

# Nevo de Spitz atípico versus melanoma spitzoide: el papel de la hibridación fluorescente in situ en el diagnóstico de lesiones melanocíticas ambiguas

*Atypical Spitz nevus versus spitzoid melanoma: The role of fluorescent in situ hybridization for diagnosing ambiguous melanocytic tumors*

**Catalina Santa-Vélez<sup>1</sup>, Samuel Morales<sup>2</sup>, Tatiana Indira Roncancio<sup>3</sup>,  
Xavier Rueda-Lozada<sup>4</sup>**

1. Fellow de Dermatología Oncológica, Instituto Nacional de Cancerología-Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, D.C., Colombia
2. Dermatopatólogo, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, D.C., Colombia
3. Laboratorio de Genética y Oncología Molecular, Grupo de Patología Oncológica, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, D.C., Colombia
4. Dermatólogo oncólogo, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, D.C., Colombia.

## RESUMEN

Se presenta el caso de una paciente de 33 años de edad, con una lesión spitzoide de reciente aparición y con características atípicas.

A pesar de presentar una arquitectura globalmente simétrica, se observó falta de maduración de los melanocitos hacia la dermis profunda con más de tres mitosis por campo de gran aumento y, en la inmunohistoquímica, se observó un alto índice de proliferación.

A pesar de la dificultad diagnóstica, se consideró como diagnóstico diferencial un melanoma spitzoide y se decidió usar la hibridación fluorescente in situ (fluorescent in situ hybridization, FISH), la cual fue negativa para melanoma.

Se hizo el diagnóstico final de nevo de Spitz atípico teniendo en cuenta el cuadro clínico, la histopatología, la inmunohistoquímica y el resultado de la FISH, el cual se caracteriza por su gran especificidad y sensibilidad pero cuya interpretación aún es difícil.

**PALABRAS CLAVE:** melanoma, hibridación in situ fluorescente, nevo, melanocíticos, inestabilidad cromosómica, hibridación genómica comparativa

## SUMMARY

We present the case of a 33-year old female with a 4-month history of a pigmented spitzoid lesion on her left forearm.

Pathology showed a symmetric spitzoid melanocytic tumor with certain atypical characteristics such as lack of maturation and multiple mitoses.

Considering the differential diagnoses being atypical Spitz nevus versus spitzoid melanoma, fluorescent in situ hybridization (FISH) was performed with a negative result.

Taking into account the clinical picture, the pathology, immunohistoche-

### Correspondencia:

Catalina Santa-Vélez

### Email:

catalinasantavelez@yahoo.com

Recibido: 17/10/17

Aceptado: 23/01/18

### Conflictos de interés:

No se reportan conflictos de interés.

### Financiación:

Ninguna.

mistry and the FISH results a final diagnosis of atypical Spitz nevus was made. FISH technique has a high specificity and sensitivity and it is being used in most skin cancer centers around the world, but its interpretation is still controversial and difficult.

**KEY WORDS:** melanoma, fluorescence in situ hybridization, melanocytic, nevus, chromosomal instability, comparative genomic hybridization

"La incidencia y la mortalidad por el melanoma han estado aumentando desde hace varias décadas. En el 2014, en los Estados Unidos se diagnosticaron 76.100 nuevos casos con 9.710 muertes anticipadas. Hasta el 20 % de los melanomas se diagnostican en estadio IV, lo que afecta directamente la mortalidad."

## CASO CLÍNICO

Se trata de una paciente de 33 años de edad, con un cuadro clínico de cuatro meses de evolución de aparición de una lesión pigmentada de crecimiento progresivo en el antebrazo izquierdo.

La piel de la paciente es de fototipo II y no había antecedentes personales ni familiares de cáncer de piel; presentaba menos de 50 nevos melanocíticos en todo el cuerpo y no tenía historia personal de exposición solar ocupacional o recreacional, ni exposición a cámaras de bronceo.

En el examen clínico se evidenció una pápula hiperpigmentada de color café oscuro, de bordes regulares bien definidos, simétrica y de aspecto homogéneo, de 6 x 6 mm; en la dermatoscopia, se observó una lesión spitzoide con un área sin estructura homogénea central, con pseudópodos y glóbulos periféricos asimétricos (**figura 1a y 1b**).

Se decidió resear la lesión y en la histopatología se observaron hallazgos indicativos de un nevo de Spitz con características atípicas.

A pesar de presentar una arquitectura simétrica global, hacia el centro de la lesión no había maduración de los melanocitos en la dermis profunda y se encontraron frecuentes mitosis profundas (**figura 2**). Se practicó inmunohistoquímica con HMB45 y Ki67, la cual mostró índices de proliferación mayores de los esperados.

