



ACADEMIA ESPAÑOLA
DE DERMATOLOGÍA
Y VENEREOLOGÍA

ACTAS Dermo-Sifiliográficas

Full English text available at
www.actasdermo.org



REVISIÓN

Conceptos modernos en tumores melanocíticos

A. Fernandez-Flores ^{a,b,c}



^a Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario El Bierzo, Ponferrada, León, España

^b Servicio de Anatomía Patológica, Hospital de la Reina, Ponferrada, León, España

^c Departamento de Investigación, Instituto de Investigaciones Biomédicas A Coruña (INIBIC), Universidad de A Coruña (UDC), A Coruña, España

Recibido el 3 de noviembre de 2022; aceptado el 3 de enero de 2023

Disponible en Internet el 14 de enero de 2023

PALABRAS CLAVE

Melanoma;
Melanocitoma;
Rutas patogénicas;
PRAME;
Nevus melanocítico

Resumen Con el desarrollo de la enfermedad molecular, el diagnóstico y la comprensión de los tumores melanocíticos ha experimentado un avance descomunal en los últimos años. Esto ha significado la aparición de conceptos de difícil asimilación en el mundo clínico, el cual no está siempre en contacto directo con las técnicas genéticas de laboratorio. Al mismo tiempo, sin embargo, al clínico se le está exigiendo una terapéutica basada en muchas ocasiones en los hallazgos moleculares más recientes de un tumor melanocítico. El presente artículo explora los conceptos moleculares más recientes de la clasificación en rutas patogénicas de los tumores melanocíticos, incluidas las formas intermedias conocidas como melanocitomas, y repasa las técnicas auxiliares usadas en el estudio de estos tumores, discutiendo los resultados más complejos, sus limitaciones, y sus solapamientos.

© 2023 AEDV. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

KEYWORDS

Melanoma;
Melanocytoma;
Pathogenic pathways;
PRAME;
Melanocytic nevus

Modern Concepts in Melanocytic Tumors

Abstract The advent of molecular pathology has fueled unprecedented advances in the diagnosis and understanding of melanocytic tumors. These advances, however, have also generated concepts that may be difficult to grasp for clinical practitioners, who are not always conversant with the array of genetic techniques employed in the laboratory. These same practitioners, however, are being increasingly called on to provide treatments that are often based on the latest molecular findings for melanocytic tumors. We review the most recent concepts in the pathway classification of melanocytic tumors, including intermediate lesions known as melanocytomas. We examine the genetic and molecular techniques used to study these tumors, look at where they overlap, and discuss their limitations and some of the most difficult-to-interpret results.

© 2023 AEDV. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Correo electrónico: dermatopathonline@gmail.com

<https://doi.org/10.1016/j.ad.2023.01.001>

0001-7310/© 2023 AEDV. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

En las últimas décadas, nuestro conocimiento etiopatogénico del melanoma se ha incrementado considerablemente gracias a técnicas genéticas y moleculares. Esto ha permitido descifrar un puzzle complejo en el que la dualidad nevus benigno/melanoma maligno como 2 únicas opciones, ha dado paso a un espectro con varios pasos intermedios.

También nos ha llevado a reconocer que el melanoma no es uno, sino que existen varios tipos de melanoma que pueden desarrollarse a través de rutas patogénicas diferentes y sin relación entre sí.

El reconocimiento cada vez más exacto de las formas intermedias entre nevus y melanoma nos ha llevado a diagnósticos de dificultad conceptual de entidades que no son benignas o malignas en términos absolutos, sino una progresión intermedia hacia el melanoma. Esto último se comprendió mejor con el desarrollo del ganglio centinela y la evidencia de tumores melanocíticos que se diseminan localmente, por ejemplo, a ganglios linfáticos, sin capacidad para matar al individuo.

Este panorama conceptual complejo ha necesitado recuperar para su arsenal descriptivo, términos que se consideraban casi extintos en la literatura, como el de melanocitoma. En consecuencia, existe una demanda del dermatólogo por la comprensión del estado histopatológico de tan actual y dinámico mapa.

El presente artículo tiene como objetivo la explicación y actualización de algunos de estos conceptos desde el punto de vista del patólogo, adaptados a la aplicación clínica del dermatólogo.

Los tumores melanocíticos son resultados de alteraciones genéticas

Como tantos otros tumores, los melanocíticos, bien sean benignos o malignos, son el resultado de alteraciones genéticas de diversos tipos.

Los nevus suelen ser el resultado de una única mutación en un melanocito, que da lugar a una expansión clonal benigna. Los nevus adquiridos aparecen por mutaciones de melanocitos que normalmente ya han alcanzado la epidermis, dando lugar a nevus juncionales primero, que pasarán a ser compuestos y luego intradérmicos. La gran mayoría de nevus adquiridos presentan una mutación del codón 600 del gen *BRAF*^{1,2}.

Por el contrario, en los nevus congénitos, la mutación se produce en algún momento durante la migración del melanocito hasta la epidermis desde la cresta neural. Cuanto más cerca esté el melanocito de la epidermis, menor será el tamaño del nevus, mientras que si la mutación se produce en un momento precoz de la migración, el nevus congénito puede ser muy extenso y afectar a múltiples zonas corporales. Al contrario que los nevus adquiridos, los nevus congénitos suelen mostrar mutaciones en el gen *NRAS*, frecuentemente en el codón 61^{3,4}.

Uno de los factores más importantes —pero no el único— en la tumorigénesis del melanoma es la exposición solar⁵⁻⁷. Aquellos melanomas desarrollados en el contexto de una intensa y prolongada exposición solar son los que muestran más aberraciones genéticas⁸⁻¹³. Por el contrario, aquellos

melanomas probablemente poco o nada relacionados con la exposición solar —como el melanoma acral— muestran una carga mutacional baja¹³⁻¹⁵. Los rayos UVA son menos carcinógenos que los UVB: mientras que los primeros inducen la oxidación de la guanina en el ADN, los segundos generan dímeros oncogénicos de ciclobuteno^{16,17}.

Si algo hemos aprendido durante todas estas décadas de examen de melanomas al microscopio óptico es la amplia variedad morfológica que estos tumores presentan: melanomas de extensión superficial, nodular, spitzoides, acrales, etc. Sin embargo, y a pesar de estas variaciones, los melanomas suelen tener una patogenia genómica limitada, que afecta a un grupo reducido de vías moleculares. Las principales vías son¹⁸⁻²³:

1. La vía *MAPK/ERK* (quinasas MAP, también conocidas como ERK), que comprende varias quinasas reguladas por factores extracelulares. Entre las MAPK tenemos MAP2K1, MAP3K, MAP2K o TRK. En esta ruta, la señal es transmitida hasta el núcleo a través de proteínas como RAS o RAF y factores de transcripción como MYC.
2. La vía *PI3K/AKT/mTOR* de la fosfatidilinositol-3-quinasa.
3. La vía del oncogén p53.
4. La vía del MTF.
5. La vía del NFκB.
6. La vía del ciclo celular (Punto G1/S).
7. La vía del WNT y la regulación apoptótica.
8. La vía de la remodelación de cromatina SWI/SNF.

Desde un punto de vista genético, lo que distingue a unos tumores melanocíticos de otros son los mecanismos de alteración de estas vías. Por ejemplo, la vía *MAPK* puede estar alterada por mutaciones en *BRAF*, *NRAS* o *NF1*²⁴⁻²⁶ (frecuentes en nevus comunes y en melanoma asociado a baja exposición solar), mientras que la misma vía *MAPK* puede alterarse por mutaciones en *HRAS* o por fusiones en los genes de las quinasas en el caso de los tumores de Spitz²⁷.

El concepto de rutas patogénicas

A pesar de que los nevus son tumores con mutaciones, estas son insuficientes para transformar a la célula en invasiva o metastásica. Por el contrario, los nevus melanocíticos tienen un crecimiento limitado debido al proceso de senescencia, mediante el cual una célula fracasa en su reingreso en el ciclo celular, no perpetuando, por lo tanto, el proceso mitótico²⁸. Varios mecanismos se encargan de inducir senescencia, evitando el desarrollo de tumores incontrolables. De entre los mecanismos más conocidos está el representado por los genes supresores de tumores p53 y p16²⁹.

