



# **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN**

**HOSPITAL GENERAL "DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ"**

**"EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA PRESENTE DEL MARCADOR PRAME EN LESIONES MELANOCÍTICAS ACRALES EN TEJIDO EMBEBIDO EN PARAFINA DE PACIENTES DEL HOSPITAL DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ EN EL PERIODO DE ENERO 2010 A JULIO 2021"**

**TESIS:**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN DERMATOPATOLOGÍA**

**PRESENTA:**

**RAÚL GERARDO MENDEZ FLORES**

**ASESOR:**

**DRA. MARÍA ELISA VEGA MEMIJE**

**DEPARTAMENTO DE DERMATOPATOLOGÍA**

**Ciudad de México, Febrero 2023**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

# HOSPITAL GENERAL “DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ”

## AUTORIZACIONES

---

Dra. Lorena Hernández Delgado  
Directora de Enseñanza e Investigación

---

Dra. Rosa Patricia Vidal Vázquez  
Subdirector de Investigación Biomédica

---

Dra. Sonia Toussaint Caire  
Profesora titular del curso de Dermatopatología

---

Dra. María Elisa Vega Memije  
Asesor de tesis y jefa de la División de Dermatología

Este trabajo de tesis con número de registro: **06-98-2021** presentado por el alumno Raúl Gerardo Mendez Flores y se presenta en forma con visto bueno por el tutor principal de la tesis Dra. María Elisa Vega Memije con fecha febrero 2023 para su impresión final.

---

Dra. Rosa Patricia Vidal Vázquez  
Subdirector de Investigación Biomédica

---

Investigador Principal  
Dra. María Elisa Vega Memije

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi padre Carlos Mendez Reyes y a mi madre Irene Isabel Flores Romero, que a lo largo de la vida me han guiado por el camino del trabajo y esfuerzo y me han brindado su apoyo y consejo. En los momentos difíciles me alentaron a seguir adelante y siempre han estado cuando los he necesitado. Si no fuera por ustedes yo no estaría aquí. Nunca me cansare de agradecerles la vida, el cariño, el amor y muchas cosas más que me dan. A mi hermana Ana Irene Mendez Flores, por estar al tanto de su hermano, por servirme de motivación y por compartir conmigo esta etapa tan importante. A mi novia y ahora prometida Teresa Aránzazu Gómez Cevallos por ser un pilar fundamental en mi vida, estar conmigo en los momentos buenos y difíciles, por ser una de mis mayores motivaciones.

Al Hospital General “Dr. Manuel Gea Gonzalez” y la Universidad Autónoma de México por formarme como especialista y permitirme el uso de sus instalaciones e insumos.

Al servicio de Dermatopatología, especialmente a mis adscritas la Dra. Elisa Vega, Dra. Sonia Toussaint y la Dra. Miren Lorea por formarme y permitirme realizar mi especialidad durante 2 años. Ellas han sido fundamentales para adquirir los conocimientos y destrezas necesarios para desarrollar la especialidad.

A mis compañeros y compañeras residentes del servicio de Dermatopatología, por brindarme su apoyo siempre en éstos años. Por su amistad y servirme de motivación para seguir mejorando todos los días. Especialmente a mis Co-Rs Estefania, Emma y Manuel.

## Índice

	Pág.
<b>1.RESUMEN</b>	<b>7</b>
<b>2.INTRODUCCIÓN</b>	<b>8</b>
<b>3.MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>12</b>
<b>4.RESULTADOS</b>	<b>16</b>
<b>5.DISCUSIÓN</b>	<b>18</b>
<b>6.CONCLUSIONES</b>	<b>22</b>
<b>7.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>23</b>
<b>8.TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICAS</b>	<b>25</b>

**INTRODUCCIÓN:** El melanoma acral lentiginoso (MAL) es el subtipo histológico más frecuente en México. Desafortunadamente, el diagnóstico histopatológico no es sencillo, especialmente en lesiones tempranas. La inmunohistoquímica con PRAME (Antígeno expresado preferencialmente en melanoma) es una herramienta novedosa y valiosa en la evaluación de lesiones melanocíticas, que ha surgido como una prueba complementaria potencialmente útil.

**OBJETIVO:** Determinar como es la expresión inmunohistoquímica presente del marcador PRAME en lesiones melanocíticas acrales en tejido embebido en parafina de pacientes del Hospital General “Dr. Manuel Gea González” en el periodo de Enero 2010 a Julio 2021.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** Se realizó un estudio observacional, descriptivo, transversal y prolectivo. Al obtener la aprobación de los comites de investigación y ética en investigación la junta de revisión institucional, se seleccionaron muestras entre Enero 2010 a Julio 2021 que fueran lesiones melanocíticas acrales y ungueales, benignas y malignas, hasta que se llegara a un total de 50 muestras por conveniencia. Estas muestras se obtuvieron de la base de datos del departamento de Dermatopatología del Hospital General “Dr. Manuel Gea Gonzalez”. Solo se consideraron los casos con bloques de parafina y datos clínicos disponibles. Se registró la información demográfica de los pacientes y otras características clínico-patológicas relevantes para cada caso. Se registro el porcentaje de células lesionales que exhibieron expresión nuclear de PRAME, los porcentajes se clasificaron de la siguiente manera, independientemente de la intensidad de la expresión: 0%, 0; 1% a 25%, 1+; 26% a 50%, 2+; 51% a 75%, 3+; y >75% (Difuso), 4+. La expresión nuclear

de >75% de los melanocitos neoplásicos (células de interés) se interpretó como difusa o positiva.

**RESULTADOS:** Se incluyeron un total de 47 lesiones melanocíticas acrales, de las cuales 24 (51%) eran nevos melanocíticos y 23 (49%) melanomas cutáneos y ungueales. De los 23 melanomas, 95.6% (22/23) fueron inmunoreactivos a PRAME; 86.9% de estos casos (20/23) mostraron expresión difusa de PRAME. De este grupo, el 100% de los melanomas *in situ* (4/4) mostraron expresión difusa. Al contrario, de los 24 nevos melanocíticos, 41.6% (10/24) mostraron algún tipo de inmunoreactividad a PRAME; sin embargo, fueron considerados negativos el 100% (24/24). Nueve de estos nevos mostraron una expresión de +1 y solo 1 caso de nevo de Spitz mostro expresión de +2.

**CONCLUSIONES:** Utilizando la prueba de independencia de chi-cuadrada de Pearson se encontró asociación estadísticamente significativa ( $p < 0.001$ ) entre el valor de PRAME expresado en rangos y el diagnóstico de nevo, melanoma acral cutáneo y melanoma acral ungueal. Estos resultados sugieren que la expresión difusa de PRAME puede servir como complemento útil en el diagnóstico diferencial entre nevo melanocítico acral y MAL. Adicionalmente, identificamos un subconjunto de casos desafiantes de melanoma *in situ* temprano que tuvieron expresión difusa de PRAME.