Teniendo en cuenta el cuadro clínico, la dermatoscopia y la histopatología en una mujer de 33 años, la lesión se clasificó como una ambigua: nevo de Spitz atípico Vs. melanoma spitzoide. Por lo tanto, se decidió utilizar la técnica molecular de hibridación in situ fluorescente (FISH), que es un complemento diagnóstico en

la evaluación de tumores melanocíticos ambiguos. La técnica fue descrita ampliamente por Gerami, et al. <sup>(1)</sup>.

El resultado de la FISH fue negativo (**figura 3**) y se concluyó que, según esta técnica, no existía inestabilidad cromosómica que apuntara al diagnóstico de melanoma. El diagnóstico final que se sustentó por la historia clínica, la histopatología y la FISH, fue nevo de Spitz atípico y se decidió recomendar la ampliación de la resección con márgenes de 5 mm, a pesar de que la lesión ya había sido reseada completamente y los márgenes de la biopsia por escisión eran negativos. Si el diagnóstico hubiese sido melanoma, la paciente hubiese requerido también ampliación de los márgenes y del ganglio centinela, porque el índice de Breslow habría superado los 0,8 mm <sup>(2)</sup>.

Así, la FISH fue un complemento diagnóstico que tuvo un impacto en la conducta por seguir en este caso: una paciente de 33 años con una lesión melanocítica ambigua tanto a la clínica como a la patología y que, por tanto, representaba un reto diagnóstico. En este caso en particular, la paciente no aceptó la ampliación de los márgenes de resección y se encuentra en seguimiento.

## DISCUSIÓN

La incidencia y la mortalidad por el melanoma han estado aumentando desde hace varias décadas. En el 2014, en los Estados Unidos se diagnosticaron 76.100 nuevos casos con 9.710 muertes anticipadas. Hasta el 20 % de los melanomas se diagnostican en estadio IV, lo que afecta directamente la mortalidad <sup>(3)</sup>.

El diagnóstico precoz de melanoma depende del mé-

todo de detección, lo que puede reducir los costos de tratamiento. El espectro completo de los métodos de detección incluye: enfoques poblacional y de salud pública; detección de cáncer de la piel y autoexamen; y métodos fotográficos, dermatoscópicos, de imagen espectral, de microscopía confocal, de tomografía de coherencia óptica, de ultrasonido de impedancia eléctrica y los moleculares<sup>(3)</sup>.

El diagnóstico histopatológico de las proliferaciones melanocíticas es todo un reto; no existe un método de referencia para el diagnóstico preciso y definitivo de las lesiones melanocíticas como enteramente benignas o malignas, y un número inaceptable de casos no tienen un diagnóstico confiable reproducible<sup>(4)</sup>.

En 1992, se introdujo la técnica de hibridación genómica comparativa (Comparative Genomic Hybridization, CGH), en la cual se evaluó el genoma completo del tumor comparado con tejido normal<sup>(5)</sup>. Se ha reportado que la mayoría de los nevos melanocíticos benignos tienen mutaciones puntuales en oncogenes, pero raramente presentan anomalías cromosómicas serias como sí ocurre en el melanoma<sup>(6)</sup>.

En el 2003, Bastien, et al., analizaron 132 melanomas y 54 nevos melanocíticos benignos con hibridación genómica comparativa, y encontraron que el 96 % de los melanomas presentaba alguna aberración en el número de copias de cromosomas, lo cual era raro en los nevos melanocíticos benignos<sup>(6)</sup>. También, se encontró un patrón de alteraciones cromosómicas diferente entre las proliferaciones nodulares de los nevos congénitos y el melanoma que aparece en los nevos congénitos.

En este estudio, se observó que el 60 % de las proliferaciones nodulares presentaba pérdida completa de cualquiera de los cromosomas 9, 10 o 7, mientras que la gran mayoría de los melanomas presentaban pérdidas o ganancias cromosómicas parciales.

Estos hallazgos demostraron que los mecanismos básicos de inestabilidad genómica en los distintos tipos de tumores, puede ser diferente. Los melanomas que tienen ganancias o pérdidas de fragmentos cromosómicos, han llegado a un estado de 'crisis', en la cual hay fusión de cromátides y rotura desigual durante la mitosis, mientras que la pérdida o ganancia de cromosomas completos puede resultar de defectos en el proceso de segregación cromosómica<sup>(4)</sup>.

La técnica FISH ofrece la posibilidad de usar tejido preservado en parafina, a un costo accesible y se ha convertido en el método de elección para evaluar anomalías cromosómicas<sup>(4)</sup>. La FISH es un método que busca aberraciones en el número de copias cromosómicas. Fragmentos pequeños de ADN marcados con un

fluorocromo (sondas de FISH) se hibridan con el tejido tumoral de interés.

