamaño ≥ 5 mm, variedad de colores o eritema¹; mientras en el ámbito histológico, que presenten alteración en la arquitectura, atipia citológica y respuesta inflamatoria.⁵

Una de las principales controversias, sobre todo a nivel terapéutico, radica en su probable asociación como un factor de riesgo, o de manera más preocupante, como precursor de melanoma cutáneo.³ Hasta la fecha, no es claro si estas lesiones tienen el potencial de evolucionar a lesiones malignas. Algunos estudios han demostrado que la presencia de nevos displásicos confiere un riesgo más elevado de melanoma.⁹⁻¹⁰ El estimado del rango de riesgo para melanoma es de 2 a 12 veces más riesgo en este grupo de pacientes (presencia de una lesión única vs. más de 10 lesiones respectivamente); a pesar del control de variables interactoras como fotosensibilidad, fototipo, daño solar y número de lesiones melanocíticas.⁹

Así como existe controversia clínica e histológica, actualmente no hay un consenso o guías para su tratamiento o seguimiento. Tripp y cols han encontrado una gran variabilidad en la conducta terapéutica de estas lesiones. Noventa y nueve por ciento de los dermatólogos estudiados recomendaron que los pacientes realizaran una autoexploración, 75% que el dermatólogo realizara una revisión de cuerpo completo en cada visita de seguimiento, 49% recomendaron la toma de fotografías basales para todos los pacientes y 23% que se utilizara la dermoscopia como herramienta para detección precoz de melanoma de manera rutinaria. En cuanto a la frecuencia de

seguimiento médico, observaron que el 58% recomendaron visitas cada 12 meses y 33% cada 6 meses.³²

Es así que los nevos displásicos son considerados como una entidad histológica distinta, los cuales pueden compartir características histológicas con los nevos comunes, así como también atipia citológica y respuesta inflamatoria dérmica presente en lesiones de melanoma. Otro problema observado frecuentemente es que los nevos comunes y los nevos displásicos a menudo no pueden distinguirse entre ellos basados en la exploración física y en ocasiones los nevos displásicos tienen características morfológicas asociadas con melanoma, como la presencia de pigmento irregular, asimétrico, borde irregular.^{1,5}

A pesar de los múltiples esfuerzos para el establecimiento de criterios clínicos e histológicos con fines diagnósticos, poco es conocido acerca del comportamiento biológico los mismos y su potencial papel en el desarrollo de melanoma. En la actualidad no existen marcadores validados para predecir su comportamiento biológico. Para el médico clínico resulta importante el saber el comportamiento benigno o maligno de este tipo de lesiones, su capacidad de recurrencia, transformación a melanoma o progresión clínica. Mientras se cuentan con múltiples marcadores pronósticos para melanoma (por ejemplo, grado de ulceración, profundidad, número de mitosis), no existen tales para nevos displásicos, por tanto es posible que análisis moleculares ayuden a identificar diferencias entre lesiones melanocíticas como nevos comunes, nevos displásicos y melanoma maligno. De tal manera que resulta interesante el estudio de los mismos.

La metaloproteinasa de 90-110 kd, CD10 (también conocido como endopeptidasa neural, encefalinasa, neprilisina o antígeno de leucemia linfoblástica aguda) es expresada normalmente en células B, pre-B, centros germinales de ganglios linfáticos y por múltiples tejidos como próstata, riñón, intestino, endometrio, glándulas adrenales y pulmones. Cutrona y cols, demostraron la correlación entre la expresión de CD10 y células T apoptóticas in vivo y ex vivo, con lo que determinaron que uno de los mecanismos de acción pudiera ser la eliminación o escisión de mediadores inflamatorios o proinflamatorios derivado de las células T comprometidas y por tanto la presencia de

CD10 podría funcionar como un mecanismo protector contra la reacción inflamatoria mediada por las células T apoptóticas.³⁵ La expresión neoplásica de CD10 se ha relacionado con progresión tumoral y menor supervivencia de los pacientes en múltiples neoplasias, entre ellas, melanoma. Oba y cols evidenciaron que la expresión de CD10 en melanoma es mayor comparada con nevos melanocíticos.³⁶