## **2. INTRODUCCION**

Se consideran lesiones melanocíticas acrales las que afectan la piel del dorso de las manos y pies, palmas, plantas y el aparato ungueal. Estas lesiones melanocíticas son comunes en la población mexicana y pueden tener diferentes manifestaciones; benignas como el nevo melanocítico acral, o malignas como el melanoma acral (MA), las cuales pueden localizarse en piel acral o en la unidad ungueal (subungueal). Aunque la mayoría de estas lesiones suelen ser benignas, diagnosticar un MA en estadios tempranos a menudo es un desafío. En los nevos melanocíticos acrales, se han documentado características que podrían simular a un melanoma, como melanocitos suprabasales, atipia citológica leve, proliferación lentiginosa, circunscripción lateral deficiente o ausente y cambios reactivos como crestas reticulares alargadas, aumento de la vascularización dérmica y fibroplasia dérmica.<sup>1</sup> Por estas razones, la búsqueda de un estudio o marcador de diagnóstico capaz de aumentar la sensibilidad y especificidad del diagnóstico de melanoma se ha intensificado; esto ha resultado en un papel más importante para la inmunohistoquímica. Sin embargo, todos los marcadores propuestos anteriormente, HMB45, SOX-10, p16, por citar algunos, se consideran solo de apoyo al diagnóstico morfológico, pero no diagnósticos por si solos. El marcador de inmunohistoquímica llamado PRAME (Antígeno expresado preferencialmente en melanoma) se ha propuesto recientemente como un marcador sensible y específico para melanoma.

### **Epidemiología**

El melanoma acral lentiginoso (MAL) se reportó por primera vez en 1976 y se clasificó como un cuarto subtipo histológico de melanoma acral, que se suma a los 3 subtipos ya descritos: melanoma de extensión superficial, melanoma nodular y melanoma lentigo maligno. El MAL es el subtipo más frecuente de melanoma en la piel acral y el más común en México, y

conlleva un peor pronóstico en comparación con los otros subtipos histológicos o en otros sitios anatómicos.<sup>2,3</sup>

## **Fisiopatología**

Dado que los melanomas acrales se desarrollan en áreas del cuerpo no foto-expuestas, no se cree que la radiación ultravioleta (UV) tanta influencia como en otros tipos de melanoma. En comparación con los melanomas cutáneos no acrales, los MA tienen una carga mutacional de un solo nucleótido mucho más baja, pero muestran una mayor cantidad de aberraciones estructurales somáticas.<sup>4</sup>

Los genes a los que se dirigen con frecuencia las amplificaciones son KIT, TERT, PAK1, CDK4 y CCND1, y los genes eliminados de forma recurrente incluyen CDKN2A, PTEN y NF1.<sup>5</sup> Un estudio reciente de 514 casos de melanoma primario acral reportó que la frecuencia general de al menos una aberración en CDK4, CCND1 o P16INK4a fue del 82,7%.<sup>6</sup> La frecuencia de las mutaciones BRAF y NRAS en el melanoma acral es considerablemente más baja que en el melanoma cutáneo no acral, por lo que la mayoría de los pacientes con melanoma acral no son elegibles para el tratamiento con inhibidores de BRAF y la combinación de inhibidores de BRAF/MEK.

## **Manifestaciones clínicas**

Los melanomas acrales se desarrollan en la piel sin vello, incluidas las palmas de las manos, las plantas de los pies o debajo de las uñas. Las características clinicopatológicas de los melanomas acrales difieren significativamente de las de los melanomas cutáneos, siendo los

melanomas acrales más agresivos que los cutáneos, independientemente de la ascendencia de los pacientes.<sup>7</sup>

### **Histología e Inmunohistoquímica**

Las lesiones melanocíticas se identifican con marcadores inmunohistoquímicos como S100, Melan-A, SOX-10, HMB45; su uso depende de la localización, evolución y subtipo de la lesión melanocítica. Recientemente se ha utilizado un marcador perteneciente a los antígenos de cáncer-testículo (CTA), los cuales tienen una expresión limitada en los tejidos humanos. Este marcador llamado antígeno expresado preferencialmente en melanoma (PRAME) está codificado por el antígeno leucocitario humano (HLA)-A24 y se caracterizó por primera vez en 1997 mediante la clonación de células T del epítipo autólogo en un paciente con melanoma cutáneo metastásico.<sup>8</sup>

Posteriormente la expresión de PRAME no solo se demostró en el melanoma cutáneo, sino también en el melanoma ocular y diversas neoplasias malignas no melanocíticas, pero su expresión en el tejido normal está restringida al testículo, ovario, placenta, glándulas suprarrenales y endometrio.<sup>9</sup>

El gen PRAME se encuentra en la hebra inversa del cromosoma 22 (22q11.22), tiene aproximadamente 12 kilobases de longitud y contiene dominios repetidos ricos en leucina. PRAME puede promover la progresión tumoral al inhibir la diferenciación, la detención del crecimiento y la apoptosis inducida por la señalización del ácido retinoico. PRAME se une al receptor de ácido retinoico (RAR) y recluta EZH2 para formar un complejo heterotrimérico que reprime la transcripción de genes que contienen sitios de unión RAR.<sup>10</sup>

En los melanomas uveales, se ha descubierto que la expresión de ARNm de PRAME es un indicador pronóstico importante e independiente del riesgo de metástasis. En los melanomas cutáneos, se ha reportado que la tinción inmunohistoquímica con PRAME es útil para respaldar el diagnóstico de melanoma, así como cuando existen dudas en la evaluación de los márgenes del melanoma. La detección de la expresión de la proteína PRAME por inmunohistoquímica en una cohorte de 400 tumores melanocíticos mostró inmunorreactividad nuclear difusa para PRAME en la mayoría de los melanomas metastásicos y primarios. Por el contrario, la mayoría de los nevos fueron negativos para PRAME o mostraron inmunorreactividad no difusa<sup>11,12</sup> La inmunohistoquímica de PRAME también ha mostrado una alta concordancia con estudios citogenéticos en una cohorte de neoplasias melanocíticas con histomorfología ambigua; sin embargo, estas pruebas no son intercambiables.<sup>13</sup> La inmunohistoquímica PRAME es una herramienta valiosa en la evaluación de lesiones melanocíticas; sin embargo, aún no se ha reportado su expresión en nuestra población.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **Selección de datos y muestras**

Todos los aspectos de nuestra investigación se realizaron de acuerdo con las pautas éticas conocidas. (p. ej., la Declaración de Helsinki, el Informe Belmont). Se seleccionaron muestras entre Enero 2010 a Julio 2021 que fueran lesiones melanocíticas acrales y ungueales, benignas y malignas, hasta que se llegara a un total de 50 muestras por conveniencia. Estas muestras se obtuvieron de la base de datos del departamento de Dermatopatología del Hospital General “Dr. Manuel Gea Gonzalez”. Solo se consideraron los casos con bloques de parafina y datos clínicos disponibles. Se registró la información demográfica de los pacientes y otras características clínico-patológicas relevantes para cada caso.

#### **Análisis clínico-patológico**

Se registraron los siguientes datos clínico-patológicos: edad al momento de la escisión, sexo, sitio anatómico y diagnóstico histológico. Para cada melanoma, se documentaron los siguientes parámetros: profundidad, grosor de Breslow (mm), simetría, ulceración, morfología celular y cantidad de pigmento. Para cada nevo se documento: profundidad, simetría, morfología celular y cantidad de pigmento.