Debido a que los espectros de longitud de onda de los fluorocromos se superponen, solo es posible hibridar cuatro sondas a la vez en un mismo ensayo, por lo tanto, solo se evalúan cuatro blancos, a diferencia de los estudios de hibridación genómica comparativa. Normalmente, en los núcleos diploides se observan dos señales de cada sonda correspondientes a los loci homólogos. Si se observan más o menos señales sería por ganancias o pérdidas cromosómicas.

Sin embargo, hay que tener en cuenta que al seccionar el tejido es posible observar planos con pérdidas de señales o núcleos que se superponen en el mismo plano. Esto ocasiona aumento en el número de señales que puede llevar, en el primer caso, a falsos negativos, y en el segundo, a falsos positivos; por esta razón, la interpretación requiere de personal capacitado con años de experiencia<sup>(7)</sup>. También se necesita que el porcentaje de células en las que se evidencia ganancia o pérdida cromosómica se valide, ya que distintos puntos de corte van a mostrar distintos valores de especificidad y sensibilidad<sup>(4)</sup>.

En los estuches comerciales disponibles en el país, se emplean cuatro sondas que permiten evaluar 4 de las 13 regiones de los 8 cromosomas que mejor permiten diferenciar el melanoma del nevo melanocítico benigno.

**"El diagnóstico histopatológico de las proliferaciones melanocíticas es todo un reto; no existe un método de referencia para el diagnóstico preciso y definitivo de las lesiones melanocíticas como enteramente benignas o malignas, y un número inaceptable de casos no tienen un diagnóstico confiable reproducible."**

La escogencia de las cuatro sondas del kit de FISH usado en este caso, comenzó con la experiencia previamente reportada por Bastien, et al. Ellos encontraron 13 regiones en 8 cromosomas (1, 6, 7, 9, 10, 11, 17, 20), las cuales, en combinación, tenían el mejor poder discriminatorio entre melanoma y nevos melanocíticos benignos. Si un locus cromosómico constantemente mostraba ganancia, se buscaba un oncogén en esa región como blanco para la sonda de la FISH, o si por el contrario consistentemente mostraba pérdida, se buscaba un gen supresor de tumor para seleccionarlo como blanco.

Gerami, et al., probaron las diferentes sondas y el gen KIT en el cromosoma 4, el cual se adicionó por el posible potencial terapéutico, en 97 melanomas y 95 nevos melanocíticos benignos, y encontraron que los siguientes cuatro genes tenían el mejor poder discriminatorio entre estos dos diagnósticos: proteína de unión al elemento sensible de ras (RREB1, 6p25), gen homólogo al oncogén viral de mieloblastosis v-myb (MYB, 6q23), centrómero 6 (CEN 6) y ciclina D1 (CCND1, 11q13). Luego usaron el panel con las cuatro sondas en la segunda cohorte de 58 melanomas y 51 nevos en la Universidad de California en San Francisco, para establecer los puntos de corte con la mejor sensibilidad y especificidad, y se estructuraron los criterios que ya se han descrito<sup>(1)</sup>. Los puntos de corte se validaron en la tercera cohorte de 83 melanomas y 86 nevos melanocíticos de la Universidad Northwestern en Chicago, con sensibilidad de 86,7 % y especificidad de 95,4 %<sup>(1)</sup>.

La sensibilidad y la especificidad parecen variar según el tipo de melanoma; por ejemplo, la técnica FISH puede ser negativa en el 50 % de los melanomas desmoplásicos, y positiva, en el 90 % de los melanomas nodulares<sup>(1)</sup>.

El kit utilizado en este caso contiene las cuatro sondas ya mencionadas para los genes RREB1 6p25, MYB 6q23, CEN 6 y CCND1 11q13, y se usaron los puntos de corte propuestos y descritos por Gerami, et al.<sup>(1)</sup>.

En varias series de casos se ha validado el kit de estas cuatro sondas. Moore y Gasparini revisaron 500 lesiones que incluían 157 nevos, 176 nevos displásicos y 167 melanomas, e identificaron anomalías genéticas en 83,8 % de los melanomas, 1,9 % de los nevos melanocíticos sin atipia, y 6,3, 6,7 y 10,3 % de los nevos con atipia leve, moderada y grave, respectivamente<sup>(8)</sup>. Requena, et al., publicaron un estudio en el cual practicaron la FISH en 12 melanomas spitzoides y 6 nevos de Spitz, y encontraron 100 % de sensibilidad y de especificidad, teniendo en cuenta los criterios descritos por Gerami<sup>(9)</sup>. Song, et al., hicieron una revisión bibliográfica de las series de casos que han reportado sen-

sibilidad y especificidad para la técnica FISH para el diagnóstico de melanoma, y la gran mayoría reportaba sensibilidades por encima del 80 % y especificidades por encima del 90 %<sup>(10)</sup>.