Si un nevus experimenta cambios genéticos y epigenéticos adicionales, puede escapar a los mecanismos de senescencia, convirtiéndose en una lesión intermedia con bajo o alto riesgo de progresar o, finalmente, en un melanoma. Esta interpretación de la naturaleza de los tumores melanocíticos ha derivado en la identificación de varias rutas patogénicas³⁰⁻³². Cada ruta tendría una contrapartida benigna névica o bien un precursor hiperplásico benigno, así como formas intermedias de malignidad hasta llegar al melanoma. Algunas de las rutas están relacionadas con la exposición solar como causa etiológica, pero otras no³³. Este

Tabla 1 Rutas patogénicas simplificadas identificadas por la OMS en la formación de los distintos tipos de melanoma

Ruta	Precursor benigno	Formas intermedias de la ruta	Tipo de melanoma	Alteraciones genéticas implicadas en la ruta
I	Nevus melanocítico	Displasia melanocítica	De extensión superficial	<i>BRAF</i> , <i>NRAS</i> , <i>CDKN2A</i>
		Melanocitoma con inactivación de <i>BAP1</i>	Melanoma por inactivación de <i>BAP1</i>	<i>BRAF</i> , <i>NRAS</i> , <i>BAP1</i>
		Melanocitoma penetrante profundo	Melanoma penetrante profundo	<i>BRAF</i> , <i>NRAS</i> , <i>CTNNB1</i> , <i>APC</i>
II	¿Proliferación intraepidérmica benigna sin atipia?	Melanocitoma epitelioide pigmentado	Melanoma epitelioide pigmentado	<i>BRAF</i> , <i>PRKAR1A</i> , <i>PRKCA</i>
		Lentigo maligno	Melanoma lentigo maligno	<i>NRAS</i> , <i>BRAF</i> , <i>KIT</i> , <i>CDKN2A</i>
III	¿Proliferación intraepidérmica benigna sin atipia?	Melanoma in situ	Melanoma desmoplásico	<i>NF1</i> , <i>ERBB2</i> , <i>MAP2K1</i> , <i>BRAF</i> , <i>MET</i> , <i>TERT</i> , <i>NRAS</i> , <i>PIK3CA</i>
IV	Nevus de Spitz	Melanocitoma de Spitz	Melanoma de Spitz	<i>HRAS</i> , <i>ALK</i> , <i>ROS1</i> , <i>RET</i> , <i>NTRK1</i> , <i>NTRK3</i> , <i>BRAF</i> (reordenamientos), <i>MET</i> , <i>CDKN2A</i>
V	¿Nevus acral?	Melanoma in situ acral	Melanoma acral	<i>KIT</i> , <i>NRAS</i> , <i>BRAF</i> , <i>NTRK</i> , <i>ALK</i> , <i>NF1</i> , <i>CDKN2A</i> , <i>CCDN1</i>
VI	¿Melanosis de mucosas?	Melanoma in situ de mucosas	Melanoma lentiginoso de mucosas	<i>KIT</i> , <i>NRAS</i> , <i>KRAS</i> , <i>BRAF</i> , <i>NF1</i> , <i>CDKN2A</i> , <i>CCDN1</i> , <i>MDM2</i>
VII	Nevus congénito	Melanocitoma en nevus congénito	Melanoma en nevus congénito	<i>NRAS</i> , <i>BRAF</i> (mutaciones y reordenamientos)
VIII	Nevus azul	Melanocitoma del tipo nevus azul celular	Melanoma en nevus azul	<i>GNAQ</i> , <i>GNA11</i> , <i>BAP1</i>
IX	¿Nevus uveal?	¿?	Melanoma uveal	<i>GNAQ</i> , <i>GNA11</i> , <i>BAP1</i>

modelo tiene una gran carga hipotética, ya que los precursores benignos de alguna de las entidades todavía no están bien categorizados.

Las rutas no siempre se inician en el primer paso. Por ejemplo, un melanocitoma (a pesar de considerarse un paso intermedio entre nevus y melanoma) puede surgir *de novo*. De hecho, durante años, el axioma general ha sido que la mayoría de los melanomas se originan *de novo*, mientras que solo una minoría se originan a partir de nevus^{34,35}. Este axioma requiere algunas puntualizaciones, ya que el melanoma más frecuente en nuestro medio, el melanoma lentigo maligno, se origina a partir de pasos mutacionales previos *in situ* (aunque no sean «névicos»), como el lentigo maligno o similares. El surgimiento *de novo* de un melanoma que posea directamente propiedades infiltrantes es difícil de explicar genéticamente, ya que requeriría un cúmulo de eventos genéticos catastróficamente ocurridos de golpe, como la cromoptosis o la cromoplexia³⁶, ambas infrecuentes. Alternativamente, algunos autores han sugerido que melanocitos histológicamente normales, podrían, sin embargo, tener mutaciones iniciales que no induzcan proliferación (p. ej., en *CDKN2A* o en el promotor de *TERT*)^{36,37}. Además, hay autores que señalan que nuestro conocimiento de

este proceso puede estar sesgado: la ausencia de un nevus remanente en una extirpación de un melanoma no necesariamente significa que dicho melanoma no se haya originado en un nevus: el crecimiento del melanoma o bien la respuesta inmunitaria a este pueden haber destruido los restos névicos iniciales³⁶.

Las rutas reconocidas por la OMS se detallan a continuación^{33,38} (tabla 1).

Ruta II (baja exposición solar): acaba en el melanoma tradicionalmente conocido como «de extensión superficial». El 90% de los tumores melanocíticos de esta ruta presentan mutaciones en el gen *BRAF*, siendo la más frecuente la mutación V600E. Las mutaciones en *NRAS* son mucho menos frecuentes.

A este tipo de melanoma se puede llegar por distintos caminos:

- A través de una displasia de bajo grado primero y de alto grado después.
- A través de inactivación del gen *BAP1* primero y de mutaciones adicionales después.
- A través de un nevus penetrante profundo primero, con mutaciones adicionales después.

- A través de un melanocitoma epiteliode pigmentado primario, con mutaciones adicionales después.

En esta ruta no es infrecuente que en las fases próximas a la malignidad haya pérdida de expresión de p16 por alteraciones del gen *CDKN2A*³⁹. Sin embargo, la evaluación de p16 requiere algunas consideraciones. Aunque p16 se considera un marcador de senescencia y, por lo tanto, tranquilizador cuando se expresa⁴⁰⁻⁴², no está, sin embargo, expresado, en melanocitos normales. Su expresión puede inducirse frente al estrés celular⁴³. Puede haber nevos comunes que expresen poco p16, sin que eso signifique una inactivación de *CDKN2A*.

Ruta II (alta exposición solar): acaba en el melanoma de tipo lentigo maligno, iniciándose en el lentigo maligno o en otros tipos de melanoma *in situ*.

Ruta III (también de alta exposición solar): acaba en el melanoma desmoplásico, iniciándose como melanoma *in situ*.

Ruta IV: acaba en el melanoma de Spitz, iniciándose en el nevus de Spitz benigno^{44,45}. Suele tener mutaciones activadoras de *HRAS* (con o sin amplificaciones concomitantes del 11p, que es donde está localizado el gen *HRAS*), reordenamientos de los genes del receptor de las tirosin-cinasas (*ROS1*, *ALK*, *MET*, *NTRK1*, *NTRK3* o *RET*) o reordenamientos de los genes de las serin/treonin-cinasas involucradas en la ruta MAPK (*BRAF*, *RAFF1*, *MAP3K8*)^{37,46}. Los reordenamientos en las cinasas son mutuamente excluyentes (la presencia de uno excluye los otros). Los reordenamientos de *BRAF* no implican mutaciones en el gen (que son, por el contrario, frecuentes en la ruta I). En ocasiones, en los genes adyacentes a las zonas reordenadas de los tumores de Spitz, incluso benignos, pueden producirse cambios numéricos (p. ej., amplificaciones), sin necesidad de que impliquen mayor riesgo de progresión.