En este estudio observamos que la inmunomarcación para CD10 en los nevos displásicos y los nevos melanocíticos fue negativa a débil (expresión menor al 25%), en donde solo 1 caso (4.3%) expresó el marcador, siendo débil su marcación. Comparados con el grupo de melanoma, 10 de los 23 casos fueron positivos al marcador, con una tasa de expresión del 43.5%, siendo en el 30.4% moderada a fuerte, misma que fue comparativamente mayor a la expresada en los nevos displásicos ($p=0.009$). Dentro del grupo estratificado de melanoma, el 33.3% de los casos de melanoma in situ expresaron el marcador con un patrón moderado a fuerte ($p=11$), el 40% de los casos de melanoma invasor expresaron CD10, de los cuales el 35.3% tuvieron una marcación moderada a fuerte ($p=0.003$). Ningún melanoma metastásico fue positivo al marcador. Este hallazgo es consistente con lo publicado por el grupo de Oba y colaboradores, quienes encontraron una expresión aumentada del marcador en casos de melanoma (53% melanomas primarios, 75% melanomas metastásicos) con respecto a nevos melanocíticos adquiridos (10%), así como en factores de mal pronóstico de melanoma. La expresión neoplásica tendió a incrementar durante la progresión tumoral y la presencia de metástasis, siendo más fuerte su expresión en lesiones profundas y metastásicas (71% y 75%) comparada con melanomas delgados (33%; $p=0.0004$ y $p=0.0012$ respectivamente). Asimismo observaron una sobrevida menor cuando las células tumorales expresaban CD10 (34.4 ± 23.8 meses) con respecto a las lesiones que no las expresaban (59.7 ± 26.2 meses, $p=0.0008$).³⁶

El gen Bcl-2 es considerado un protooncogén que codifica para una proteína con potencial antiapoptótico. Al aumentar la supervivencia de una célula tumoral, mediante la inhibición de la apoptosis, Bcl-2 incrementa el riesgo de exposición celular a otras mutaciones que conllevan un círculo vicioso con la consecuente formación de un tumor

maligno. Cabría esperar que la sobre-expresión de esta proteína detectada por inmunohistoquímica sería un evento importante en diversas neoplasias.³⁹ En la piel la expresión de bcl-2 se limita a las células de la capa basal; sin embargo, también se ha observado su expresión en melanocitos en reposo.⁴⁶ Algunos estudios no han encontrado diferencias de su expresión en lesiones melanocíticas, mientras que otros si lo han evidenciado.³⁹⁻⁴⁰

En el presente estudio se observó que el Bcl-2 se expresó en los 3 grupos de estudio, con una tasa de positividad del 95.6% por igual, por lo que se puede apoyar la teoría de algunos autores de considerar el Bcl-2 puede como una proteína expresada en los melanocitos en reposo y pareciera estar presente en el ciclo biológico natural de las lesiones melanocíticas. Estos hallazgos son similares a los encontrados por Morales-Ducret y cols, quienes estudiaron su expresión en 13 nevos congénitos, 11 adquiridos y 6 nevos atípicos. Los 11 nevos adquiridos y 6 nevos atípicos (nevos con alteraciones arquitectónicas o atipia citológica) expresaron bcl-2. Tanto los melanocitos de unión como intradérmicos expresaron bcl-2 en un patrón perinuclear y citoplásmico; concluyendo así que los melanocitos en reposo y los nevos melanocíticos expresan bcl-2 regularmente.⁴⁶