Así, se ha demostrado la alta sensibilidad y especificidad para la técnica FISH en casos de melanoma convencional y nevos melanocíticos benignos. También, se ha usado para distinguir entre nevo azul y metástasis de tipo nevo azul, nevo mitóticamente activo y melanoma nevoide, nevo displásico, melanoma de extensión superficial, microestadificación de melanoma, nevo ganglionar Vs. metástasis de melanoma, el diagnóstico de melanoma del aparato ungular; no obstante, en estos estudios se compararon lesiones benignas y malignas inequívocas<sup>(7,11-14,15)</sup>.

Pero, ¿cuál es el papel de la FISH en las lesiones pigmentadas ambiguas?

Esta técnica es difícil de evaluar en los casos de lesiones ambiguas, ya que no existe una prueba de referencia para las lesiones melanocíticas malignas. Ni siquiera el seguimiento o su capacidad de producir metástasis o muerte relacionada con el tumor son válidos, ya que muchos melanomas no ambiguos nunca dan metástasis ni son letales aunque tengan la capacidad de hacerlo, y hay nevos melanocíticos que pueden dar lugar a nevos ganglionares. Hay autores que, incluso, proponen el término de ‘melanocitomas’ para estos tumores con potencial maligno restringido a las metástasis ganglionares<sup>(1,16)</sup>.

Por esto, a pesar de que es en estas lesiones ambiguas en las que se justifica su aplicación, no es posible establecer los puntos de corte y las sensibilidades y las especificidades precisas por la misma razón<sup>(16)</sup>. Sin embargo, se han hecho varios estudios y diseños para evaluar la correlación entre la histopatología, el diagnóstico definitivo y la FISH (**tabla 1**).

En la mayoría de estos estudios, se concluyen que la técnica FISH aporta como una herramienta en el diagnóstico de melanoma y que, en conjunto con el examen histopatológico, mejoran la especificidad y la sensibilidad, y pueden causar un impacto en el resultado del enfoque de los pacientes<sup>(17)</sup>.

Se están investigando otras sondas para el diagnóstico del melanoma y también para el pronóstico<sup>(23)</sup>. Fang, et al., buscaron establecer una relación entre estas sondas de FISH y la positividad en el ganglio centinela en pacientes con melanoma, pero no se encontró una relación estadísticamente significativa<sup>(24)</sup>. Han aparecido otras herramientas de perfil de expresión génica para el diagnóstico de casos problemáticos<sup>(25,26)</sup>.

Gerami, et al., según su experiencia, proponen interpretar los resultados de la siguiente manera; usan la

ESTUDIOS SELECCIONADOS EN LOS QUE SE INCLUYERON LESIONES MELANOCÍTTICAS AMBIGUAS A LAS CUALES SE LES PRACTICÓ FISH Y SU PAPEL EN EL DIAGNÓSTICO