Una característica curiosa de la ruta de los tumores de Spitz, es que pueden presentar inactivación del gen *CDKN2A* (en muchos casos como única alteración genética), con pérdida de la expresión de p16, un hecho que sería preocupante en tumores melanocíticos de cualquier otra ruta⁴⁷. Se necesitan, por lo tanto, mutaciones adicionales a la inactivación de *CDKN2A* para la transformación maligna. Por ejemplo, alteraciones en el promotor del *TERT*.

Otra característica común de este grupo es que las lesiones malignas pueden conservar las mutaciones previas de las lesiones benignas precursoras. Por lo tanto, aunque las mutaciones *HRAS* son típicas de los nevos de Spitz, demostrarlas no es garantía de benignidad: un melanoma de Spitz puede también tenerlas^{48,49}. Sin embargo, puesto que las mutaciones en *HRAS* están presentes en menos de un 1% de melanomas³⁷ su evidencia resulta tranquilizadora en un tumor de morfología Spitz.

Ha habido intentos de correlacionar las alteraciones genéticas evidenciadas en los tumores de Spitz, con los hallazgos histopatológicos en la hematoxilina-eosina⁵⁰, empezando por la sugerencia de que las mutaciones *HRAS* activan con más vigor la vía PI3K/AKT/mTOR que las mutaciones *BRAF* o *NRAS* y, por lo tanto, inducen células tumorales de mayor tamaño y menos pigmentación que las vistas en los nevos comunes o congénitos³⁷. Aunque esas correlaciones no son siempre fáciles de evaluar, se sabe, por

ejemplo, que las mutaciones en *HRAS* están asociadas con caracteres desmoplásicos; los reordenamientos en *MAP3K8*, con predominio de células epitelioides, células multinucleadas y ulceración; los reordenamientos en *RET* con una silueta tumoral en placa y con nidos celulares poco cohesivos; los reordenamientos en *NTRK3*, con tumores pigmentados; los reordenamientos en *NTRK1* con presencia de seudorrosetas; los reordenamientos en *ROS1*, con abundancia de cuerpos de Kamino, y los reordenamientos en *ALK*, con tumores grandes polipoides o cupuliformes, muchas veces con un hábito arquitectural fasciculado y en ocasiones con prominente depósito mixoide. Sin embargo, estas correlaciones no son completas. Así, por ejemplo, un fenotipo desmoplásico puede encontrarse sin asociación a mutación de *HRAS* o amplificación 11p y, por el contrario, asociarse a fusiones de cinasas como *ROS1*.

Los reordenamientos en *BRAF*, al contrario que las fusiones en otras cinasas, parecen ser eventos bastante terminales en la ruta, es decir, asociados más a la parte maligna del espectro, ya que se han visto preferentemente en melanomas de Spitz y en melanocitomas de Spitz y, en mucha menor medida, en nevos de Spitz.

Ruta V: acaba en el melanoma acral, iniciándose quizá en nevos acrales o en lesiones precursoras acrales malignas *in situ*.

Ruta VI: se inicia en la melanosis con displasia y acaba en el melanoma lentiginoso de mucosas. No sabemos si la melanosis no displásica podría ser el inicio de la ruta.

Ruta VII: esta ruta se refiere a los melanomas originados sobre nevus congénito. Sobre estos últimos pueden aparecer nódulos de crecimiento, debidos a mutaciones adicionales a las del nevus, por lo que se consideran melanocitomas de riesgo bajo/intermedio de evolución a melanoma. La ruta acaba en el melanoma sobre nevus congénito. En esta ruta, las lesiones melanocíticas contienen mutaciones hotspot *NRAS*, y menos frecuentemente, mutaciones en *BRAF*.

Ruta VIII: se inicia con el nevus azul, pasando por el nevus azul celular (incluido dentro de los melanocitomas de riesgo bajo/intermedio de evolución a melanoma), el nevus azul celular atípico y, finalmente, el melanoma sobre nevus azul, una entidad rara. Esta ruta se debe fundamentalmente a oncogenes que activan la vía de la G-alfa-q, siendo la alteración genética más común, las mutaciones activadoras en *GNAQ* o en *GNA11*. En las últimas fases de malignización puede mostrar mutaciones en el gen supresor de tumores *BAP1*.

Ruta IX: esta es la ruta del melanoma uveal. Se desconoce cuáles puedan ser los pasos histológicos previos hasta su transformación en melanoma. Puede presentar mutación del gen supresor de tumores *BAP1*.

Este esquema de las rutas patogénicas, permite fácilmente explicar por qué el número de nevus es mayor en individuos con piel clara, o con síndromes de susceptibilidad al melanoma, puesto que son más predispuestos a una mutación en sus melanocitos. También por qué episodios de exposición intermitente al sol durante la infancia están asociados con un mayor número de nevus. Y también por qué un mayor número de nevus implica un mayor riesgo de melanoma.

Se debe destacar que la OMS considera que no todos los tumores melanocíticos muestran el mismo riesgo de progresión a melanoma. Algunos son catalogados como de

riesgo bajo/intermedio (como las melanosis atípicas, los melanocitomas en nevus congénitos, el nevus penetrante profundo o el melanocitoma de tipo nevus azul), mientras otros están considerados de riesgo intermedio/alto (como el melanocitoma por inactivación de *BAP1*, el melanocitoma penetrante profundo, el melanocitoma epiteloide pigmentado, el lentigo maligno, el melanoma *in situ* —bien sea acral, de mucosas o en nevus congénito— o el nevus azul celular atípico). También explica por qué algunas lesiones aparentemente poco aparatosas desde el punto de vista histopatológico (como, por ejemplo, un melanoma acral *in situ*, a veces con cambios histopatológicos muy sutiles, difíciles de diferenciar de un nevus), progresan rápidamente hasta melanoma invasivo si no se diagnostican correctamente a tiempo.

El concepto de melanocitoma

El término melanocitoma se ha consolidado en la clasificación de la OMS para referirse a tumores melanocíticos con una posición intermedia en la evolución de una lesión a lo largo de una ruta patogénica desde la benignidad hacia la malignidad⁵¹. Se les ha segregado como grupo individualizado distinto al de los nevus, al comprobar que presentan mutaciones driver múltiples. En ocasiones puede verse un melanocitoma coexistiendo en el seno de un nevus melanocítico común; señal de que dentro del nevus ha surgido una nueva población clonal del melanocitoma, como resultado de mutaciones o reordenamientos adicionales. Sin embargo, a veces los melanocitomas surgen *de novo*, por lo que el paso mutacional previo de los nevus comunes, no siempre es necesario.

Muchos de los melanocitomas tienen capacidad de diseminación a los ganglios linfáticos regionales, sin metastatizar más allá. La OMS los divide en 2 grupos de riesgo de progresión a melanoma: los de grado bajo/intermedio y los de grado intermedio/alto.

En la actualidad, estos son los principales tipos de melanocitoma reconocidos:

- *Melanocitoma por inactivación del BAP1*⁵²: esta lesión melanocítica está incluida en la ruta patogénica del melanoma por exposición solar intermitente (ruta I). Los tumores de este grupo muestran inactivación bialélica del gen supresor de tumores *BAP1*, la mayoría de las veces por asociación de una mutación truncante en uno de los alelos del cromosoma 3 (locus 3p21) y pérdida completa o parcial del otro. Sería un paso intermedio entre el nevus de Wiesner (también llamado BAPoma) y los melanomas con inactivación de *BAP1*. El concepto de melanocitoma por inactivación de *BAP1* es fundamentalmente genético y los hallazgos histológicos por sí solos no siempre permiten distinguir con firmeza un BAPoma de un melanocitoma. Por ello, algunos autores han sugerido gradar la atipia como información adicional en este tipo de diagnósticos⁵². De igual manera, el melanoma por inactivación de *BAP1*, suele presentar alteraciones histopatológicas suficientes que permitan sugerir ese diagnóstico. Pero ante cualquier tumor con inactivación de *BAP1* y cierto grado de atipia, la demostración de la ausencia de alteraciones genéticas típicas de un melanoma