#### **Análisis con inmunohistoquímica**

Los portaobjetos se tiñeron con el anticuerpo anti-PRAME (RabMab [EPR20330]; Abcam; #219650) y posteriormente se analizaron semicuantitativamente por dos dermatopatólogos (RM y ST). Se registro el porcentaje de células lesionales que exhibieron expresión nuclear de

PRAME, y los porcentajes se clasificaron de la siguiente manera, independientemente de la intensidad de la expresión: 0%, 0; 1% a 25%, 1+; 26% a 50%, 2+; 51% a 75%, 3+; y >75%, 4+. La expresión en al menos el 75% de los melanocitos (células de interés) se interpretó como difusa o positiva. Se eligió este punto de corte porque era el mejor para discriminar entre lesiones benignas y malignas con nuestra titulación del anticuerpo PRAME. Si bien este umbral es el mismo establecido por *Lezcano et al*<sup>11</sup>, reconocemos que otros autores tienen un umbral diferente. Esta diferencia puede atribuirse a las diferencias en los métodos de tinción, la variabilidad entre observadores y/o los subtipos de diagnóstico examinados. La expresión de 0+,1+,2+,3+ fueron consideradas como negativas.

### **Análisis estadístico**

Se consideró estadísticamente significativo un valor de  $<0.05$ . Se utilizó la prueba de chi-cuadrado de Pearson. La información se analizó con RStudio: Integrated Development Environment for R [Internet]. Boston, MA. Posit Software, PBC; 2022. Available from: <http://www.posit.co/>

### **Procedimiento y procesamiento**

1. Búsqueda en la base de datos de 60 casos con diagnóstico de nevo melanocítico acral y melanoma cutáneo acral del Departamento de Dermatopatología.
2. Recolección de bloques de parafina con diagnóstico de nevo melanocítico acral y melanoma acral.

3. Revisión de laminillas para la descripción del subtipo histológico y recolección de datos clínicos e histológicos.
4. Selección de bloques de parafina para realización de inmunohistoquímica con el marcador PRAME.

Técnica de inmunohistoquímica:

5. El Tejido fijado en formol al 10% amortiguado pH7, embebido en parafina. Corte histológico a 2 micras en laminilla electro cargada. Colocar en estufa de secado a 60° durante 35 minutos. Transferir la laminilla a un vaso de tinción con xilol e incubar durante 5 minutos. Hidratar con alcohol etílico absoluto, alcohol etílico de 96°, agua destilada dos cambios de 30 segundos en cada uno. Bloquear peróxidasa endógena con peróxido de hidrogeno al 0.9% e incubar durante 5 minutos. Recuperación de epítopes para exponer los determinantes antigénicos, por el método de desenmascaramiento con solución de citrato de sodio pH6, en olla de presión eléctrica (regula presión a 20 libras, temperatura 95 – 100°C, tiempo). Agregar a la olla de presión 700 ml de agua destilada. Cerrar la olla de presión de acuerdo a las instrucciones inscritas al dorso de la tapa de la misma. Colocar los portaobjetos en el vaso de coplin y agregar un volumen de solución de desenmascaramiento citrato de sodio pH6 a 2-8 °C que cubra las laminillas, cerrar el vaso de coplin hasta el tope y regresar 1/8 de la rosca para liberar presión. Colocar el vaso de coplin dentro de la olla de presión, cerrar la olla. Programar e iniciar calentamiento durante 20 minutos. Finalizado el tiempo de recuperación en olla de presión eléctrica, dejar enfriar a temperatura ambiente y liberar presión. Retirar el vaso de coplin de la olla de presión. Destapar el vaso de coplin, colocarlo en un baño de agua fría y esperar hasta que la solución de desenmascaramiento baje a temperatura

ambiente. Una vez fría la solución de desenmascaramiento, realizar tres lavados con agua destilada. Montar la laminilla en el coverplate (sistema de capilaridad) y colocar en el rack (bastidor). Llenar el contenedor del coverplate con solución de lavado (buffer de fosfatos pH7), incubar por 4 minutos. Agregar 100 microlitros de anticuerpo primario (PRAME) e incubar durante 40 minutos. Llenar el contenedor del coverplate con solución de lavado (buffer de fosfatos pH7), incubar por 4 minutos. Agregar 100 microlitros de polímero 1 (Mach1) e incubar durante 10 minutos. Llenar el contenedor del coverplate con solución de lavado (buffer de fosfatos pH7), incubar por 4 minutos. Agregar 100 microlitros de polímero 2 (Mach1) e incubar durante 15 minutos. Llenar el contenedor del coverplate con solución de lavado (buffer de fosfatos pH7), incubar por 4 minutos. Retirar la laminilla del sistema coverplate, secar el excedente de buffer con una gasa. Colocar 100 microlitros de Diaminobencidina sobre la muestra y monitorear con el microscopio hasta que la reacción colorimétrica sea adecuada. Decantar la solución de DAB en el vaso que contiene hipoclorito de sodio al 6%. Lavar con agua corriente el exceso de DAB de la laminilla sobre el vaso que contiene hipoclorito de sodio al 6%. Contrastar laminilla con hematoxilina de Mayer, incubar durante un minuto. Lavar con agua destilada. Virar contraste con solución de carbonato de litio. Lavar con agua destilada. Deshidratar con alcohol etílico de 96, alcohol etílico absoluto, xilol. Montar con resina (entellan) y cubreobjetos.

6. Análisis e interpretación de datos por 2 dermatopatólogos y 1 residente de dermatopatología después de realizados los procesos técnicos de inmunohistoquímica.
  - a) Llenado de hoja de captura de datos con las variables y características histológicas.



b) Evaluación de laminillas con inmunohistoquímica y registro de la positividad y porcentaje expresado. Se asignará un puntaje dependiendo del porcentaje de positividad.

El presente trabajo de investigación fue aprobado por el comité de ética y de investigación del Hospital General Dr. Manuel Gea González con el número de registro **06-98-2021**

## **4. RESULTADOS**

### **4.1 Características clínico-patológicas**

Las características clínico-patológicas de todos los casos estudiados se enumeran en la Tabla 1. De las 50 muestras se excluyeron 3 por no contar con material suficiente para realizar estudios de inmunohistoquímica. Se incluyeron un total de 47 lesiones melanocíticas acrales, de los cuales 24 (51%) eran nevos melanocíticos y 23 (49%) melanomas cutáneos y ungueales. Se incluyeron lesiones melanocíticas de 19 (40.4%) pacientes masculinos y 28 (59.6%) pacientes femeninos. La edad al diagnóstico oscilaba entre los 1-90 años (mediana: 54 años). Dentro de todas las lesiones melanocíticas acrales, 35 (74.5%) eran cutáneas y 12 (25.5%) subungueales. La mayoría de las lesiones se localizaron en las plantas/pie (29/47, 61.8%), seguido de 12 casos subungueales (25.5%) y palmar/mano en 6 (12.7%).

Los pacientes con nevos melanocíticos acrales tenían tendencia a menor edad, donde la mediana de edad era de 31 años y había una predominancia del sexo femenino (70.8%). Dentro de estos casos, predominaron los nevos melanocíticos convencionales; incluyendo cinco de unión, 12 compuestos y cinco intradérmicos. Se incluyeron 4 nevos melanocíticos compuestos de Spitz.