AUTOR	CENTRO	DISEÑO	HALLAZGOS
North (18)	Universidad de California en San Francisco	Se describe la experiencia de la evaluación por FISH como parte del algoritmo diagnóstico de rutina de lesiones ambiguas.	Es el registro con el mayor número de lesiones melanocíticas ambiguas y FISH. Se incluyeron 804 casos, la principal categoría fue de lesiones spitzoides (47 %) pero, también, se incluyeron otras categorías para diferenciar el melanoma de nevos combinados (7 %), nevos mucosos o distales (acral) (9 %), nevo de Clark (7 %), nevo azul (6 %) o posible melanoma nevoide (4 %). En 88 % de los tumores se logró un diagnóstico más definitivo después de la técnica FISH. La FISH fue negativa en 630 casos y, de estos, el diagnóstico final fue benigno en 78 %, ambiguo en 14 % y maligno en 8 %. La técnica FISH fue positiva en 124 de los casos y, en 94 % de estos, se diagnosticó melanoma, 1 % siguió ambiguo y 5 % fueron interpretados como nevos melanocíticos a pesar de una FISH positiva. En este estudio se hizo un análisis por subgrupos y se encontraron resultados diferentes según el tipo de melanoma, lo que refleja la heterogeneidad genómica que caracteriza esta neoplasia.
Tetzlaff (19)	MD Anderson Cancer Center	Se recolectaron 34 lesiones melanocíticas ambiguas que fueron evaluadas por siete dermatopatólogos quienes diagnosticaron consensualmente cada una de las lesiones y, además, las clasificaron en dos grupos: "se favorece benigno", "se favorece maligno". Se correlacionó el diagnóstico hecho por consenso de patólogos en el diagnóstico final, teniendo en cuenta la histopatología, el inmunofenotipo y la técnica FISH.	La técnica FISH fue positiva en 3/24 lesiones del grupo "se favorece benigno" y en 5/10 de las lesiones "se favorece maligno". Compararon el diagnóstico final teniendo en cuenta la histopatología, el inmunofenotipo y la técnica FISH con el diagnóstico de consenso inicial y en ninguno de los casos cambió el diagnóstico inicial. Así, en esta serie la sensibilidad de la técnica FISH para melanoma fue de 50 % y la especificidad fue de 87,5 % (19). Veinticinco casos tuvieron seguimiento (17 benignos y 8 malignos). En los benignos, no hubo metástasis (media de 8 a 25 meses), y en los malignos, hubo un caso de metástasis y muerte por un melanoma con con FISH negativa (19).
Mudhar (20)	Royal Hallamshire Hospital, Sheffield Children's NHS Foundation Trust, University of Sheffield	Se analizaron con FISH retrospectivamente 18 lesiones melanocíticas inequívocas y, prospectivamente, 7 lesiones melanocíticas ambiguas con FISH.	Incluyeron 18 casos retrospectivos de lesiones melanocíticas inequívocas como controles para la FISH, con una correlación completa con el diagnóstico histopatológico. Luego de verificar los controles, se practicó FISH en 7 casos prospectivos con lesiones ambiguas. De estos 7 casos, en 5 la FISH fue positiva y se clasificaron como melanomas in situ, uno fue negativo y el otro tetraploide, por lo que los clasificaron como nevos melanocíticos, encontrando que la técnica FISH era útil en proliferaciones melanocíticas atípicas de las conjuntivas (20).
Busam (21)	Memorial Sloan Kettering Cancer Center	Estudio retrospectivo de 10 casos inequívocos de melanoma y nevos melanocíticos de conjuntiva, a los cuales se les practicó FISH, y dos casos prospectivos, problemáticos, analizados y resueltos con FISH.	De las lesiones inequívocas: 4 nevos melanocíticos de los cuales ninguno cumplió criterios de aberraciones cromosómicas con resultado negativo con la técnica FISH para melanoma y 6 melanomas de conjuntiva de los cuales todos cumplían criterios de FISH positivos. La técnica FISH fue útil para el diagnóstico de dos melanomas de conjuntiva cuya histología no fue conclusiva por problemas de fragmentación, corte e inflamación (21).
Vergier (17)	Multicéntrico Instituciones europeas: Bordeaux Université, Centre Léon Bérard Lyon, Medical University of Graz (Austria), University of Florence (Italy), Helios Hospital Wuppertal (Germany), Russian Cancer Research Centre (Moscow), Hospital Tarnier (Paris), Hospital Saint André (Bordeaux)	Se evaluó la contribución de la técnica FISH en 43 melanomas y nevos inequívocos y luego en 113 tumores melanocíticos ambiguos. Se incluyeron dos grupos de tumores ambiguos: los pacientes sin recurrencia (5 años de seguimiento) y los pacientes con metástasis. El examen histopatológico triple ciego independiente se realizó para clasificar los tumores como 'favorece benigno' o "favorece maligno"	En los 43 melanomas y nevos inequívocos, la sensibilidad del FISH fue del 85% y la especificidad del 90%. Noventa de 95 tumores melanocíticos ambiguos incluidos se pudieron interpretar con la técnica FISH (67 FISH negativos con la técnica y 23 fueron positivos). De los 90 pacientes, 69 no presentaron recurrencia y 21 presentaron metástasis. Estos tumores ambiguos eran sobre todo tumores spitzoides (45/90). A los patólogos se les solicitó clasificar estos tumores en una de las siguientes categorías: 'favorece benigno' (49/90) y 'favorece maligno' (32/90), mientras que nueve casos tenían un diagnóstico discordante. En comparación con el resultado, la sensibilidad y la especificidad de la opinión histopatológica fue del 95 % sensible y el 52 % específica y para la técnica FISH en comparación con el resultado, la sensibilidad fue de 43 % y especificidad de 80 %. Comparado con el examen histopatológico, la sensibilidad y la especificidad de la técnica FISH fue de 34,5 % y 91 %, respectivamente. Curiosamente, al combinar el diagnóstico histopatológico con los resultados de FISH, se optimizó el diagnóstico, especialmente mediante el aumento de la especificidad (76 % en lugar de 52 % para el diagnóstico de expertos) y mejoró la sensibilidad en comparación con la técnica FISH sola (90 Vs. 43 %).
Zembowicz (16)	Harvard Vanguard Medical Associates, Boston, Massachusetts; Lahey Clinic, Burlington, Massachusetts; Tufts Medical Center, Boston; Hospital General of Serres, Serres, Greece; University of Massachusetts Medical School, Worcester, Massachusetts (Dr. Lyle).	Se realizó un estudio prospectivo de correlación histológica y resultados de FISH en 140 casos de lesiones melanocíticas ambiguas.	Veintisiete por ciento de los resultados positivos en la técnica FISH fueron falsos positivos debido a tetraploidía. Después de corregir los resultados para los falsos positivos, todas las lesiones consideradas nevos atípicos mostraron señales normales de FISH normales. La FISH que mostraron señales anormales fueron reportados en 0 % de lesiones benignas, 30 % de las lesiones consideradas histológicamente limítrofes y en el 48 % de las lesiones en las que se vio favorecido un diagnóstico de melanoma. Según estos hallazgos, los resultados de la técnica FISH para el melanoma se correlacionan con las evaluaciones microscópicas de lesiones ambiguas y los patólogos deben ser conscientes de la alta tasa de falsos positivos por tetraploidía en lesiones ambiguas (16).
DeMarchis (22)	Stanford University Medical Center	Se quiso determinar la correlación entre los resultados de la técnica FISH y los resultados clínicos en una serie de proliferaciones melanocíticas atípicas en pacientes jóvenes.	Se incluyeron 21 neoplasias de 21 pacientes menores de 25 años y que fueron seguidos de forma prospectiva en una media de 51 meses (1-136 meses). Se incluyeron 5 melanomas, 2 MeTUMPS (tumores melanocíticos de potencial maligno incierto) 10 tumores de Spitz atípicos y 4 nevo de Spitz típicos. La técnica FISH detectó aberraciones cromosómicas en los 5 melanomas, en un MeTUMP que, posteriormente, desarrolló metástasis ganglionares y a distancia, encontrándose una correlación fuerte entre FISH positiva y el diagnóstico histomorfológico de melanoma. Los casos en los que la técnica FISH fue negativa no presentaron enfermedad durante el tiempo de seguimiento (22).