permitirá descartar dicha progresión. La inactivación de *BAP1* puede coexistir con mutaciones de *NRAS* y *BRAF*. Por lo tanto, y en contra de lo que se pensaba en el pasado, no se trata de una variante de tumor de Spitz. En la mayoría de los casos se puede demostrar la inactivación del gen mediante inmunohistoquímica, observando la pérdida de tinción nuclear⁵³. Sin embargo, la inmunohistoquímica no detecta aquellos casos con mutaciones «sin sentido» en donde se sigue produciendo una proteína no funcional. Algunos individuos presentan una mutación germinal de *BAP1* en uno de los alelos, manifestando un síndrome de predisposición tumoral multiorgánico⁵⁴, con un mayor riesgo de presentar mesoteliomas, carcinomas renales, colangiocarcinomas, carcinomas basocelulares y, frecuentemente, melanomas cutáneos y uveales. La OMS considera que el riesgo de transformación de un melanocitoma con mutación *BAP1* a un melanoma es medio-alto, aunque esto no concuerda con la experiencia de todos los autores³⁷. Este tipo de melanocitoma generalmente no tiene mitosis o muestra ocasionales mitosis. Un índice alto de mitosis es un signo alto de sospecha de que la transformación a malignidad ya ha ocurrido. Se debe recordar que las mutaciones en *BAP1* no son exclusivas de este melanocitoma. Pueden también verse en otros tipos de tumores melanocíticos, por lo que una inmunohistoquímica negativa para *BAP1* no garantiza el diagnóstico de este melanocitoma. Es más, las mutaciones en *BAP1* son características de las fases tardías (de malignización) de otras rutas patogénicas (como el melanoma uveal⁵⁵ o el melanoma sobre nevus azul⁵⁶), por lo que tendrán que considerarse con cautela y preocupación en esos contextos.

- *Melanocitoma penetrante profundo*⁵⁷: también perteneciente a la ruta patogénica I, sería una lesión intermedia entre el nevus penetrante profundo y el melanoma desarrollado en nevus penetrante profundo. Desde un punto de vista histológico, el melanocitoma muestra algunos rasgos atípicos que el nevus no, tales como gran tamaño, asimetría, disposición «en sábana» de melanocitos, mitosis y atipia citológica severa. Sin embargo, un melanocitoma no mostrará todavía las alteraciones genéticas propias de un melanoma, por lo que en los casos de melanocitomas más atípicos, la ausencia de progresión a melanoma deberá ser demostrada mediante técnicas especiales (véase más adelante). Este grupo muestra mutaciones (generalmente puntuales) que inactivan la betacatenina, lo cual puede demostrarse mediante positividad inmunohistoquímica para el marcador de betacatenina⁵⁸ o, alternativamente, para LEF1 (el receptor nuclear de betacatenina)⁵⁹. En el caso de nevus comunes, la positividad para betacatenina se observa solo en los melanocitos próximos a la epidermis y a los anejos, mientras que en el melanocitoma penetrante profundo la betacatenina tiñe de modo uniforme y difuso los citoplasmas de los melanocitos tumorales y a veces también intensamente los núcleos. La betacatenina no es el único mecanismo por el que se genera un melanocitoma penetrante profundo. Otro mecanismo alternativo es, por ejemplo, la pérdida bialélica de función del gen *APC* (*adenomatous polyposis coli*)⁵⁷. La OMS considera que el riesgo de transformación de un melanocitoma penetrante profundo a un melanoma es medio/alto, como

queda demostrado con casos que, tras progresión, causaron la muerte del paciente⁶⁰.

- *Melanocitoma epitelioides pigmentado*: también es un melanocitoma de ruta patogénica I y suele tener mutaciones en *BRAF*. Se trata de un melanocitoma indolente que, a pesar de mostrar invasiones ganglionares en un número elevado de pacientes, no suelen producir metástasis a distancia, sin que se hayan informado muertes debidas a este tumor. A pesar de su parecido histológico con los nevos azules, no está genéticamente relacionado con ellos. Dentro de este grupo hay una variante conocida como melanocitoma con inactivación del gen supresor de tumores *PRKAR1A*^{61,62} (mal llamado en el pasado nevus azul epitelioides), relacionado con el complejo de Carney⁶³. La inactivación de *PRKAR1A* puede demostrarse mediante la negatividad para el anticuerpo anti-*PRKAR1A* en estudio inmunohistoquímico. Paralelamente, otros melanocitomas epitelioides pigmentados muestran combinación de mutaciones en *BRAF* con inactivación de *PRKAR1A*. Por último, otros tumores de este grupo presentan otras alteraciones genéticas como mutaciones en *GNAQ*, *MAP2K1* o incluso fusiones en *PRKCA*. Está por definir si tales tumores pueden seguir incluyéndose en este grupo de melanocitomas indolentes o si representan otro tipo de tumores melanocíticos pertenecientes a otras rutas patogénicas. La OMS considera que el riesgo de transformación de los melanocitomas epitelioides pigmentados a un melanoma es medio/alto.
- *Melanocitoma de Spitz*⁴⁵: pertenece a la ruta patogénica IV que va desde los nevos de Spitz hasta el melanoma de Spitz. El melanocitoma de Spitz presenta alteraciones del gen *CDKN2A* que codifica para p16 y p14⁴⁴. Por ello, mientras que la pérdida de expresión de p16 es un evento preocupante en muchos tumores melanocíticos, sobre todo de ruta patogénica I, es bastante común en la ruta patogénica de los Spitz. La inactivación genética de *CDKN2A* sucede a menudo por delección homocigota, pero también puede suceder por mutación truncadora en un alelo, seguida de pérdida de heterocigosidad, a menudo debido a pérdida de parte del cromosoma 9. Puesto que puede haber tumores con retención de una copia de *CDKN2A* que permanece activa, la FISH no nos proporciona información de tales casos, debiendo complementarse con la inmunohistoquímica para p16 (que se mantendrá positiva). Esta última puede ser citoplásmica o nuclear y, a menudo, se ve en «mosaico», es decir, células positivas y negativas de modo alternante. Los melanocitomas de Spitz tienen una alta tendencia a invadir ganglios linfáticos regionales, pero con un comportamiento global benigno y baja tasa de recurrencia. La OMS considera que su riesgo de transformación a un melanoma es bajo/medio. Mientras que el melanocitoma de Spitz muestra una delección heterocigota de *CDKN2A*, una delección homocigota debería ser altamente sospechosa de melanoma de Spitz. También mutaciones adicionales, como en el promotor del *TERT*, pueden alertar sobre un progreso a la malignidad en un melanocitoma de Spitz.
- *Melanocitoma en nevus congénito*⁶⁴: se trata de una lesión nodular de carácter intermedio aparecida sobre un nevus congénito, por lo tanto, perteneciente a la ruta VII. En la clasificación de la OMS, este melanocitoma es sinónimo del término «nódulo en nevus congénito». A pesar de su

aspecto histológico alarmante, estos melanocitomas suelen mostrar pérdidas o ganancias de cromosomas enteros, al contrario que los melanomas, que muestran alteraciones numéricas de segmentos cromosómicos⁶⁵. La OMS considera que su riesgo de transformación a un melanoma es bajo/medio.

- *Melanocitoma azul*: también llamado, en el pasado, nevus azul celular⁶⁶. Como tumor perteneciente a la ruta VIII, suele mostrar mutaciones que activan la vía G-alfa-q (mutaciones en *GNAQ*). Al contrario que el melanocitoma penetrante profundo, que muestra expresión nuclear de betacatenina, el melanocitoma azul presenta expresión membranosa de ese marcador. La OMS considera que su riesgo de transformación a melanoma es bajo/intermedio.

Aunque la OMS aconseja una escisión completa con márgenes amplios (5 mm) para aquellos tumores melanocíticos de alto riesgo de progresión a melanoma, no todos los autores están de acuerdo en que el riesgo de progresión de los distintos melanocitomas sea un hecho probado⁵¹.

Un melanoma spitzoide no es lo mismo que un melanoma de Spitz, ni un tumor de Spitz lo mismo que un tumor spitzoide (tabla 2)

El melanoma de Spitz es el punto final de la ruta patogénica IV que se inicia en los nevos de Spitz y pasa por el melanocitoma de Spitz.

