








Densidad de Breslow, área tumoral calculada y anchura invasiva. Nueva variable pronóstica en el melanoma

Breslow density, calculated tumor area and invasive width. New prognostic variables in melanoma

Aleida Urquiza Rodríguez¹  
María Caridad de Armas Fernández¹ 
Yakelin León García¹ 
Josué de la Torre Pupo¹ 

1 Centro de Investigaciones Médico Quirúrgicas. CIMEQ. La Habana, Cuba.

Recibido: 12/7/2021
Aceptado: 13/3/2022

RESUMEN

Los biomarcadores pronósticos histomorfológicos que pueden ser medidos usando sólo una tinción de hematoxilina y eosina son muy atractivos porque son sencillos y baratos. El espesor de *Breslow* o índice de *Breslow* es la piedra angular de la estadificación del melanoma maligno, es uno de los factores pronósticos más importantes para los pacientes con un melanoma cutáneo y la base de la clasificación TNM del Comité Conjunto Estadounidense sobre el Cáncer (AJCC). Aunque recientemente se han desarrollado ensayos moleculares para establecer el pronóstico del melanoma, su alto coste limita su utilización. Esta revisión proporciona un amplio resumen para dar a conocer la precisión y el valor pronóstico de nuevas variables predictivas, baratas y fácil de medir en el melanoma como la densidad de *Breslow*, área tumoral calculada, puntuación de carga específica y la anchura invasiva, recientemente estudiadas; complementarias al Índice de Breslow, que tienen la peculiaridad de potenciar el pronóstico y la estadificación del melanoma maligno.

Palabras clave: melanoma; Breslow; variables pronóstica.

ABSTRACT

Histomorphologic prognostic biomarkers that can be measured using only an hematoxylin and eosin stain are very attractive because they are simple and cheap. Breslow thickness or Breslow index (BI) is the cornerstone of staging of malignant melanoma, one of the most important prognostic factors for patients with cutaneous melanoma and the basis of the American Joint Committee on Cancer (AJCC) TNM classification. Although molecular assays have recently been developed to establish melanoma prognosis, their high cost limits their use. This review provides a comprehensive summary to provide insight into the



accuracy and prognostic value of new, inexpensive and easy to measure predictive variables in melanoma with the Breslow Density (BD), Calculated Tumor Area (CTA), Targeted Burden Score (TBS) and Invasive Breadth, recently studied, complementary to IB and which have the peculiarity of enhancing prognosis and staging of malignant melanoma.

Key words: melanoma; Breslow; prognostic variables.

Introducción

El Melanoma Maligno Cutáneo (MMC) representa entre el 2-4 % de los tumores malignos de piel, sin embargo, es el responsable de hasta el 80 % de las muertes por esta causa.¹ El MMC es una enfermedad neoplásica derivada de los melanocitos epidérmicos, son células que durante el desarrollo embrionario migraron desde la cresta neural hasta diversos tejidos de origen ectodérmico, donde producen la melanina. Esta neoplasia se genera en los melanocitos de la capa basal de la epidermis desde donde se extiende a las capas más superficiales y a la dermis e hipodermis en profundidad.²

En cuanto a Cuba, Osorio García y cols.², en 2008, publicaron que anualmente se diagnostican un promedio de 130 casos nuevos de MMC, que sitúa al país entre los de baja incidencia en este sentido. Más recientemente, de acuerdo a lo reportado en el anuario estadístico³ de 2019, Yamila Oro-Pozo y col.⁴, en 2020, en Cuba se reportaron 491 defunciones por algún tipo de cáncer de piel.

El MMC es un cáncer de piel con un mal pronóstico cuando la enfermedad está avanzada, por lo que es importante estratificar con precisión el riesgo de progresión de los pacientes con melanoma primario.⁵ El estándar de oro para la estratificación del riesgo, hasta enero de 2018, ha sido el sistema de estadificación *del American Joint Committee on Cancer (AJCC)*⁶, versión 8. La estadificación sigue evolucionando, reflejando el hecho de que el sistema TNM no predice a la perfección el resultado de los individuos. Por lo tanto, la búsqueda de nuevos biomarcadores de pronóstico es primordial. Se espera que los biomarcadores de pronóstico surjan de la revolución en nuestra comprensión de la patología molecular del melanoma, pero puede haber biomarcadores de pronóstico morfológico simples, baratos y rápidos escondidos a la vista en las mismas secciones teñidas con hematoxilina y eosina (H&E) utilizadas para diagnosticar el melanoma.⁵⁻⁸