Los hallazgos histológicos de los casos de melanoma se enlistan en la Tabla 2. Entre los 23 pacientes con melanoma acral, la mediana de edad al diagnóstico fue de 52 años, de los cuales 12 eran hombres y 11 mujeres. La mayoría de los melanomas acrales cutáneos (11/13, 84%) eran nivel de Clark IV, y el grosor de Breslow en promedio fue de 3.37 mm el cual oscilaba entre 1.52 a 5.5 mm. La ulceración fue frecuente (66.7%) así como el depósito escaso de pigmento en un 61% de los casos; finalmente, la celularidad epitelioides (61%) fue más frecuente que la mixta (39%). Los melanomas ungueales tenían un nivel de Clark más variado, siendo el III (3/8, 37.5%) el más frecuente; en comparación con el melanoma cutáneo, el grosor de Breslow era más bajo en promedio (2.47 mm) pero con un rango más amplio 0.45 a 7 mm. Los melanomas ungueales fueron menos tendientes a ulcerarse (42.8%) y tenían un depósito intenso de pigmento frecuente en 42.8% de los casos; al igual que el melanoma acral cutáneo, la celularidad más frecuente fue la epitelioides (90%). Tanto el melanoma acral cutáneo como el ungueal tuvieron una tasa mitótica parecida (3/mm<sup>2</sup>).

#### **4.2 Expresión de PRAME**

Un resumen de la expresión del anticuerpo PRAME se resume en las Tablas 3 y 4. Se encontró asociación estadísticamente significativa ( $p < 0.001$ ) entre el valor de PRAME expresado en rangos y el diagnóstico de nevo, melanoma acral cutáneo y melanoma acral ungueal. De los 23 melanomas, 95.6% (22/23) fueron inmunoreactivos a PRAME; 86.9% de estos casos (20/23) mostraron expresión difusa de PRAME (Figura 1). De este grupo, el 100% de los melanomas *in situ* (4/4) mostraron expresión difusa (Figura 2,3 y 4). En cuanto a los tres casos que no mostraron expresión difusa, dos tuvieron expresión de 3+ PRAME. El único caso negativo a PRAME fue un melanoma invasor en fase de crecimiento vertical de morfología epitelioides y fusiforme. De los 24 nevos melanocíticos, 41.6% (10/24) mostraron algún tipo de

inmunoreactividad a PRAME; sin embargo, fueron considerados negativos el 100% (24/24) (Figura 5). Estos casos inmunoreactivos mostraban una distribución aleatoria de la inmunorreacción con variación intralesional de la intensidad. Nueve mostraron una expresión de +1 y solo 1 caso de nevo de Spitz mostro expresión de +2.

## 5. DISCUSIÓN.

Las lesiones melanocíticas acrales, especialmente el melanoma acral (MA), son relativamente poco comunes en la población mundial, sin embargo, es el subtipo mas común de melanoma en la población mexicana.<sup>3</sup> La morfología y la arquitectura de las lesiones melanocíticas sigue siendo el estándar de oro para el diagnóstico de melanoma. Sin embargo, en los últimos años, se han realizado muchos esfuerzos para facilitar el diagnóstico de melanoma con herramientas objetivas y reproducibles. Las pruebas citogenéticas moleculares como la Hibridación *in situ* (FISH) o Hibridación genómica comparativa (CGH) son técnicas de escaneo de todo el genoma que permiten visualizar regiones específicas del genoma en búsqueda de alteraciones; estas técnicas, a pesar de su efectividad<sup>14,15</sup>, son costosas, requieren experiencia específica y no se pueden adoptar de forma rutinaria en todos los laboratorios de patología y dermatopatología. Adicionalmente, muchos de estos melanomas en etapas iniciales, son lesiones con pocas células, por lo que no proporcionan resultados fiables debido a la baja proporción de células neoplásicas.

Desde que Lezcano *et al*<sup>11</sup> en 2018 demostraron por primera vez que PRAME era un marcador expresado diferencialmente en lesiones melanocíticas, PRAME se ha mostrado cada vez más

prometedor y su popularidad entre dermatopatólogos ha aumentado tanto en entornos clínicos como de investigación. PRAME se ha estudiado en varios subtipos de melanomas y se ha encontrado que es valioso para distinguir melanomas de neoplasias melanocíticas benignas. A nuestro conocimiento, este es el primer estudio de evaluación de la expresión de PRAME en lesiones melanocíticas acrales en la población mexicana. Se seleccionaron muestras representativas de cada lesión melanocítica acral y adicionalmente se seleccionaron lesiones melanocíticas ambiguas con poca celularidad pero que clínicamente eran altamente sugestivas de melanoma.

Observamos que el umbral para definir tinción difusa 75% establecido por Lezcano *et al*<sup>11</sup> fue adecuado para nuestro estudio, sin embargo, si hubiéramos disminuido el umbral a 60% como Raghavan<sup>16</sup> y McBride<sup>17</sup>, nuestra sensibilidad y especificidad para melanoma acral hubiera aumentado. Estas diferencias en los umbrales pueden atribuirse a variaciones en la metodología de tinción y limitaciones de confiabilidad entre observadores en el diagnóstico y evaluación inmunohistoquímica.

En total, se incluyeron 47 casos de lesiones melanocíticas. PRAME tuvo una expresión difusa (4+) en 84.2% (16/19) de los melanomas invasores y en el 100% (4/4) de los melanomas *in situ*; dentro de los los tres casos de melanoma invasor que no mostraron expresión difusa, dos tuvieron expresión de PRAME 3+. En contraste, la expresión considerada negativa se encontró en el 100% (24/24) de los nevos melanocíticos. De estos 24 nevos melanocíticos, 41.6% (10/24) mostraron algún tipo de inmunoreactividad a PRAME (tres casos con expresión +1 [nevos melanocíticos compuestos] y un caso con expresión +2 [nevo compuesto de Spitz]). Estos hallazgos son consistentes con lo observado por Lezcano *et al*<sup>11</sup>, donde se encontró expresión difusa (4+) en el 91% (10/11) de melanomas invasores acrales y en el 100% (7/7) de melanomas

acrales *in situ*. Los nevos melanocíticos de esa cohorte se reportaron con expresión considerada negativa de PRAME en 144 de 145 casos (99.3%), desafortunadamente no especificaron la topografía. McBride *et al*<sup>17</sup> también encontraron una expresión concordante de PRAME, donde el 100% (10/10) de melanomas acrales tuvieron expresión difusa y el 100% (20/20) de nevos melanocitos (n=11), nevo displasicos (n=2) y nevos de Spitz (n=7) fueron considerados con expresión negativa. Cuatro de estos 20 nevos melanocitos tuvieron expresión de PRAME de 1+.