Esta ruta conlleva alteraciones genéticas típicas de la «familia Spitz», como la ausencia de mutaciones en *BRAF*, en *NRAS* o en *NF1*, y frecuente presencia de reordenamientos en los genes de las cinasas o mutaciones *HRAS*. Como las cinasas no suelen expresarse en melanocitos maduros normales y como la fusión de cinasas suele conllevar su expresión, estas fusiones pueden detectarse por inmunohistoquímica, mediante el uso de anticuerpos contra ellas. Sin embargo, se debe tener en cuenta que no todas las fusiones son igual de efectivas en propiciar la expresión de la cinasa correspondiente. Sobre todo, por lo que respecta a ALK y a ROS1, la positividad en inmunohistoquímica puede ser variable, yendo desde citoplásmica difusa a moteada (*dot-like*). De hecho, la tinción con ROS1 es frecuentemente débil. En el caso de NTRK (1 y 3), la expresión suele ser tan intensa, que expresiones moderadas, débiles o parcheadas, deberían ser consideradas dudosas por varios motivos: 1) porque hay isoformas de NTRK que pueden expresarse en melanocitos normales, y 2) porque NTRK puede expresarse en tumores melanocíticos no Spitz (como nevos azules o nevos penetrantes profundos), debido a sobreexpresión de ALK mediante otros mecanismos moleculares. También se debe tener en cuenta la expresión nuclear de NTRK, que suele verse más en Spitz con fusiones de *NTRK3* que en los de *NTRK1*. En la evaluación inmunohistoquímica de la expresión de las cinasas no se debe malinterpretar como positiva la tinción de los macrófagos. Para otras cinasas (*BRAF*, *RAF1* o *MAP3K8*), la inmunohistoquímica no parece servir para predecir la existencia de fusiones³⁶.

Existen tumores melanocíticos (tanto benignos como malignos) con rasgos spitzoides en el estudio con hematoxilina eosina que no son, sin embargo, tumores de Spitz, porque no siguen la ruta patogénica de los Spitz y, por lo

Tabla 2 Diferencias entre los principales tumores melanocíticos con fenotipo «spitzoide»

	Principales alteraciones genéticas implicadas	Ruta patogénica por la que se origina	Significado clínico
Nevus de Spitz	Mutaciones en <i>HRAS</i> , reordenamientos en <i>ALK</i> , <i>ROS1</i> , <i>RET</i> , <i>NTRK1</i> , <i>NTRK3</i> , <i>BRAF</i> , <i>MET</i>	IV	Tumor benigno
Melanocitoma de Spitz	Mutaciones en <i>HRAS</i> , reordenamientos en <i>ALK</i> , <i>ROS1</i> , <i>RET</i> , <i>NTRK1</i> , <i>NTRK3</i> , <i>BRAF</i> , <i>MET</i> Frecuente delección heterocigota de <i>CDKN2A</i> .	IV	Tumor de malignidad intermedia con capacidad de diseminación local y un riesgo su riesgo bajo/medio de transformación a melanoma si no es extirpado
Melanoma de Spitz	Mutaciones en <i>HRAS</i> , reordenamientos en <i>ALK</i> , <i>ROS1</i> , <i>RET</i> , <i>NTRK1</i> , <i>NTRK3</i> , <i>BRAF</i> , <i>MET</i> Frecuente delección homocigota de <i>CDKN2A</i>	IV	Tumor maligno
Melanoma spitzoide	<i>BRAF</i> , <i>NRAS</i> , <i>CDKN2A</i>	I	Tumor maligno
Melanoma por inactivación de <i>BAP1</i>	<i>BRAF</i> , <i>NRAS</i> , <i>BAP1</i>	I	Tumor maligno

tanto, no muestran las alteraciones genéticas características de estos. Un ejemplo serían los tumores spitzoides en adultos que siguen la ruta patogénica I y que frecuentemente muestran mutaciones en *BRAF*, *NF1* o *NRAS*. De hecho, y puesto que la transformación maligna de un tumor de Spitz benigno en un melanoma es un fenómeno raro, los melanomas de Spitz no son frecuentes. Son mucho más habituales los melanomas con aspecto spitzoide.

De entre los melanomas spitzoides, hay un grupo que requiere mención especial: se trata de los que presentan inactivación de *BAP1*. No hace mucho, estas lesiones melanocíticas se consideraban erróneamente en el espectro de los tumores de Spitz. No dejaba por ello de sorprender, que en su mayoría mostrasen mutaciones de *BRAF* o de *RAF1*⁶⁷, algo perfectamente entendible en el presente, ya que sabemos que estos melanomas pertenecen a la ruta patogénica I, de baja exposición solar, y las mutaciones en *BAP1* son un evento más en la transformación a melanoma. Por eso en el examen con hematoxilina eosina, la mayoría de los BAPomas corresponden a nevus combinados, con un nódulo focal del melanocitoma con mutación en *BAP1*, en el seno de un nevus común con mutaciones en *BRAF*. El nódulo del melanocitoma comparte la misma mutación en *BRAF* que el resto de los nevus debido a que la mutación en *BAP1* ha sido posterior a la de *BRAF*. A veces estos tumores muestran aspecto de tumor spitzoide, pero con infiltrado inflamatorio prominente, por lo que en el pasado, muchos fueron clasificados de nevus de Spitz en halo. Sin embargo, no todos los tumores melanocíticos spitzoides con prominente infiltrado son BAPomas. Así, verdaderos tumores de Spitz con fusiones en *NTRK1* pueden tener gran cantidad de linfocitos acompañantes.

Un tumor de Spitz atípico no es un melanocitoma de Spitz y, por lo tanto, no deberían ser términos intercambiables

Por el mismo motivo, el melanocitoma de Spitz pertenece a la ruta patogénica de la familia Spitz. Por consenso, un melanocitoma de Spitz debe mostrar delección del *CDKN2A* con negatividad para p16 pero en ausencia de aberraciones cromosómicas numéricas adicionales y sin otras mutaciones adicionales, especialmente en el promotor del *TERT*. Aunque los términos melanocitoma de Spitz y tumor de Spitz atípico se han intercambiado en muchas ocasiones en la literatura, el término melanocitoma de Spitz debería ser reservado para aquellas lesiones con las alteraciones genéticas comentadas.

Por otro lado, muchos de los nevus que en el pasado fueron clasificados como tumores de Spitz atípicos son hoy reconocidos como otros tipos de tumores melanocíticos incluidos en otras rutas patogénicas, como la I (de baja exposición solar), dadas sus alteraciones en *BRAF*, *NRAS* o *BAP1*.

El concepto de nevus de sitio especial

Algunos nevus melanocíticos muestran características atípicas o preocupantes en el estudio con hematoxilina eosina. Sin embargo, los estudios genético y molecular de estos nevus no han revelado resultados de riesgo en términos pronósticos o de progresión a malignidad. Esto hace pensar que las alteraciones histológicas son resultado de la localización de dichos nevus en zonas topográficas especiales (zonas de roce o exposición a otros agentes, por ejemplo)⁶⁸.

Tabla 3 Principales técnicas complementarias empleadas en el estudio de los tumores melanocíticos

	Definición de la técnica	Principales ventajas	Principales desventajas
Inmunohistoquímica	Detección de antígenos mediante anticuerpos marcados con sustancias coloreadas. Las zonas de los antígenos se verán de color al microscopio	Es barata y está extendida (accesible a prácticamente todos los laboratorios)	Solo permite detectar alteraciones genéticas cuando estas últimas tienen repercusión en la proteína (pérdida de antígenos, pérdida de expresión de la proteína) Muchas veces no puede distinguir entre proteína funcional y mutada
FISH	Hibridación de sondas genéticas marcadas con color, con segmentos del ADN de las células a estudiar	Permiten estudiar deleciones, amplificaciones y traslocaciones, según el tipo de sonda empleados. Permiten también saber si una deleción o un reordenamiento es homocigoto o heterocigoto	La evaluación de la técnica lleva tiempo La técnica no detecta mutaciones puntuales
Hibridación genómica comparada	Compara mediante hibridación el genoma de la célula problema con el de una célula normal. De este modo detecta pérdidas o ganancias de segmentos genéticos	Permite estudiar todo el material genético de la célula problema	Es una técnica cara y casi inaccesible a la mayoría de laboratorios Puede no detectar las pérdidas o ganancias de segmentos genéticos cuando son muy pequeños
PCR	Amplifica genes o segmentos de genes previamente seleccionados. Si se bloquean previamente los segmentos normales no mutados, la amplificación solo se producirá cuando los segmentos genéticos estén mutados	Permite el estudio rápido de mutaciones	No permite la investigación de reordenamientos genéticos del tipo de las traslocaciones o las amplificaciones
Técnicas de secuenciación masiva (NEXT generation)	Secuencian fragmentos muy grandes de cromosomas, incluso cromosomas enteros o todo el genoma de una célula	Permite la detección de alteraciones genéticas previamente no identificadas en un tumor «a estudiar» Es válida para la demostración de alteraciones numéricas, mutaciones, deleciones, inserciones y reordenamientos	Es una técnica cara y no accesible a todos los laboratorios, aunque va ganando terreno

Los principales «sitios especiales» son la mama y los pliegues corporales, el cuero cabelludo, el área genital y las zonas acrales⁶⁸.