El gen p53, gen supresor tumoral, codifica para una fosfoproteína nuclear cuya función es frenar el crecimiento celular indiscriminado de una célula tumoral mediante la inducción de apoptosis. La mutación o pérdida del gen p53 es la alteración genética encontrada de forma más frecuente en el cáncer humano, y tiene como consecuencia la proliferación acentuada de las células tumorales sin la capacidad de freno o de inducción de muerte celular programada. La forma natural de la proteína p53, debido a su corta vida media, no es detectable en tejidos normales. Sin embargo, la mutación del gen incrementa los niveles de proteína mediante un mecanismo de estabilización postraduccional, lo que permite la detección inmunohistoquímica de la proteína p53 mutada, siendo el patrón de tinción nuclear el más frecuentemente observado, aunque también se ha reportado un patrón citoplasmático en otro tipo de tumores.⁴² Si bien este estudio no encontró diferencias en la expresión de p53 en los tres grupos de estudio (0% en nevos displásicos y nevos melanocíticos y 26% en melanoma), se mostró una tendencia a una mayor expresión de p53 en lesiones de melanoma comparado con la de nevos displásicos y melanoma, sobre todo en los melanomas invasores ($p=0.06$).

Por su lado, ki-67 es considerada una herramienta útil para determina el índice de proliferación celular de una población celular, ya que se encuentra expresada en todas las fases activas del ciclo celular (G1, S, G2), sin embargo es ausente en estado de reposo (fase G0). Ha sido especialmente útil en cáncer de mama y próstata. En el contexto de melanoma cutáneo resulta un marcador útil que lo diferencia de lesiones melanocíticas benignas, correlacionándose una mayor expresión con una menor sobrevida de los pacientes y un menor tiempo libre de enfermedad ($p=0.03$).⁴⁴

Väisänen y cols evidenciaron que la expresión elevada de Ki-67 con p53 se correlacionó con la presencia de metástasis en lesiones de melanoma ($p=0.16$) y una menor sobrevida.⁴³

En este estudio se observó que el índice de proliferación celular medido por ki-67 fue similar en nevos displásicos comparada con nevos melanocíticos (0% y 4.3% respectivamente, $p=1.0$). Para el caso del grupo de melanoma, el 78.2% de los casos fueron positivos al marcador, siendo su expresión negativa a débil (<25% de expresión) en el 52.2% y moderada a fuerte (>26% de expresión) en el resto de casos, comparado con el grupo de nevos displásicos ($p<0.001$). Asimismo, se apreció en el grupo de melanoma estratificado mayor expresión en melanomas metastásicos (100%), seguido de los melanomas invasores (70.5%) y de los melanomas in situ (66.7%).

X. CONCLUSIONES

En este estudio se observó que el comportamiento biológico de los nevos displásicos es similar al observado en los nevos melanocíticos benignos, en donde ambos presentaron una tasa de expresión semejante de marcadores anti-apoptóticos y marcadores de proliferación celular. Las lesiones de melanoma mostraron niveles más elevados de marcadores anti-apoptóticos y una mayor tasa de proliferación celular con respecto a los nevos displásicos. Este hallazgo es sugerente de que la presencia de nevos displásicos (cuando no están asociados a síndrome de nevos displásicos) sin otro factor de riesgo adicional para el desarrollo de melanoma, representan lesiones con una evolución similar a los nevos melanocíticos.

XI. REFERENCIAS

1. Duffy K, Grossman D. The dysplastic nevus: From historical perspective to management in the modern era. Part I. Historical, histologic, and clinical aspects. *J Am Acad Dermatol* 2012;67(1):1.e1-16
2. Arumi-Aria M. Dysplastic nevus: the eye of the hurricane. *J Cutan Pathol* 2008;35(2):16-19
3. Chen S. The dysplastic nevus controversy: it is not about the nevus per se but one's belief in the multistep tumorigenesis theory. *Am J Dermatopathol.* 2010;32:858-9.
4. Rezza GG, Leon A, Duprat J. Dysplastic nevus (atypical nevus). *An Bras Dermatol* 2010;85(6):863-71.
5. Steijlen PM, Bergman W, Hermans J, Scheffer E, Van Vloten, WA, Ruiters DJ. The efficacy of histopathological criteria required for diagnosing dysplastic naevi. *Histopathology* 1988;12:289-300.
6. Farber M, Heilman E, Friedman R. Dysplastic Nevi. *Dermatol Clin* 2013;30:389-404.
7. Piepkorn M, Meyer LJ, Goldgar D, Seuchter SA, Cannon-Albright LA, Skolnick MH, et al. The dysplastic melanocytic nevus: a prevalent lesion that correlates poorly with clinical phenotype. *J Am Acad Dermatol* 1989;20:407-15.
8. Goldstein AM, Tucker MA. Dysplastic Nevi and Melanoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2013;22(4):528-32.
9. Tucker MA, Halpern A, Holly EA et al. Clinically recognized dysplastic nevi. A central risk factor for cutaneous melanoma. *JAMA* 1997;277(18):1439-44.
10. Holly EA, Kelly JW, Shpall SN. Number of melanocytic nevi as a major risk factor for malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1987;17(3):459-68.
11. Arumi-Uria M, McNutt NS, Finnerty B. Grading of atypia in Nevi: Correlation with melanoma risk. *Mod Pathol* 2003;16(8):764-771.
12. Shors AR, Kim S, White E, Argenyi Z, Barnhill RL, Duray P, et al. Dysplastic naevi with moderate to severe histological dysplasia: a risk factor for melanoma. *Br J Dermatol* 2006;155(5):988-93.