La categoría T se determina por el espesor de Breslow, la ulceración y la microsateletosis. Además, se considera que características como los linfocitos que infiltran el tumor, la regresión, el índice mitótico, la fase de crecimiento, la invasión perineural y la invasión linfovascular tienen valor pronóstico, pero no se utilizan para la estadificación, siendo el grosor de *Breslow* la piedra angular desde su documentación en 1970 y su posterior validación.⁷



Enfoque histórico

En 1970, el patólogo *Alexander Breslow* en la Universidad *George Washington*, fue el primero que habló de la invasión como un factor para el pronóstico del MMC.⁹ *Breslow*, en su artículo original, buscaba una medida del volumen invasivo, pero descubrió que el grosor era el mejor predictor.¹⁰

En reconocimiento a su contribución, la profundidad de la invasión del MMC es conocida por la profundidad del epónimo de *Breslow*. Estudios posteriores confirmaron y refinaron el papel de la profundidad de la invasión en el pronóstico del Melanoma. En la actualidad, el índice de Breslow (IB) cuyo valor se mide en milímetros, se estratifica en 5 categorías: <0.8mm, 0.8 - 1.0 mm, 1.01 - 2.0 mm, 2.01 - 4.0 mm, y > 4.0 mm. Junto con la ulceración, ambos son los factores pronósticos independientes más importantes en el MMC no metastásico.⁹

El máximo espesor tumoral debe ser medido con un micrómetro ocular calibrado, se debe medir desde el límite superior de la capa granulosa (o del estrato espinoso en ausencia de capa granulosa) hasta el punto más profundo del tumor, si el tumor estuviera ulcerado se debe comenzar a medir desde la base de la úlcera.^{1,9} La medición se debe redondear a las décimas de milímetros, lo más cercano a 0,1mm y no a 0,01mm, como se recomendaba en anteriores versiones. De esta forma, para melanomas con un grosor entre 0,75-0,84 mm se debe redondear a 0,8mm e informados como T1b. Por ejemplo, grosores de entre 1,01 y 1,04mm deben ser informados como 1,0mm.^{9,11}

El espesor de *Breslow* puede presentar dificultad a la hora de medir la presencia de un nevus preexistente o variantes como melanomas nevoides por la apariencia de maduración de estas células en la dermis. Puede ser también difícil de valorar en presencia de extensión perianexial, cuando se disponen en torno a folículos pilosos, puede ser compleja. Otro problema es la medición del Breslow en piel acral, en donde puede existir una gran hiperplasia epidérmica acompañante y otro problema adicional son los melanomas de morfología «verrucosa» o «papilomatosa», en los que el espesor de Breslow varía enormemente de las papilas a los valles.¹¹

El IB no es sumatorio: el espesor de un melanoma que alcanza el borde de la biopsia no se puede sumar al espesor evidenciado en la biopsia de ampliación de márgenes.¹¹

Teniendo en cuenta los elementos anteriormente expuestos, nos enfocamos en revisar los nuevos hallazgos reportados en la literatura sobre nuevos Indicadores morfométricos que permiten potenciar el pronóstico y estadificación del MMC.



Desarrollo

El espesor de *Breslow* se mide en una dimensión, pero la sección del tejido tiene dos dimensiones, un hecho que intentaron explotar *Rashed, Saldanha* y col.¹¹, (2017). Estos autores idearon una característica llamada densidad de *Breslow* (DB) que, en combinación con el espesor de *Breslow*, creó una característica compuesta llamada puntuación de carga específica (TBS de acuerdo a sus siglas en inglés). Posteriormente, este mismo grupo, concibió una nueva característica, el área tumoral calculada (ATC),¹² que proporciona un área en milímetros cuadrados de células de melanoma invasivas en la misma sección microscópica utilizada para medir el Índice de *Breslow* IB (Figura 1) El área tumoral calculada (ATC) se diseñó para que fuera rápida y sencilla, de modo que cualquier patólogo pudiera medirla prospectivamente durante la práctica rutinaria.¹²