Observamos que PRAME exhibió una tasa positiva más baja en células tumorales fusiformes que en células tumorales epitelioides. Hay que destacar que nuestro único caso de melanoma que mostro 0+ de expresión tenía morfología epitelioides y fusiforme. Esta diferencia de expresión se ha descrito anteriormente en melanomas desmoplasicos y fusiformes.<sup>11,18</sup>

En nuestro conocimiento, el estudio mas grande de lesiones melanocíticas acrales fue realizado por Santandrea *et al*<sup>19</sup>, donde analizaron la expresión de PRAME en 70 melanomas acrales (cutáneos y ungueales) y 57 lesiones melanocíticas benignas (nevos melanocíticos convencionales, nevo azul, nevo de Reed y nevo de Spitz). La expresión difusa de PRAME en melanomas invasores fue de 87.9% (29/33) y de 81.1% (30/37) en melanomas *in situ*. Las lesiones melanocíticas benignas fueron consideradas PRAME negativas en 82.5 % (47/57); de estos casos, siete nevos de Spitz mostraron expresión difusa a PRAME. Nuestros hallazgos en nevos acrales de Spitz (PRAME negativos 100% [4/4]) fueron concordantes con lo descrito previamente por McBride<sup>17</sup>, con expresión negativa. Sin embargo, las lesiones spitzoides son las que mas irregularidades han mostrado de expresión de PRAME en la literatura previa.<sup>16,19</sup>

Otros estudios han mostrado menor concordancia en la expresión de PRAME en melanomas acrales. Hu *et al*<sup>18</sup> estudiaron 75 melanomas acrales y 34 nevos melanocitos acrales, reportaron que el 65% (49/75) de los casos de melanoma acral tenían expresión PRAME 4+, mientras que el 11% (8/75) tenía expresión negativa PRAME. Por el contrario, el 94% (32/34) de los nevos melanocíticos no mostraron expresión de PRAME, los únicos dos casos demostraron expresión de PRAME focalmente positiva 1+.

El MA representa un desafío diagnóstico, principalmente en sus etapas iniciales, ya que sus características histológicas muchas veces son sutiles en contraste con su apariencia clínica. De hecho, incluso si los hallazgos clínicos son sugestivos de melanoma, histológicamente pueden mostrar una atipia morfológica sutil y, a menudo, son lesiones con pocas células neoplásicas, que a menudo se limitan a melanocitos atípicos únicos dispersos. Tres casos catalogados como melanoma *in situ* de nuestra cohorte eran clínicamente atípicos, pero histológicamente muy sutiles, pobres en células y con atipia citológica leve; el análisis inmunohistoquímico reveló que el 100% (3/3) mostró expresión de PRAME difusa. Estos hallazgos son similares a los previamente reportados por Santandrea *et al*<sup>19</sup>, que obtuvieron una expresión difusa en 81.1% (30/37) de los melanomas *in situ*. De igual manera, Raghavan *et al*<sup>16</sup>, reportaron 4 lesiones melanocíticas indeterminadas que resultaron PRAME negativas y esto correlacionó con la ausencia de anormalidades clínicas y moleculares sugestivas de melanoma.

Podemos asumir que, si morfológicamente la sospecha diagnóstica es de una lesión melanocítica benigna, podría descartarse una eventual baja inmunorreactividad a PRAME, pero una inmunorreactividad difusa a PRAME debe incitar a reconsiderar el caso y, posiblemente,

reconsiderar el diagnóstico. Al contrario, en casos de lesiones melanocíticas clínicamente sugestivas de melanoma, pero histológicamente sutiles, la inmunorreactividad difusa de PRAME favorecería el diagnóstico de malignidad mientras que su negatividad tendría poco significado.

## **6.CONCLUSIÓN**

En conclusión, podemos inferir que PRAME es una herramienta complementaria útil en el diagnóstico de lesiones melanocíticas acrales y esta en relación con lo descrito previamente en la literatura. El análisis en H&E sigue siendo el estándar de oro, sin embargo, PRAME potencialmente podría ser un estudio auxiliar previo a estudios moleculares o ante la imposibilidad de realizarlos. Es necesaria la evaluación de la expresión de PRAME en una cohorte más grande de casos para confirmar la aplicabilidad de estos hallazgos.

## REFERENCIAS

1. Haupt HM, Stern JB. Pagetoid melanocytosis. Histologic features in benign and malignant lesions. *Am J Surg Pathol*. 1995;19(7):792-797. doi:10.1097/00000478-199507000-00007
2. Lino-Silva LS, Domínguez-Rodríguez JA, Aguilar-Romero JM, et al. Melanoma in Mexico: Clinicopathologic Features in a Population with Predominance of Acral Lentiginous Subtype. *Ann Surg Oncol*. 2016;23(13):4189-4194. doi:10.1245/s10434-016-5394-x
3. Káram-Orantes M, Toussaint-Caire S, Domínguez-Cherit J, Veja-Memije E. [Clinical and histopathological characteristics of malignant melanoma cases seen at “Dr. Manuel Gea González” General Hospital]. *Gac Med Mex*. 2008;144(3):219-223.
4. Hayward NK, Wilmott JS, Waddell N, et al. Whole-genome landscapes of major melanoma subtypes. *Nature*. 2017;545(7653):175-180. doi:10.1038/nature22071
5. Liang WS, Hendricks W, Kiefer J, et al. Integrated genomic analyses reveal frequent TERT aberrations in acral melanoma. *Genome Res*. 2017;27(4):524-532. doi:10.1101/gr.213348.116
6. Kong Y, Sheng X, Wu X, et al. Frequent Genetic Aberrations in the CDK4 Pathway in Acral Melanoma Indicate the Potential for CDK4/6 Inhibitors in Targeted Therapy. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2017;23(22):6946-6957. doi:10.1158/1078-0432.CCR-17-0070
7. Basurto-Lozada P, Molina-Aguilar C, Castaneda-Garcia C, et al. Acral lentiginous melanoma: Basic facts, biological characteristics and research perspectives of an understudied disease. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2021;34(1):59-71. doi:10.1111/pcmr.12885
8. Ikeda H, Lethé B, Lehmann F, 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. doi:10.1016/s1074-7613(00)80426-4
9. Goodison S, Urquidi V. The cancer testis antigen PRAME as a biomarker for solid tumor cancer management. *Biomark Med*. 2012;6(5):629-632. doi:10.2217/bmm.12.65
10. Wadelin F, Fulton J, McEwan PA, Spriggs KA, Emsley J, Heery DM. Leucine-rich repeat protein PRAME: expression, potential functions and clinical implications for leukaemia. *Mol Cancer*. 2010;9:226. doi:10.1186/1476-4598-9-226
11. Lezcano C, Jungbluth AA, Nehal KS, Hollmann TJ, Busam KJ. PRAME Expression in Melanocytic Tumors. *Am J Surg Pathol*. 2018;42(11):1456-1465. doi:10.1097/PAS.0000000000001134
12. Gradecki SE, Slingluff CL, Gru AA. PRAME expression in 155 cases of metastatic melanoma. *J Cutan Pathol*. 2021;48(4):479-485. doi:10.1111/cup.13876
13. Lezcano C, Jungbluth AA, Busam KJ. Comparison of Immunohistochemistry for PRAME With Cytogenetic Test Results in the Evaluation of Challenging Melanocytic Tumors. *Am J Surg Pathol*. 2020;44(7):893-900. doi:10.1097/PAS.0000000000001492