13. Halpern AC, Guerry DP, Elder DE. A cohort study of melanoma in patients with dysplastic nevi. *J Invest Dermatol* 1993;100:346S-9S.
14. Tucker MA, Fraser MC, Goldstein AM, Guerry D, Organic SM. Risk of melanoma and other cancers in melanoma-prone families. *J Invest Dermatol* 1993;100:350-5.
15. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Abeni D, Boyle P, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: I. Common and atypical naevi. *Eur J Cancer*. 2005; 41:28–44.
16. Piepkorn M. Melanoma genetics: an update with focus on the CDKN2A(p16)/ARF tumor suppressors. *J Am Acad Dermatol*. 2000;42:705-22.
17. Robinson WA, Lemon M, Elefanty A, Harrison-Smith M, Markham N, Noris D. Human acquired naevi are clonal. *Melanoma Res* 1998;8; 499-503.
18. Scatolini M, Grand MM, Grosso E, Venesio T, Pisacane A, Balsamo A, et al. Altered molecular pathways in melanocytic lesions. *Int J Cancer* 2010; 126:1869-81.
19. Wu J, Rosenbaum E, Begum S, Westra WH. Distribution of BRAF T1799A(V600E) mutations across various types of benign nevi: implications for melanocytic tumorigenesis. *Am J Dermatopathol* 2007;29:534-7.
20. Uribe P, Witsuba II, González S. BRAF mutation: a frequent even in benign, atypical and malignant melanocytic lesions of the skin. *J Am Acad Dermatol* 2003; 25(5):365-370.
21. Levin DB, Wilson K, Valadares de Amorim G, Webber J, Kenny P, Kusser W. Detection of p53 mutations in benign and dysplastic nevi. *Cancer Res* 1995;55:4278-82.
22. Tsao H, Mihm MC Jr, Sheehan C. PTEN expression in normal, skin, acquired melanocytic nevi, and cutaneous, melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2003;49:865-72.
23. Lebe B, Pabuccuoglu U, Ozer E. The significance of Ki-67 proliferative index and cyclin D1 expression of dysplastic nevi in the biologic spectrum of melanocytic lesions. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2007;15:160-4.
24. Alekseenko A, Wojas-Pelc A, Lis GJ, Furgal-Borzzych A, Surowka G, Litwin JA. Cyclin D1 and D3 expression in melanocytic skin lesions. *Arch Dermatol Res* 2010;302:545-50.