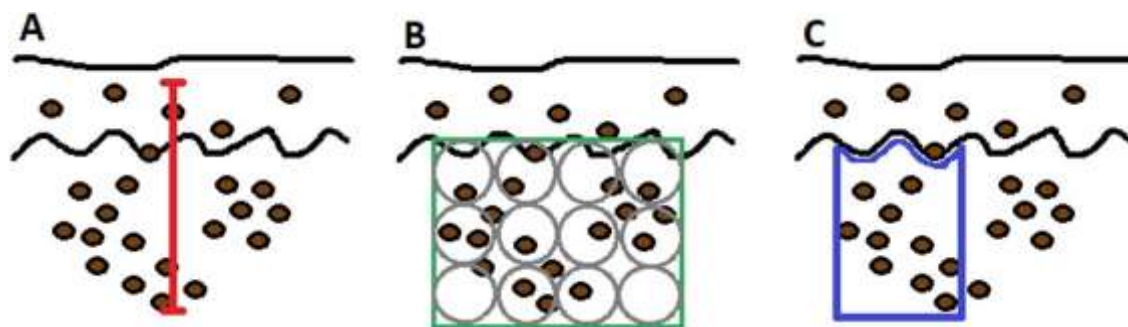


Fig.1. Representación esquemática del índice de Breslow, área tumoral calculada y densidad de *Breslow* en el melanoma. A) Índice de *Breslow* (IB) (mm). B) Área tumoral calculada (ATC).C) Densidad de *Breslow* (DB). Adaptado de *Bosch-Amate X.*, y col.¹², 2020.

En la zona de medición del IB se proyecta una caja que incluya la totalidad del melanoma invasor y se estima el porcentaje ocupado por células invasoras. Luego se mide la altura y el ancho de la caja en mm a partir del diámetro de las lentes del objetivo del microscopio. Se calcula el ATC mediante la fórmula: altura \times ancho \times proporción. Por ejemplo, si el objetivo mide 5 mm y la caja (como en la figura 1B) mide 3 objetivos de alto y 4 objetivos de ancho, y la proporción del área ocupada por células tumorales es del 20%, el ATC sería: $15 \times 20 \times 20/100 = 60 \text{ mm}^2$. Densidad de *Breslow*, con el aumento $\times 10$ se proyecta una ventana en la zona de medición del IB; límite inferior: célula de melanoma más profunda, límite superior: membrana basal, y ancho dado por el campo de aumento $\times 10$; mover horizontalmente la ventana hasta encontrar el área de mayor densidad del melanoma dérmico sin perder la célula más profunda; calcular el porcentaje del estroma dérmico ocupado por células de melanoma con una precisión del 5% (en puntuaciones $< 5\%$ o $> 95\%$ calcular el área con una precisión del 1%).

Densidad de BRESLOW (DB)

Recientemente *Saldanha* y cols.⁸⁻¹⁰(2017,2018), describieron una característica de este tipo que denominaron densidad de *Breslow* (DB), la cual puede medirse en segundos en la sección de H&E utilizada para el diagnóstico y que prácticamente no tiene un coste adicional. La DB es una estimación del porcentaje de la dermis ocupado por las células del melanoma en la posición en la que se mide el grosor de *Breslow*, con la premisa de que, de 2 melanomas equivalentes desde el punto de vista del pronóstico, el que tenga la mayor DB tendrá un peor resultado.⁸

Dado que la DB es tan sencilla de medir por un patólogo y no requiere ningún equipo especial adicional, es particularmente susceptible de ser adoptada en la práctica clínica.^{5, 8}

Saldanha y cols.⁸ (2018), demostraron que la medición de la DB es exacta y precisa, y que conserva su valor pronóstico independiente, incluso cuando se ajusta por covariables pronóstica bien reconocidas. La DB explica la supervivencia específica del melanoma (MSS) mejor que el espesor de *Breslow* por sí solo.