técnica FISH de rutina en los casos indeterminados. Evalúan la histología, luego practican la técnica FISH y, así, interpretan los resultados teniendo en cuenta ambas variables. Si los resultados de la técnica FISH son anormales y la histología corresponde a melanoma, se hace el diagnóstico definitivo de melanoma; si la histología es de una lesión francamente atípica pero benigna y la técnica FISH es negativa, lo consideran un nevo displásico.

Cuando la histopatología es fuertemente indicativa de neoplasia maligna y la FISH es negativa, se hace diagnóstico de tumor melanocítico con potencial maligno incierto (hay que recordar que la FISH puede ser negativa en un porcentaje importante de los melanomas) y, cuando la FISH es positiva pero la histopatología tranquilizadora, se deben evaluar muy cuidadosamente. Se debe descartar que sea un falso positivo por tetraploidía (los nevos de Spitz pueden presentar tetraploidía por fallos en la mitosis con cuatro números de copias de cromosomas, sin indicar necesariamente inestabilidad cromosómica); en niños, la probabilidad de que sea melanoma es menor, pero desde el punto de vista teórico, es más probable que la inestabilidad cromosómica evaluada mediante FISH se encuentre en los tumores malignos que en los benignos y puede preceder los cambios de la histopatología<sup>(23)</sup>. Aún se debate cuánto peso se le debe a la técnica FISH positiva; el análisis debe ser cuidadoso dada la heterogeneidad genética de los melanomas, y las distintas sensibilidades y especificidades reportadas<sup>(27)</sup>.

## CONCLUSIONES

El melanoma ha venido aumentando en incidencia y mortalidad en todo el mundo, y Colombia no es la excepción. Se reportaron 2.904 muertes en el país entre el 2000 y el 2012; y el riesgo de muerte en el 2000 era de 3,8 por millón de habitantes y se incrementó a 6,6 por millón de habitantes para el 2012<sup>(28)</sup>.

Dado que las pruebas para mejorar el rendimiento diagnóstico son de suma importancia, se recomienda usar FISH en lesiones melanocíticas ambiguas que representan un reto para el patólogo, quien –a pesar de contar con la inmunohistoquímica– tiene elementos que apuntan a una lesión benigna y elementos que apuntan a una maligna. La circunstancia más común en la que la técnica FISH puede desempeñar un importante papel es en el diagnóstico de las lesiones spitzoides, por su grado de similitud con el melanoma y por las implicaciones tan importantes que tiene el diagnóstico de melanoma frente al de nevo de Spitz.

La técnica FISH no es una prueba diagnóstica para melanoma y no se debe usar como prueba única; es solo parte del arsenal y debe usarse en conjunto con el examen histopatológico y la correlación clínico-patológica, ya que presenta falsos positivos y falsos negativos. Los problemas técnicos pueden llevar a que de 3 a 5 % de los casos no sean adecuados para la evaluación, a que haya problemas de interpretación por la sección o superposición de núcleos y a que haya falsos positivos cuando nos encontramos ante un tumor tetraploide.