25. Batinac T, Hadzisejdic I, Brumini G, Ruzic A, Vojnikovic B, Zamolo G. Expression of cell cycle and apoptosis regulatory proteins and telomerase in melanocytic lesions. *Coll Antropol* 2007;31(1):17-22
26. Morales-Ducret CR, van de Rijn M, Smoller BR. Bcl-2 expression in melanocytic nevi. Insights into the biology of dermal maturation. *Arch Dermatol* 1995;131:915-8.
27. Tron VA, Krajewski S, Klein-Parker H, Li G, Ho VC, Reed JC. Immunohistochemical analysis of Bcl-2 protein regulation in cutaneous melanoma. *Am J Pathol* 1995;146:643-50. Grossman D, McNiff JM, Li F, Altieri DC. Expression and targeting of the apoptosis inhibitor, survivin, in human melanoma. *J Invest Dermatol* 1999;113:1076-81.
28. Pavel S, van Nieuwpoort F, van der Meulen H, Out C, Pizinger K, Cetkovsk_a P, et al. Disturbed melanin synthesis and chronic oxidative stress in dysplastic naevi. *Eur J Cancer* 2004;40:1423-30.
29. Gray-Schopfer VC, Cheong SC, Chong H, Chow J, Moss T, Abdel-Malek ZA, et al. Cellular senescence in naevi and immortalisation in melanoma: a role for p16? *Br J Cancer* 2006;95:496-505.
30. Bennett DC. Human melanocyte senescence and melanoma susceptibility genes. *Oncogene* 2003;22:3063-69.
31. Clemente C, Cochran AJ, Elder DE, Levene A, MacKie RM, Mihm MC, et al. Histopathologic diagnosis of dysplastic nevi: concordance among pathologists convened by the World Health Organization Melanoma Programme. *Hum Pathol* 1991;22:313-9.
32. Tripp JM, Kopf AW, Marghoob AA, Bart RS. Management of dysplastic nevi: a survey of fellows of the American Academy of Dermatology. *J Am Acad Dermatol* 2002;46:674-82.
33. Duffy KL, Mann DJ, Petronic-Rosic V, Shea CR. Clinical decision making based on histopathological grading and margin status of dysplastic nevi. *Arch Dermatol* 2012;148:259-60
34. Chu P, Arber DA. Paraffin-Section Detection of CD10 in 505 Nonhematopoietic Neoplasms. *Am J Clin Pathol*. 2000;113:374-82.

35. Cutrona G, Leanza N, Ulivi M, Melioli G, Burgio BL, Mazzarello G, et al. Expression of CD10 by Human T cells that undergo apoptosis both in vitro and in vivo. *Blood*. 1999;94:3067-76.
36. Oba J, Nakahara T, Hayashida S, Kido M, Xie L, Takahara M et al. Expression of CD10 predicts tumor progression and unfavorable prognosis in malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2011;65:1152-60.
37. Yang E, Zha J, Jockel J, Boise LH, Thompson CB, Korsmeyer SJ. Bad, a heterodimeric partner for Bcl-2 and Bcl-xL, displaces Bax and promotes cell death. *Cell* 1995;80:285-91
38. Zhang, Rosdahl I. Bcl-xL and bcl-2 proteins in melanoma progression and UVB-induced apoptosis. *J Oncol* 2006 Mar;28(3):661-6.
39. Sáenz-Santamaría MC, Reed JA, McNutt NS, Shea CR. Immunohistochemical expression of BCL-2 in melanomas and intradermal nevi. *J Cutan Pathol* 1994: 393-397.
40. Zhang H, Rosdahl I. Bcl-xL and bcl-2 proteins in melanoma progression and UVB-induced apoptosis. *Int J Oncol*. 2006 Mar;28(3):661-6.
41. Sherr CJ, McCormick F. The RB and p53 pathways in cancer. *Cancer Cell*. 2002(2): 103-12.
42. Benjamin CL, Ananthaswamy HN. p53 and the pathogenesis of skin cancer. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2007;224:241-48.
43. Väisänen A, Kuvaja P, Kallioinen M, Turpeenniemi-Hujanen T. A prognostic index in skin melanoma through the combination of matrix metalloproteinase-2, Ki67, and p53. *Hum Pathol*. 2011;42(8):1103-11.
44. Henrique R, Azevedo R, Bento MJ. Prognostic value of Ki-67 expression in localized cutaneous malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol*. 2000; 43:991-1000.
45. Goldstein AM, Tocker MA. Dysplastic Nevi and Melanoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2013;22(4):528-32.
46. Morales-Ducret J, Van de Rijn M, Lebrun DP, et al. bcl-2 Expression in melanocytic nevi: Insights into the Biology of Dermal Maturation. *Arch Dermatol*. 1995;131(8):909-12.