El IB y la DB se utilizan mejor juntas y existen dos maneras de hacerlo. En primer lugar, demostraron que la DB podría ser una forma novedosa de elevar el estadio T de "a" a "b".⁸ En segundo lugar, mostraron que la DB y el IB pueden combinarse en una puntuación y que ésta puede utilizarse como complemento de la AJCC8.⁸ A esta puntuación se le llamó puntuación de la carga objetivo (TBS, por sus siglas en inglés).

La variable compuesta se calculó como $TBS = BT \times BD / 100$.

Donde, BT es el espesor de *Breslow*, de acuerdo a sus siglas en inglés y BD es la densidad de *Breslow* de acuerdo a sus siglas en inglés. La división por 100 fue simplemente para reducir la escala de la DB de 1-99 a 0,01-0,99, de modo que sus valores fueran más cercanos en magnitud a los valores típicos del IB⁸ (Figura.2).



Fig. 2. Ilustración de la ventana de la DB. La DB fue el porcentaje estimado de dermis disponible dentro de una ventana específica (líneas marrones) ocupada por células de melanoma invasivo (círculos azules).

Adaptado de *Saldanha, G., y col.*⁸, 2018.



La ventana de la DB era un rectángulo tosco, imaginado, con un ancho aproximado de 2 mm y una altura que se extendía hasta la célula de melanoma invasivo más profunda (círculo amarillo en la Figura. 2). La ventana se ajustó lateralmente para maximizar la DB, con la condición de que la misma siempre tuviera que contener la célula de melanoma más profunda. La parte superior de la ventana seguía la base de la epidermis, pasando por debajo de los nidos de unión. La parte inferior de la ventana reprodujo las principales ondulaciones de la superficie, como se ilustra en la Fig. 2, pero se ignoraron las ondulaciones menores. Las principales estructuras que atraviesan la dermis, como los folículos pilosos, no se consideraron parte de la dermis disponible. En muchos microscopios, el objetivo $\times 10$ tiene un diámetro de ~ 2 mm y esto fue útil para definir los bordes laterales de la ventana. Una vez que se construyó mentalmente la ventana, se estimó la DB al 5% más cercano, excepto por debajo del 5% y por encima del 95%, donde se utilizó el 1% más cercano.⁸

El IB es una medida cuantitativa unidimensional, mientras que la DB es una medida semicuantitativa bidimensional que complementa al IB.⁵

Área tumoral calculada (ATC)

Se ha sugerido que el volumen tumoral podría ser un factor pronóstico más importante que el IB. Recientemente, *Saldanha* y cols.⁷(2019), han publicado y analizado la utilidad del área tumoral calculado (ATC) como marcador pronóstico. El ATC es una medida bidimensional que evalúa el área ocupada por el melanoma en la zona de máxima invasión donde se mide el IB.⁷

Biomarcadores y puntuación del ATC

El área tumoral calculada representa un área transversal estimada (en milímetros cuadrados) de células de melanoma invasivas en una sección transversal que contiene toda la amplitud del tumor medida en la misma sección utilizada para determinar el grosor de *Breslow*. Normalmente, la anchura de la lesión estaba presente en una sola sección transversal. Cuando la sección transversal requería la división en múltiples piezas para encajar en un bloque de tejido, se utilizaron los casos en los que el cálculo del ATC podía reconstruirse a partir de las piezas separadas. Si había células de melanoma invasivas en el margen quirúrgico periférico, no se podía calcular el ATC, excepto cuando una biopsia parcial y la posterior resección completa permitían la medición del ATC a partir de ambas muestras.⁷ La medición del ATC supuso la creación de una caja virtual de tamaño arbitrario que contenía todas las células de melanoma invasivas en la sección (Figura.3). La dimensión de la caja se estimó a partir de los diámetros de las lentes de los objetivos del microscopio o de fracciones de los mismos, sin tener en cuenta si la caja se extendía más allá de los límites de la sección de tejido. Se estimó la proporción de toda la caja virtual (no sólo la dermis) ocupada por las células de melanoma invasivas, y el valor del ATC se calculó a partir de la altura



de la caja \times la anchura de la caja \times la proporción dividida por 100, lo que arrojó una estimación en milímetros cuadrados (mm^2).⁷