Es improbable que la técnica FISH para melanoma resuelva el problema asociado con las proliferaciones melanocíticas controversiales o las opiniones diferentes con respecto a una lesión en particular; sin embargo, puede ser una ayuda valiosa por su gran especificidad<sup>(4)</sup>. Es de particular interés en casos, como este, de lesiones spitzoides. Se ha reportado un número mayor de tumores melanocíticos atípicos en pacientes jóvenes con una mayor incidencia de lesiones spitzoides atípicas<sup>(29,30)</sup>, lo cual dificulta el diagnóstico. La mayoría de los autores coinciden en que una prueba positiva por su gran especificidad puede llevar a un diagnóstico de melanoma pero una prueba negativa no lo descarta, ya que hasta 10 a 50 % de los melanomas ambiguos pueden ser negativos con la técnica FISH, dependiendo del subtipo<sup>(16)</sup>. Es claro que se debe integrar la clínica, la histología, la inmunohistoquímica y la técnica FISH para un diagnóstico final.

Kansal, et al., llevaron a cabo un estudio farmacoeconómico en el que concluyen que, en casos clínicos específicos cuando la biopsia es no concluyente, el uso de la FISH es una estrategia costo-efectiva para el diagnóstico de melanoma<sup>(31)</sup>. Algunos autores proponen hacer primero las sondas más específicas y, en caso de que sean negativas, hacer las otras en aras de reducir el impacto económico de la prueba<sup>(32)</sup>.

## REFERENCIAS

1. Gerami P, Zembowicz A. Update on fluorescence in situ hybridization in melanoma: State of the art. *Arch Pathol Lab Med*. 2011;135:830-7.
2. Nguyen B, Karia PS, Hills VM, Besaw RJ, Schmults CD. Impact of National Comprehensive Cancer Network Guidelines on case selection and outcomes for sentinel lymph node biopsy in thin melanoma. *Dermatol Surg*. 2017; epub ahead of print.
3. Leachman SA, Cassidy PB, Chen SC, Curiel C, Geller A, Gareau D, et al. Methods of melanoma detection. *Cancer Treat Res*. 2016;167:51-105.