Las alteraciones histológicas evidenciadas en estos nevus son variadas pero muchas veces preocupantes e incluyen confluencia de teclas, cierto grado de extensión pagetoide, áreas de fibrosis dérmica, infiltrados inflamatorios, pérdida de cohesión melanocítica en las teclas, patrón irregular de distribución de las teclas o hiper cromasia nuclear melanocítica. El conocimiento de las posibles alteraciones asociadas a cada localización anatómica es mandatorio para no realizar un sobrediagnóstico de melanoma en estos casos.

Otra de las importantes consideraciones sobre estos nevus de sitio especial es que, a pesar de mostrar atipia no son «nevus displásicos», entendiéndose por tal el concepto

de nevus marcador del riesgo de melanoma en algunas familias⁶⁹ y, por lo tanto, no deberían ser diagnosticados como tales.

Principales técnicas de detección de alteraciones genéticas usadas en la práctica diaria (tabla 3)

Los tumores melanocíticos muestran alteraciones genéticas desde su inicio, es decir, incluso cuando son benignos. También pueden existir alteraciones epigenéticas que inactiven al gen, sin necesidad de que haya alteraciones estructurales. Estas últimas no podrían ser, por lo tanto, detectadas por las técnicas genómicas habitualmente empleadas. Las

alteraciones genéticas son variadas, y van, por ejemplo, desde mutaciones puntuales hasta pérdidas de segmentos cromosómicos más o menos grandes, brazos completos, cromosomas enteros o duplicaciones de material genético (partes de cromosomas o cromosomas enteros).

Con la técnica de FISH logramos hibridaciones de sondas coloreadas y segmentos cromosómicos del tumor melanocítico. De ese modo, podemos detectar ausencia, cambio de posición (traslocaciones, fusiones, etc.) o amplificaciones de tales segmentos. Hay 3 sondas especiales que merecen mención en el diagnóstico de tumores melanocíticos de difícil filiación^{70,71}: sondas para las regiones *CCND1* (11q13), *RREB1* (6p25) y *MYB* (6q23). La combinación de las 3 ha dado buenos resultados en la distinción entre melanomas y nevus. Los resultados deben siempre ser contextualizados con los hallazgos histopatológicos. Así, por ejemplo, una sola traslocación de las mencionadas no es sinónimo de melanoma. De igual manera, un test negativo para varias sondas tampoco es garante absoluto de benignidad.

Con la hibridación genómica comparada (HGC), el genoma del tumor melanocítico es comparado con el de una célula normal adyacente a la lesión⁷². De ese modo se detectan pérdidas o ganancias de segmentos cromosómicos más o menos grandes, e incluso de cromosomas enteros. Solo cuando los segmentos son demasiado pequeños pueden quedar «invisibles» a la HGC. Mientras que los nevus no suelen tener alteraciones en las copias de segmentos cromosómicos (con algunas excepciones, como las amplificaciones de 11p vistas en algunos nevus de Spitz), los melanomas suelen presentar muchas alteraciones numéricas, que incluyen segmentos de cromosomas o cromosomas completos.

La PCR es una técnica de amplificación de segmentos cortos genómicos que permite detectar mutaciones en un determinado gen. Se basa en el principio siguiente: mediante un polímero sintético similar al ADN, se bloquean los segmentos normales del gen a estudiar, de tal manera que solo se amplifiquen en los ciclos de PCR aquellos segmentos mutados. Esta técnica da muy buenos resultados para la detección de mutaciones en *BRAF* y *NRAS*⁷³.

El resultado óptimo final de la transcripción y la traducción de un gen es la producción de proteína. Las proteínas pueden detectarse mediante inmunohistoquímica, que usa anticuerpos contra antígenos proteicos. De esta manera, por ejemplo, detectamos las cinasas citoplásmicas de muchos tumores de Spitz³⁶. También tiene valor la pérdida de expresión de proteína, que significa negatividad en inmunohistoquímica. Las limitaciones de esta técnica son aquellos casos de producción de proteínas anómalas no funcionales, en los que la inmunohistoquímica seguiría siendo positiva. Dentro de la inmunohistoquímica, merece mención especial el anticuerpo PRAME (del inglés *PReferentially expressed Antigen in MElanoma*), cuya expresión nuclear debe verse con preocupación ante una lesión melanocítica histológicamente atípica^{74,75}. La tinción con PRAME no debe evaluarse en términos absolutos (positividad/negatividad), sino relativos (intensidad y porcentaje de tinción), y debe siempre ser contextualizada con los hallazgos histológicos. Usada de esa manera ha contribuido mucho a la orientación de muchas lesiones melanocíticas en la práctica diaria. Uno de sus mayores inconvenientes son, sin embargo, los tumores melanocíticos de morfología spitzoide, donde los resultados con PRAME no son tan buenos como en otros tipos de

tumores melanocíticos. En este sentido, recientemente, sin embargo, hay un artículo reciente que ha presentado la combinación de la inmunohistoquímica para p16 y BRAF V600, como superior a PRAME en tumores de fenotipo spitzoide⁷⁶.

Complementariamente a las técnicas de secuenciación de segmentos genéticos cortos, se han desarrollado técnicas de secuenciación masiva, que permiten la secuenciación de fragmentos muy grandes de ADN. Además de poder estudiar el genoma entero, permiten el estudio selectivo del exoma, o de unos cuantos genes seleccionados. Esto permite detectar alteraciones genéticas incluso no descritas en un tumor concreto. Las secuenciaciones de nueva generación (*next generation sequencing* [NGS]) combinan secuenciaciones de material ingente de ADN con unos costes asequibles para el uso diagnóstico diario. La NGS es capaz de demostrar alteraciones numéricas, mutaciones, deleciones, inserciones y reordenamientos. Esta técnica ha sido usada con éxito en la categorización y diagnóstico del melanoma⁷⁷.

Conclusiones

En los últimos años se ha impuesto la evidencia de que los tumores melanocíticos malignos se desarrollan en rutas que implican alteraciones genéticas y epigenéticas acumulativas y que van desde precursores benignos, de malignidad intermedia, o formas malignas *in situ*, hasta el polo final maligno del espectro. Hasta la fecha, han sido identificadas 9 rutas patogénicas que acaban en algún tipo de melanoma. Algunas de estas rutas muestran una gran relación con exposición solar mientras que otras no están relacionadas con el sol. Cada ruta muestra unas alteraciones genéticas características identificables que nos han resultado cruciales para el diagnóstico correcto cada tumor melanocítico. La histopatología con hematoxilina-eosina sigue, no obstante, representando un papel diagnóstico fundamental y es el escenario en el que todas las demás técnicas auxiliares usadas, se deben contextualizar.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Uribe P, Wistuba II, González S. BRAF mutation: A frequent event in benign, atypical, and malignant melanocytic lesions of the skin. *Am J Dermatopathol*. 2003;25:365–70.
2. Kumar R, Angelini S, Snellman E, Hemminki K. BRAF mutations are common somatic events in melanocytic nevi. *J Invest Dermatol*. 2004;122:342–8.
3. Carr J, Mackie RM. Point mutations in the N-ras oncogene in malignant melanoma and congenital naevi. *Br J Dermatol*. 1994;131:72–7.
4. Bauer J, Curtin JA, Pinkel D, Bastian BC. Congenital melanocytic nevi frequently harbor NRAS mutations but no BRAF mutations. *J Invest Dermatol*. 2007;127:179–82.
5. Luther H, Altmeyer P, Garbe C, Ellwanger U, Jahn S, Hoffmann K, et al. Increase of melanocytic nevus counts in children during 5 years of follow-up and analysis of associated factors. *Arch Dermatol*. 1996;132:1473–8.
6. Gallagher RP, McLean DI. The epidemiology of acquired melanocytic nevi. A brief review. *Dermatol Clin*. 1995;13:595–603.