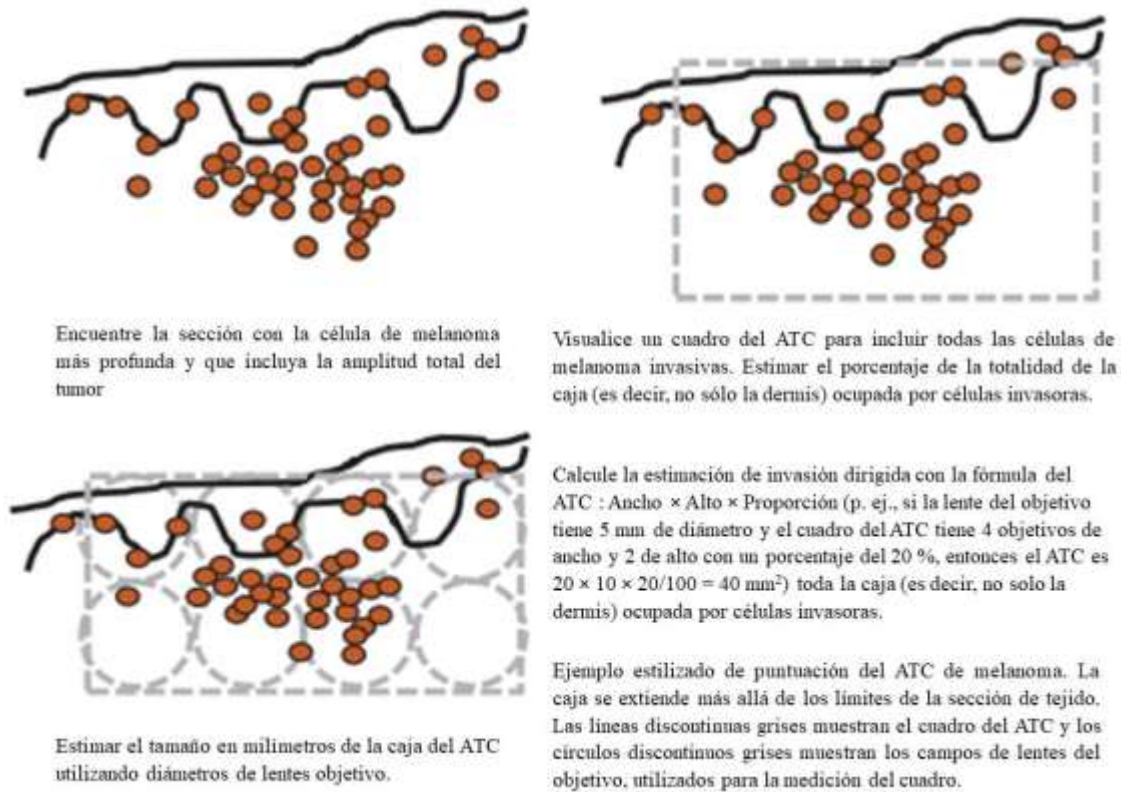


Fig. 3. Método de puntuación del área tumoral calculada (ATC). Adaptado de *Saldanha, G., y col.*⁷, 2019.

Es difícil romper el paradigma que representa el IB; sin embargo, resulta lógico que medidas bidimensionales puedan reflejar mejor la carga tumoral y su potencial metastásico.⁷

Anchura invasiva

La anchura invasiva histológica es factible de medir. Después de recibir un melanoma primario en el laboratorio de patología, la lesión se corta en serie, perpendicularmente a la epidermis, y cada una de ellas se procesa para su evaluación histológica, a menos que la lesión sea especialmente grande. Así, la anchura del melanoma invasivo en cualquier sección transversal podría medirse tan fácilmente como el IB.¹³ Por el contrario, las secciones transversales seriadas dificultarían una medición microscópica en el eje longitudinal. Se han investigado las dimensiones clínicas y

macroscópicas en cuanto a su valor pronóstico, pero éstas son sólo estimaciones aproximadas de una verdadera medición microscópica.¹³