14. Bauer J, Bastian BC. Distinguishing melanocytic nevi from melanoma by DNA copy number changes: comparative genomic hybridization as a research and diagnostic tool. *Dermatol Ther.* 2006;19(1):40-49. doi:10.1111/j.1529-8019.2005.00055.x
15. Gerami P, Li G, Pouryazdanparast P, et al. A Highly Specific and Discriminatory FISH Assay for Distinguishing Between Benign and Malignant Melanocytic Neoplasms. *Am J Surg Pathol.* 2012;36(6):808-817. doi:10.1097/PAS.0b013e31824b1efd
16. Raghavan SS, Wang JY, Kwok S, Rieger KE, Novoa RA, Brown RA. PRAME expression in melanocytic proliferations with intermediate histopathologic or spitzoid features. *J Cutan Pathol.* 2020;47(12):1123-1131. doi:10.1111/cup.13818
17. McBride JD, McAfee JL, Piliang M, et al. Preferentially expressed antigen in melanoma and p16 expression in acral melanocytic neoplasms. *J Cutan Pathol.* 2022;49(3):220-230. doi:10.1111/cup.14130
18. Hu J, Cai X, Lv JJ, et al. Preferentially expressed antigen in melanoma immunohistochemistry as an adjunct for differential diagnosis in acral lentiginous melanoma and acral nevi. *Hum Pathol.* 2022;120:9-17. doi:10.1016/j.humpath.2021.11.002
19. Santandrea G, Valli R, Zanetti E, et al. Comparative Analysis of PRAME Expression in 127 Acral and Nail Melanocytic Lesions. *Am J Surg Pathol.* 2022;46(5):579-590. doi:10.1097/PAS.0000000000001878

## 5. TABLAS Y FIGURAS.

**Tabla 1.** Características clínico-patológicas de todos los casos (n=47).

Características clínico-patológicas	Todos los casos (n=47)	Nevos melanocíticos (n=24)	Melanoma acral cutáneo (n=13)	Melanoma ungueal (n=10)
<b>Edad al diagnóstico (años)</b>				
Promedio	50.1	35.1	65.5	66.3
Mediana (rango)	54 (1-90)	31 (1-87)	61 (49-86)	62 (52-90)
<11, n (%)	3 (6.4)	3 (12.6)	0 (0)	0 (0)
11-20, n (%)	2 (4.3)	2 (8.3)	0 (0)	0 (0)
21-30, n (%)	7 (12.8)	7 (29.1)	0 (0)	0 (0)
31-40, n (%)	1 (2.1)	1 (4.2)	0 (0)	0 (0)
41-50, n (%)	6 (12.7)	5 (20.8)	1 (7.6)	0 (0)
51-60, n (%)	12 (27.6)	4 (16.7)	5 (38.4)	3 (30)
>61, n (%)	16 (34.1)	2 (8.3)	7 (54)	7 (70)
<b>Sexo, n (%)</b>				
Masculino	19 (40.4)	7 (29.2)	7 (54)	5 (50)
Femenino	28 (59.6)	17 (70.8)	6 (46)	5 (50)
<b>Topografía</b>				
Plantar/Pie	29 (61.8)	18 (75)	11 (84.7)	0 (0)
Palmar/Mano	6 (12.7)	4 (16.7)	2 (15.3)	0 (0)
Subungueal	12 (25.5)	2 (8.3)	0 (0)	10 (100)
<b>Tipo de biopsia</b>				
Incisional	24 (51)	18 (75)	12 (92)	6 (60)
Excisional o amputación	23 (49)	6 (25)	1 (8)	4 (40)

**Tabla 2.** Características clínico-patológicas de los casos de melanoma (n=23).

	Melanoma acral cutáneo <i>in situ</i> (n=1)	Melanoma acral cutáneo invasor (n=12)	Melanoma ungueal <i>in situ</i> (n=3)	Melanoma ungueal invasor (n=7)
<b>Ulceración, n(%)</b>				
Presente	0 (0)	8 (66.7)	0 (0)	3 (42.8)
Ausente	1 (100)	4 (33.3)	3 (100)	4 (57.2)
<b>Breslow, mm</b>				
Promedio	-	3.37	-	2.47
Mediana	-	3.10	-	2.30
Rango	-	1.52-5.5	-	0.45-7
<b>Depósito de pigmento</b>				
Escaso				
Moderado	1 (100)	7 (58.3)	3 (100)	2 (28.6)
Intenso	0 (0)	2 (16.7)	0 (0)	2 (28.6)
	0 (0)	3 (25)	0 (0)	3 (42.8)
<b>Nivel de Clark</b>				
	0 (0)	1 (8.3)	0 (0)	1 (14.2)

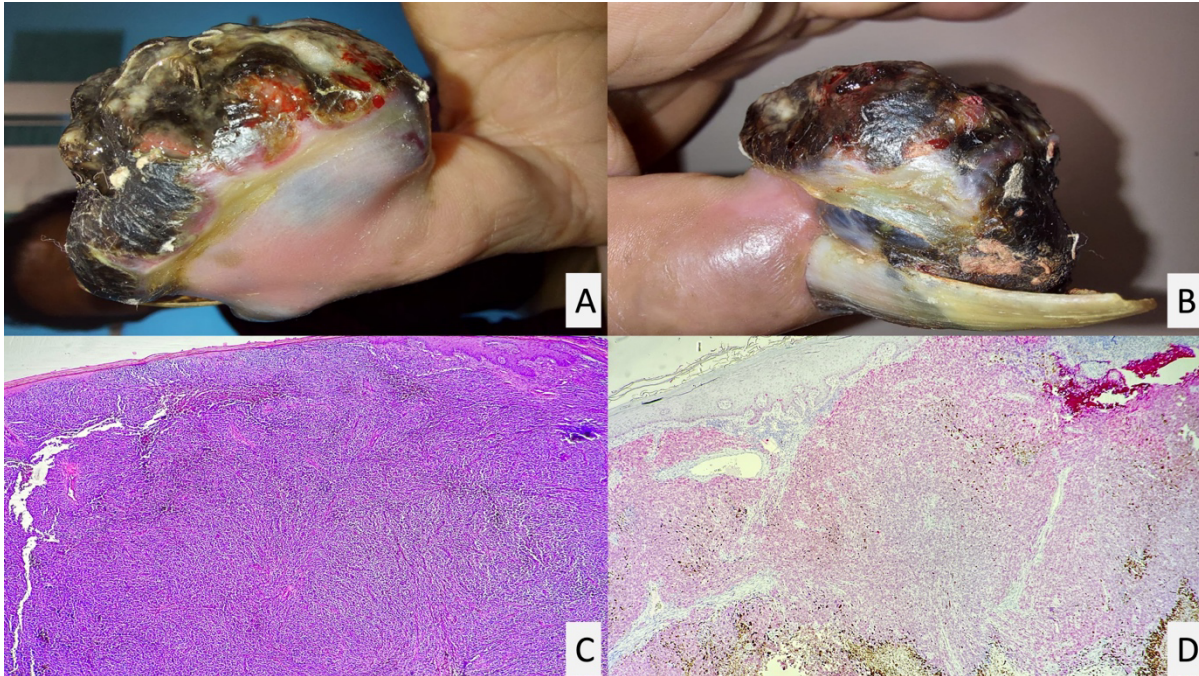
V	0 (0)	11 (91.7)	0 (0)	2 (28.5)
IV	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (42.9)
III	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (14.2)
II	1 (100)	0 (0)	1 (100)	0 (0)
I				
<b>Celularidad</b>				
Epitelioide	1 (100)	7 (58.3)	3 (100)	5 (85.7)
Epitelioide y fusiforme	0 (0)	5 (41.7)	0 (0)	2 (14.3)
<b>Conteo mitosis, /mm<sup>2</sup></b>				
Promedio	1	4.1	1.3	7
Mediana	1	2.5	1	5
Rango	1	1-11	1-2	1-15