7. Marrot L, Belaïdi JP, Jones C, Perez P, Meunier JR. Molecular responses to stress induced in normal human caucasian melanocytes in culture by exposure to simulated solar UV. *Photochem Photobiol.* 2005;81:367–75.
8. Sarkar S, Gaddameedhi S. Solar ultraviolet-induced DNA damage response: Melanocytes story in transformation to environmental melanomagenesis. *Environ Mol Mutagen.* 2020;61:736–51.
9. Sahu RP. Deciphering mechanisms of UVR-induced tumoral immune checkpoint regulation against melanoma. *Cancer Res.* 2019;79:2805–7.
10. Rass K, Reichrath J. UV damage and DNA repair in malignant melanoma and nonmelanoma skin cancer. *Adv Exp Med Biol.* 2008;624:162–78.
11. Purdue MP, From L, Kahn HJ, Armstrong BK, Kricger A, Gallagher RP, et al. Etiologic factors associated with p53 immunostaining in cutaneous malignant melanoma. *Int J Cancer.* 2005;117:486–93.
12. Cleaver JE, Crowley E. UV damage DNA repair and skin carcinogenesis. *Front Biosci.* 2002;7:d1024–43.
13. Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, Patel HN, Busam KJ, Kutzner H, et al. Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med.* 2005;353:2135–47.
14. Seidl H, Weger W, Wolf P, Kerl H, Schaidler H. Lack of oncogenic mutations in the c-Met catalytic tyrosine kinase domain in acral lentiginous melanoma. *Int J Dermatol.* 2008;47:1327–9.
15. Furney SJ, Turajlic S, Stamp G, Thomas JM, Hayes A, Strauss D, et al. The mutational burden of acral melanoma revealed by whole-genome sequencing and comparative analysis. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2014;27:835–8.
16. Van Weelden H, de Gruijl FR, van der Putte SC, Toonstra J, van der Leun JC. The carcinogenic risks of modern tanning equipment: Is UV-A safer than UV-B? *Arch Dermatol Res.* 1988;280:300–7.
17. Baadsgaard O, Lisby S, Wantzin GL, Wulf HC, Cooper KD. Rapid recovery of Langerhans cell alloreactivity, without induction of autoreactivity, after in vivo ultraviolet A, but not ultraviolet B exposure of human skin. *J Immunol.* 1989;142:4213–8.
18. Indini A, Fiorilla I, Ponzone L, Calautti E, Audrito V. NAD/NAMPT and mTOR pathways in melanoma: Drivers of drug resistance and prospective therapeutic targets. *Int J Mol Sci.* 2022;23:9985.
19. Faktor J, Grasso G, Zavadil Kokas F, Kurkowiak M, Mayordomo MY, Kote S, et al. The effects of p53 gene inactivation on mutant proteome expression in a human melanoma cell model. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2020;1864:129722.
20. Marchetti P, Trinh A, Khamari R, Kluza J. Melanoma metabolism contributes to the cellular responses to MAPK/ERK pathway inhibitors. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2018;1862:999–1005.
21. Zhou YX, Wang X, Pang DQ, Wang YM, Bai J, Tian F, et al. Nomogram incorporating the WNT/ β -Catenin signaling pathway for predicting the survival of cutaneous melanoma. *Int J Gen Med.* 2021;14:2751–61.
22. Shtivelman E, Davies MQ, Hwu P, Yang J, Lotem M, Oren M, et al. Pathways and therapeutic targets in melanoma. *Oncotarget.* 2014;5:1701–52.
23. Paluncic J, Kovacevic Z, Jansson PJ, Kalinowski D, Merlot AM, Huang MLH, et al. Roads to melanoma: Key pathways and emerging players in melanoma progression and oncogenic signaling. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research.* 2016;1863:770–84.
24. Hoeflich KP, Eby MT, Forrest WF, Gray DC, Tien JY, Stern HM, et al. Regulation of ERK3/MAPK6 expression by BRAF. *Int J Oncol.* 2006;29:839–49.
25. VanBrocklin MW, Verhaegen M, Soengas MS, Holmen SL. Mitogen-activated protein kinase inhibition induces translocation of Bmf to promote apoptosis in melanoma. *Cancer Res.* 2009;69:1985–94.
26. Sullivan RJ. The role of mitogen-activated protein targeting in melanoma beyond BRAFV600. *Curr Opin Oncol.* 2016;28:185–91.
27. Blokx WA, van Dijk MC, Ruiter DJ. Molecular cytogenetics of cutaneous melanocytic lesions —diagnostic, prognostic and therapeutic aspects. *Histopathology.* 2010;56:121–32.
28. San Juan L, Cagigal ML, Fernandez-Flores A, Mayorga M, Gandarillas A. Protooncogene MYC drives human melanocyte melanogenesis and senescence. *Cancer Gene Ther.* 2022;29(8-9):1160–7.
29. Joselow A, Lynn D, Terzian T, Box NF. Senescence-like phenotypes in human nevi. *Methods Mol Biol.* 2017;1534:175–84.
30. Leclerc J, Ballotti R, Bertolotto C. Pathways from senescence to melanoma: Focus on MITF sumoylation. *Oncogene.* 2017;36:6659–67.
31. Ko JM, Velez NF, Tsao H. Pathways to melanoma. *Semin Cutan Med Surg.* 2010;29:210–7.
32. Law MH, Macgregor S, Hayward NK. Melanoma genetics: Recent findings take us beyond well-traveled pathways. *J Invest Dermatol.* 2012;132:1763–74.
33. Elder DE, Barnhill RL, Bastian BC, Cook MG, de la Fouchardière A, Gerami P, et al. Melanocytic tumour classification and the pathway concept of melanoma pathogenesis. En: Elder D, Massi D, Scolyer R, Willemze R, editores. WHO classification of skin tumours. 4th ed. Lyon: France: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2018. p. 66–71.
34. Dessinioti C, Geller AC, Stratigos AJ. A review of nevus-associated melanoma: What is the evidence? *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2022;36:1927–36.
35. Lai M, Piana S, Pellacani G, Longo C, Pampena R. Prevalence and clinical-pathological features of nevus-associated versus de novo melanoma: A retrospective cross-sectional study of 2806 cases. *Dermatol Pract Concept.* 2022;12:e2022094.
36. Yeh I. Update on classification of melanocytic tumors and the role of immunohistochemistry and molecular techniques. *Semin Diagn Pathol.* 2022;39:248–56.
37. Wiesner T, Kutzner H, Cerroni L, Mihm MC Jr, Busam KJ, Murali R. Genomic aberrations in spitzoid melanocytic tumours and their implications for diagnosis, prognosis and therapy. *Pathology.* 2016;48:113–31.
38. Elder DE, Bastian BC, Cree IA, Massi D, Scolyer RA. The 2018 World Health Organization Classification of Cutaneous, Mucosal, and Uveal Melanoma: Detailed analysis of 9 distinct subtypes defined by their evolutionary pathway. *Arch Pathol Lab Med.* 2020;144:500–22.
39. Foulkes WD, Flanders TY, Pollock PM, Hayward NK. The CDKN2A (p16) Gene and Human Cancer. *Molecular Medicine.* 1997;3:5–20.
40. Rayess H, Wang MB, Srivatsan ES. Cellular senescence and tumor suppressor gene p16. *Int J Cancer.* 2012;130:1715–25.
41. Sviderskaya EV, Hill SP, Evans-Whipp TJ, Chin L, Orlow SJ, Easty DJ, et al. p16(Ink4a) in melanocyte senescence and differentiation. *J Natl Cancer Inst.* 2002;94:446–54.
42. 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.
43. Jenkins NC, Liu T, Cassidy P, Leachman SA, Boucher KM, Goodson AG, et al. The p16(INK4A) tumor suppressor regulates cellular oxidative stress. *Oncogene.* 2011;30:265–74.
44. Yeh I, Busam KJ. Spitz melanocytic tumours —a review. *Histopathology.* 2022;80:122–34.
45. Cheng TW, Ahern MC, Giubellino A. The spectrum of spitz melanocytic lesions: from morphologic diagnosis to molecular classification. *Front Oncol.* 2022;12:889223.
46. Šekoranja D, Pižem J, Luzar B. An update on molecular genetic aberrations in spitz melanocytic proliferations: Correlation with