4. Lodha S, Saggari S, Celebi JT, Silvers DN. Discordance in the histopathologic diagnosis of difficult melanocytic neoplasms in the clinical setting. *J Cutan Pathol*. 2008;35:349-52.
5. Pinkel D, Albertson DG. Array comparative genomic hybridization and its applications in cancer. *Nat Genet*. 2005;37(Suppl.):S11-7.
6. Bastian BC, Olshen AB, LeBoit PE, Pinkel D. Classifying melanocytic tumors based on DNA copy number changes. *Am J Pathol*. 2003;163:1765-70.
7. Senetta R, Paglierani M, Massi D. Fluorescence in-situ hybridization analysis for melanoma diagnosis: FISH in melanocytic tumours. *Histopathology*. 2012;60:706-14.
8. Moore MW, Gasparini R. FISH as an effective diagnostic tool for the management of challenging melanocytic lesions. *Diagn Pathol*. 2011;6:76.
9. Requena C, Rubio L, Traves V, Sanmartín O, Nagore E, Llombart B, et al. Fluorescence in situ hybridization for the differential diagnosis between Spitz naevus and spitzoid melanoma. *Histopathology*. 2012;61:899-909.
10. Song J, Mooi WJ, Petronic-Rosic V, Shea CR, Stricker T, Krausz T. Nevus versus melanoma: To FISH, or not to FISH. *Adv Anat Pathol*. 2011;18:229-34.
11. Gerami P, Wass A, Mafee M, Fang Y, Pulitzer MP, Busam KJ. Fluorescence in situ hybridization for distinguishing nevoid melanomas from mitotically active nevi. *Am J Surg Pathol*. 2009;33:1783-8.
12. Newman MD, Lertsburapa T, Mirzabeigi M, Mafee M, Guitart J, Gerami P. Fluorescence in situ hybridization as a tool for microstaging in malignant melanoma. *Mod Pathol*. 2009;22:989-95.
13. Pouryazdanparast P, Newman M, Mafee M, Haghghat Z, Guitart J, Gerami P. Distinguishing epithelioid blue nevo from blue nevo-like cutaneous melanoma metastasis using fluorescence in situ hybridization. *Am J Surg Pathol*. 2009;33:1396-400.
14. Dalton SR, Gerami P, Kolaitis NA, Charzan S, Werling R, LeBoit PE, et al. Use of fluorescence in situ hybridization (FISH) to distinguish intranodal nevus from metastatic melanoma. *Am J Surg Pathol*. 2010;34:231-7.
15. Romano RC, Shon W, Sukov WR. Malignant melanoma of the nail apparatus: A fluorescence in situ hybridization analysis of 7 cases. *Int J Surg Pathol*. 2016;24:512-8.
16. Zembowicz A, Yang SE, Kafanas A, Lyle SR. Correlation between histologic assessment and fluorescence in situ hybridization using MelanoSITE in evaluation of histologically ambiguous melanocytic lesions. *Arch Pathol Lab Med*. 2012;136:1571-9.
17. Vergier B, Prochazkova-Carlotti M, de la Fouchardière A, Cerroni L, Massi D, De Giorgi V, et al. Fluorescence in situ hybridization, a diagnostic aid in ambiguous melanocytic tumors: European study of 113 cases. *Mod Pathol*. 2011;24:613-23.
18. North JP, Garrido MC, Kolaitis NA, LeBoit PE, McCalmont TH, Bastian BC. Fluorescence in situ hybridization as an ancillary tool in the diagnosis of ambiguous melanocytic neoplasms: A review of 804 cases. *Am J Surg Pathol*. 2014;38:824-31.
19. Tetzlaff MT, Wang W-L, Milless TL, Curry JL, Torres-Cabala CA, McLemore MS, et al. Ambiguous melanocytic tumors in a tertiary referral center: The contribution of fluorescence in situ hybridization (FISH) to conventional histopathologic and immunophenotypic analyses. *Am J Surg Pathol*. 2013;37:1783-96.
20. Mudhar HS, Smith K, Talley P, Whitworth A, Atkey N, Rennie IG. Fluorescence in situ hybridisation (FISH) in histologically challenging conjunctival melanocytic lesions. *Br J Ophthalmol*. 2013;97:40-6.
21. Busam KJ, Fang Y, Jhanwar SC, Pulitzer MP, Marr B, Abramson DH. Distinction of conjunctival melanocytic nevi from melanomas by fluorescence in situ hybridization. *J Cutan Pathol*. 2010;37:196-203.
22. DeMarchis EH, Swetter SM, Jennings CD, Kim J. Fluorescence in situ hybridization analysis of atypical melanocytic proliferations and melanoma in young patients. *Pediatr Dermatol*. 2014;31:561-9.
23. Gerami P, Li G, Pouryazdanparast P, Blondin B, Beilfuss B, Slenk C, et al. A highly specific and discriminatory FISH assay for distinguishing between benign and malignant melanocytic neoplasms. *Am J Surg Pathol*. 2012;36:808-17.
24. Fang Y, Dusza S, Jhanwar S, Busam KJ. Fluorescence in situ hybridization (FISH) analysis of melanocytic nevi and melanomas: Sensitivity, specificity, and lack of association with sentinel node status. *Int J Surg Pathol*. 2012;20:434-40.
25. Minca EC, Al-Rohil RN, Wang M, Harms PW, Ko JS, Collie AM, et al. Comparison between melanoma gene expression score and fluorescence in situ hybridization for the classification of melanocytic lesions. *Mod Pathol*. 2016;29:832-43.
26. Somnidi-Damodaran S, Guo R, Meves A, Bridges AG. Expanded traditional melanoma FISH testing versus CAP-QPCR to identify high-risk melanocytic lesions. *Int J Dermatol*. 2017;56:e182-4.

27. Muhlbauer A, Momtahn S, Mihm MC, Wang J, Magro CM. The correlation of the standard 5 probe FISH assay with melanocytic tumors of uncertain malignant potential. *Ann Diagn Pathol.* 2017;28:30-6.
28. García M. Mortalidad por melanoma cutáneo en Colombia: estudio de tendencias. *Rev Asoc Colomb Dermatol.* 2017;25:8-15.
29. Neier M, Pappo A, Navid F. Management of melanomas in children and young adults. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2012;34(Suppl.2):S51-4.
30. Livestro DP, Kaine EM, Michaelson JS, Mihm MC, Haluska FG, Muzikansky A, et al. Melanoma in the young: Differences and similarities with adult melanoma, a case-matched controlled analysis. *Cancer.* 2007;110:614-24.
31. Kansal AR, Shaul AJ, Stern S, Busam K, Doucet CA, Chalfin DB. Cost-effectiveness of a FISH assay for the diagnosis of melanoma in the USA. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res.* 2013;13:371-80.
32. Weissinger SE, Frick M, Möller P, Horst BA, Lennerz JK. Performance testing of RREB1, MYB, and CCND1 fluorescence in situ hybridization in spindle-cell and desmoplastic melanoma argues for a two-step test algorithm. *Int J Surg Pathol.* 2017;25:148-57.