**Tabla 3.** Resumen de la expresión de PRAME difuso en todas las lesiones melanocíticas (n=47).

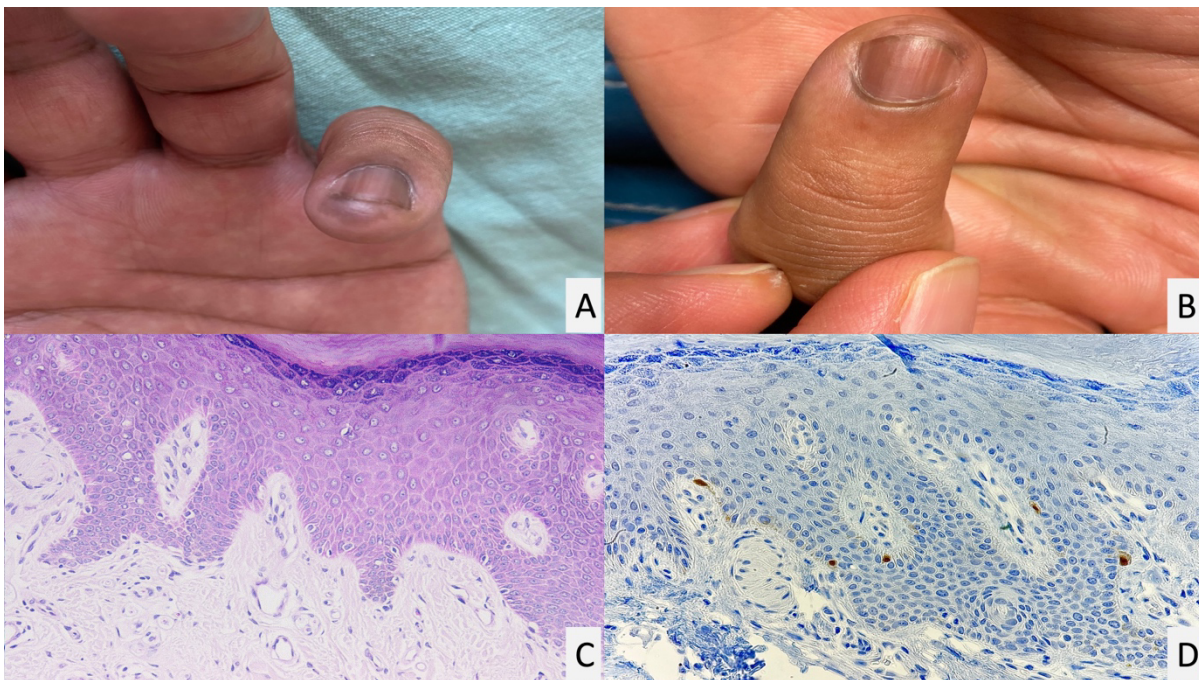
<b>Diagnostico</b>	<b>PRAME difuso (%)</b>
<b>Nevo melanocítico de unión</b>	0/5
<b>Nevo melanocítico compuesto</b>	0/12
<b>Nevo melanocítico compuesto de Spitz</b>	0/4
<b>Nevo melanocítico intradérmico</b>	0/3
<b>Melanoma acral cutáneo <i>in situ</i></b>	1/1
<b>Melanoma acral cutáneo invasor</b>	9/12
<b>Melanoma ungueal <i>in situ</i></b>	3/3
<b>Melanoma ungueal invasor</b>	7/7

**Tabla 4.** Expresión de PRAME (n=47).

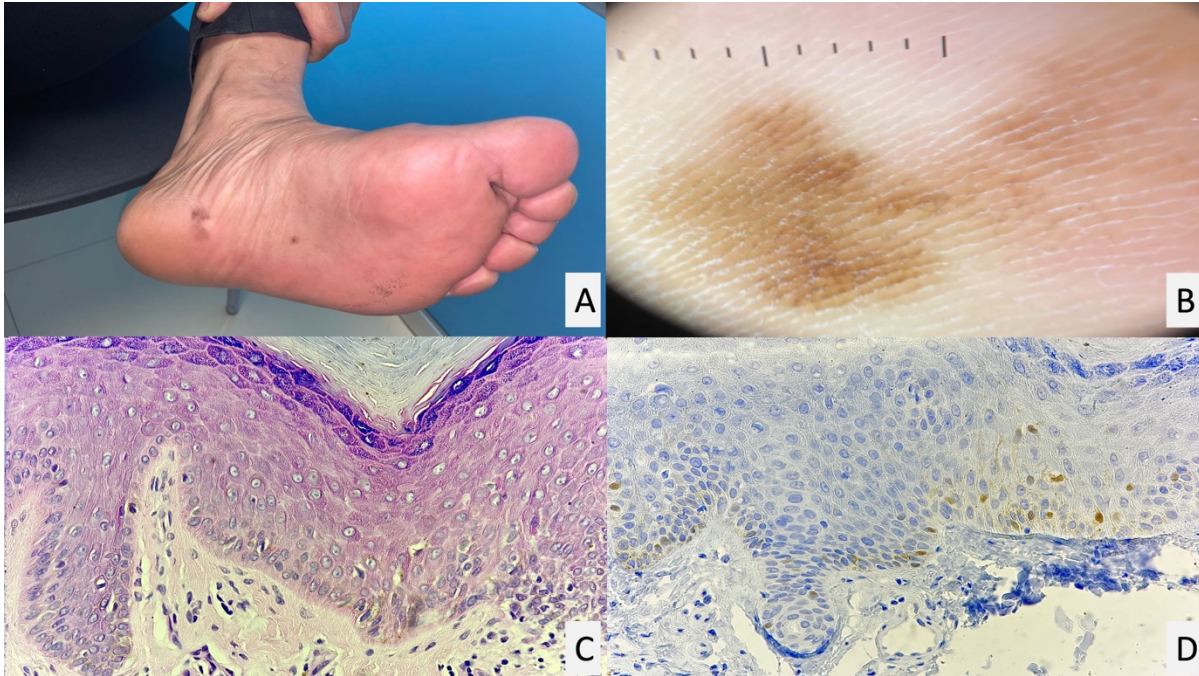
	Todos (n=47)	Nevos melanocíticos (n=20)	Nevos spitzoides (n=4)	Melanoma acral cutáneo <i>In situ</i> (n=1)	Melanoma acral cutáneo invasor (n=12)	Melanoma ungueal <i>In situ</i> (n=3)	Melanoma ungueal Invasor (n=7)
<b>PRAME,n(%)</b>							
Negativo	27 (57.4)	20 (100)	4 (100)	0 (0)	3 (25)	0 (0)	0 (0)
0+ (Sin tinción)	15 (31.9)	11 (55)	3 (75)	0 (0)	1 (8.3)	0 (0)	0 (0)
1+ (1%-25%)	9 (19.1)	9 (45)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
2+ (25%-50%)	1 (2.1)	0 (0)	1 (25)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
3+ (50%-75%)	2 (4.2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (16.7)	0 (0)	0 (0)
Positivo	20 (42.6)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	9 (75)	3 (100)	7 (100)
4+ (75%-100%)	20 (42.6)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	9 (75)	3 (100)	7 (100)