- morphological features and biological behavior. *Acta Med Acad.* 2021;50:157–74.
47. Harms PW, Hocker TL, Zhao L, Chan MP, Andea AA, Wang M, et al. Loss of p16 expression and copy number changes of CDKN2A in a spectrum of spitzoid melanocytic lesions. *Hum Pathol.* 2016;58:152–60.
 48. Wan X, Liu R, Li Z. The prognostic value of HRAS mRNA expression in cutaneous melanoma. *Biomed Res Int.* 2017;2017:5356737.
 49. Raghavan SS, Peternel S, Mully TW, North JP, Pincus LB, LeBoit PE, et al. Spitz melanoma is a distinct subset of spitzoid melanoma. *Mod Pathol.* 2020;33:1122–34.
 50. Dal Pozzo CA, Cappellesso R. The morpho-molecular landscape of spitz neoplasms. *Int J Mol Sci.* 2022;23:4211.
 51. Yeh I. New and evolving concepts of melanocytic nevi and melanocytomas. *Mod Pathol.* 2020;33 Suppl 1:1–14.
 52. Ferrara G, Mariani MP, Auriemma M. BAP1-inactivated melanocytic tumour with borderline histopathological features (BAP1-inactivated melanocytoma): A case report and a reappraisal. *Australas J Dermatol.* 2021;62:e88–91.
 53. Piris A, Mihm MC Jr, Hoang MP. BAP1 and BRAFV600E expression in benign and malignant melanocytic proliferations. *Hum Pathol.* 2015;46:239–45.
 54. Pilarski R, Carlo MI, Cebulla C, Abdel-Rahman M. BAP1 Tumor Predisposition Syndrome. En: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, editores. *GeneReviews*(®). Seattle (WA): University of Washington, Seattle. Copyright© 1993-2022, University of Washington, Seattle. *GeneReviews* is a registered trademark of the University of Washington, Seattle. All rights reserved; 1993.
 55. Cole YC, Zhang YZ, Gallo B, Januszewski AP, Nastase A, Essex DJ, et al. Correlation between BAP1 localization driver mutations, and patient survival in uveal melanoma. *Cancers (Basel).* 2022;14:4105.
 56. Chen PL, Neishaboori N, Tetzlaff MT, Chen WS, Aung PP, Curry JL, et al. BAP-1 expression status by immunohistochemistry in cellular blue nevus and blue nevus-like melanoma. *Am J Dermatopathol.* 2020;42:313–21.
 57. Ebbelaar CF, Schrader AMR, van Dijk M, Meijers RWJ, de Leng WWJ, Bloem LT, et al. Towards diagnostic criteria for malignant deep penetrating melanocytic tumors using single nucleotide polymorphism array and next-generation sequencing. *Mod Pathol.* 2022;35:1110–20.
 58. Eiger-Moscovich M, Eagle RC, Milman T. β -catenin and periodic acid-schiff distinguish granular cell nevus from deep penetrating nevus. *Arch Pathol Lab Med.* 2021;145:1475–6.
 59. Raghavan SS, Saleem A, Wang JY, Rieger KE, Brown RA, Novoa RA. Diagnostic utility of LEF1 immunohistochemistry in differentiating deep penetrating nevi from histologic mimics. *Am J Surg Pathol.* 2020;44:1413–8.
 60. Dadras SS, Lu J, Zembowicz A, Flotte TJ, Mihm MC. Histological features and outcome of inverted type-A melanocytic nevi. *J Cutan Pathol.* 2018;45:254–62.
 61. De la Fouchardiere A, Tirode F, Castillo C, Buisson A, Boivin F, Macagno N, et al. Attempting to solve the pigmented epithelioid melanocytoma (PEM) conundrum: PRKAR1A inactivation can occur in different genetic backgrounds (common blue, and spitz subgroups) with variation in their clinicopathologic characteristics. *Am J Surg Pathol.* 2022;46:1106–15.
 62. Cohen JN, Joseph NM, North JP, Onodera C, Zembowicz A, LeBoit PE. Genomic analysis of pigmented epithelioid melanocytomas reveals recurrent alterations in PRKAR1A, and PRKCA genes. *Am J Surg Pathol.* 2017;41:1333–46.
 63. Tarasen A, Carlson JA, Leonard MK, Merlino G, Kaetzel D, Słominski AT. Pigmented epithelioid melanocytoma (PEM)/animal type melanoma (ATM): Quest for an origin. Report of one unusual case indicating follicular origin and another arising in an intradermal Nevus. *Int J Mol Sci.* 2017;18:1769.
 64. Gill P, Prieto VG, Austin MT, Giubellino A, Torres-Cabala CA. Diagnostic utility of PRAME in distinguishing proliferative nodules from melanoma in giant congenital melanocytic nevi. *J Cutan Pathol.* 2021;48:1410–5.
 65. Yélamos O, Arva NC, Obregon R, Yazdan P, Wagner A, Guitart J, et al. A comparative study of proliferative nodules and lethal melanomas in congenital nevi from children. *Am J Surg Pathol.* 2015;39:405–15.
 66. Zembowicz A. Blue Nevi and Related Tumors. *Clin Lab Med.* 2017;37:401–15.
 67. Donati M, Martinek P, Steiner P, Grossmann P, Vanecek T, Kastnerova L, et al. Novel insights into the BAP1-inactivated melanocytic tumor. *Mod Pathol.* 2022;35:664–75.
 68. Ahn CS, Guerra A, Sangüeza OP. Melanocytic Nevi of Special Sites. *Am J Dermatopathol.* 2016;38:867–81.
 69. Silva JH, Sá BC, Avila AL, Landman G, Duprat Neto JP. Atypical mole syndrome and dysplastic nevus: Identification of populations at risk for developing melanoma —review article. *Clinics (Sao Paulo).* 2011;66:493–9.
 70. Ferrara G, de Vanna AC. Fluorescence in situ hybridization for melanoma diagnosis: A review and a reappraisal. *Am J Dermatopathol.* 2016;38:253–69.
 71. Lai Y, Wu Y, Liu R, Lu A, Zhou L, Jia L, et al. Four-color fluorescence in-situ hybridization is useful to assist to distinguish early stage acral and cutaneous melanomas from dysplastic junctional or compound nevus. *Diagn Pathol.* 2020;15:51.
 72. Vanison C, Tanna N, Murthy AS. Comparative genomic hybridization for the diagnosis of melanoma. *Eur J Plast Surg.* 2010;33:45–8.
 73. Lewis TB, Robison JE, Bastien R, Milash B, Boucher K, Samlowski WE, et al. Molecular classification of melanoma using real-time quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Cancer.* 2005;104:1678–86.
 74. Chen YP, Zhang WW, Qiu YT, Ke LF, Chen H, Chen G. PRAME is a useful marker for the differential diagnosis of melanocytic tumours and histological mimics. *Histopathology.* 2023;82:285–95.
 75. Cazzato G, Cascardi E, Colagrande A, Belsito V, Lospalluti L, Foti C, et al. PRAME immunopositivity in 275 cutaneous melanocytic lesions: A double institutional experience. *Diagnostics (Basel).* 2022;12:2197.
 76. McAfee JL, Scarborough R, Jia XS, Azzato EM, Astbury C, Ronen S, et al. Combined utility of p16 and BRAF V600E in the evaluation of spitzoid tumors: Superiority to PRAME and correlation with FISH. *J Cutan Pathol.* 2023;50:155–68.
 77. Buchanan T, Amouzegar A, Luke JJ. Next-generation immunotherapy approaches in melanoma. *Curr Oncol Rep.* 2021;23:116.