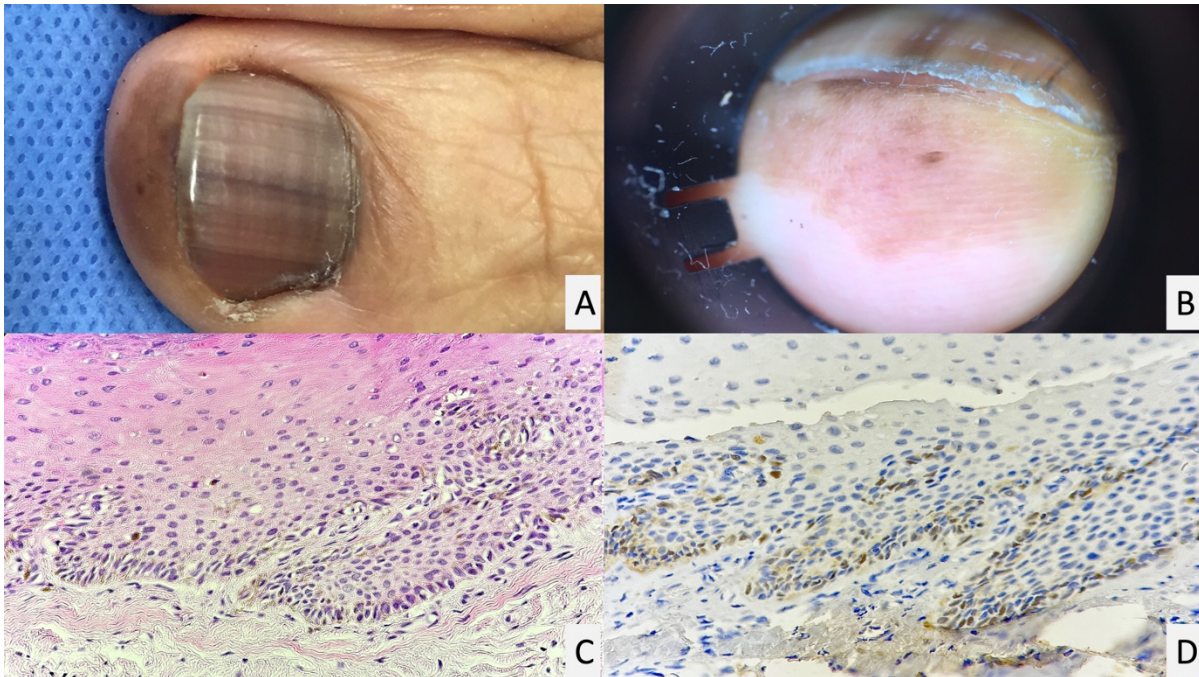
**Figura 1.** Melanoma acral cutáneo invasor gigante en fase de crecimiento vertical. A-B, Lesión melanocítica nodular ulcerada de crecimiento rápido en 6 meses. C, Melanoma nodular invasor de morfología epitelioides, HE 40x. D, PRAME (rosa) difuso en todo el componente neoplásico epidérmico y dérmico, 40x.



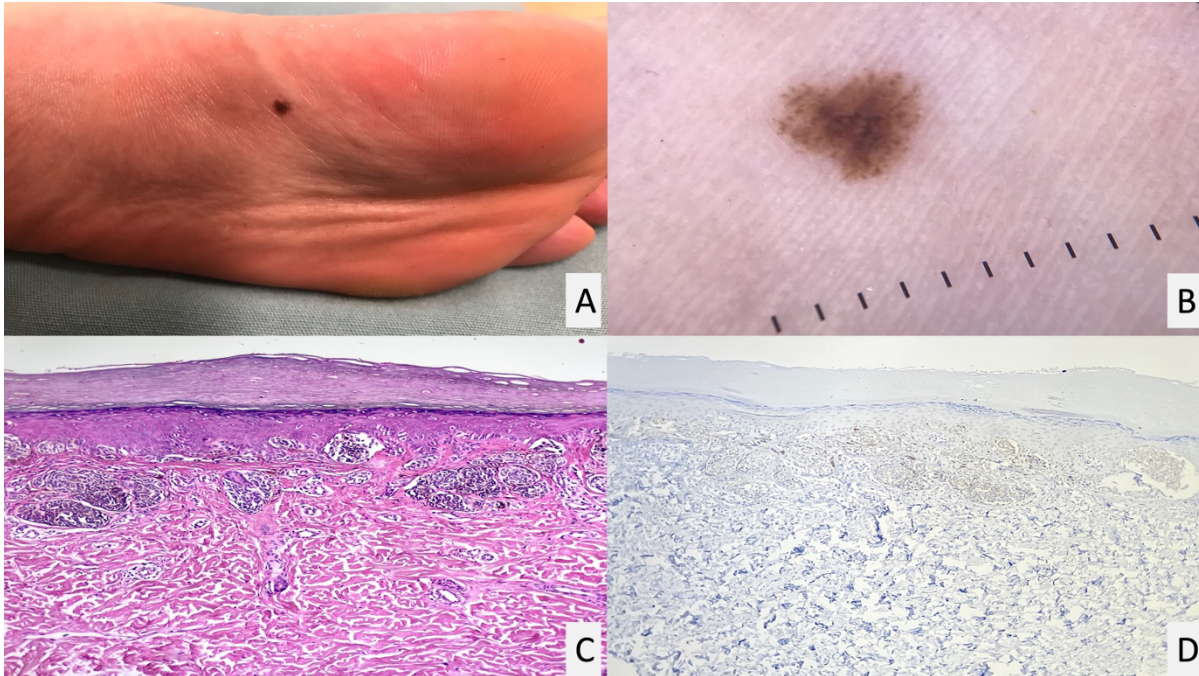
**Figura 2.** Melanoma ungueal *in situ* temprano. A-B, Melanoniquia longitudinal de 8 mm ancho con extensión a pliegue proximal e hiponiquio. C, Proliferación individual pobre en células de melanocitos atípicos dendríticos, HE x100. D, PRAME (café) positivo en los melanocitos atípicos presentes, x200.



**Figura 3.** Melanoma acral cutáneo *in situ* temprano. A-B, Macula pigmentada asimétrica color café oscuro. C, La tinción de H&E muestra una proliferación individual escasa de melanocitos atípicos con migración pagetoide focal, x40. B, Expresión difusa de PRAME(café) en núcleos de melanocitos lesionales, x200.



**Figura 4.** Melanoma ungueal *in situ*. A-B, Paciente de 66 años, con historia de melanoniquia de 15 años de evolución con reciente extensión de pigmentación a piel periungueal. C, La tinción de H&E muestra una proliferación individual de melanocitos atípicos en el estrato basal, x100. B, Expresión difusa de PRAME(café) en núcleos de melanocitos lesionales, x200.



**Figura 5.** Nevo melanocítico acral compuesto. A-B, Macula melanocítica con patrón paralelo al surco y presencia de patrón punteado de la cresta. C, La tinción de H&E muestra nidos de distintos tamaños en la unión dermoepidermica y dermis papilar, x100. D, Expresión PRAME (café) negativa (0+) en los melanocitos, x100.