Saldanha y cols.¹³(2020), definieron la anchura invasiva como la distancia entre las 2 células de melanoma más periféricas en una sección transversal identificada microscópicamente y medida con una precisión de 0,1 mm. Para minimizar la variabilidad inter observador, se midió siempre en la misma sección que la utilizada para el IB. La medición se realizó a lo largo de un plano aproximadamente paralelo a la epidermis y perpendicular al IB, aunque las ondulaciones de la superficie a veces hacían que esto fuera sólo aproximadamente cierto. Cuando sólo había un único foco de células escasamente invasivas, se estableció arbitrariamente un límite de anchura inferior de 0,1 mm.¹³ El principio de la técnica se muestra en la Figura 4. El área del tumor se midió mediante el método del ATC, tal y como se ha descrito; en resumen, se visualizó una caja que contenía todas las células invasivas del melanoma en el mismo portaobjetos en el que se midió el IB, se estimó la proporción de la caja ocupada por las células invasivas y el ATC en mm² fue la altura (mm) x anchura (mm) x proporción.¹³ La anchura invasiva se definió como la distancia entre las 2 células de melanoma invasivas más periféricas en la misma sección transversal que se utilizó para medir el IB y se midió con una precisión de 0,1 mm, y un valor mínimo de 0,1 mm. La medición se realizó en un plano aproximadamente paralelo a la epidermis y perpendicular al de la medición del IB. La anchura se indica mediante una línea negra con flechas dobles. La escala de 1 mm se indica con una línea negra.

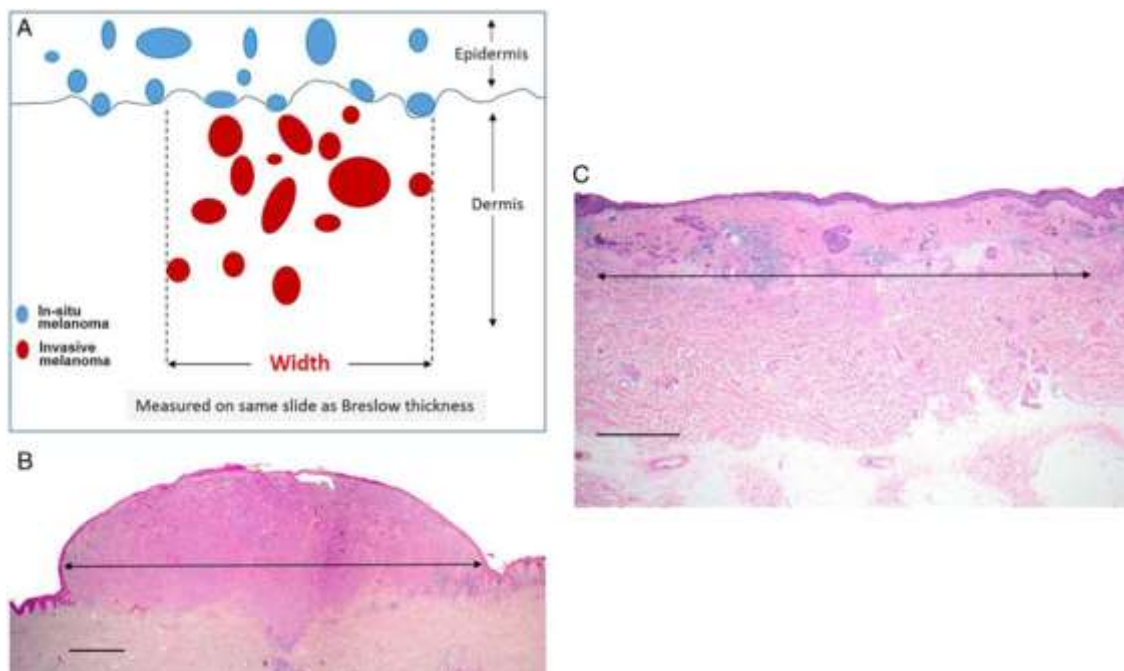


Fig. 4. A, Método de medición de la anchura del melanoma invasivo. Anchura invasiva en un melanoma grueso (B) y fino (C). Adaptado de *Saldanha, G.*, y col.¹³, 2020.



ISSN: 1995-9427 RNPS: 2162

<http://revcimeq.sld.cu/index.php/img>
Vol. 14 No. 3 (Suplemento) | 2022



El concepto de utilizar tanto el IB como la anchura invasiva en ejes perpendiculares para captar diferentes dimensiones de la carga tumoral parece ser una forma plausible de mejorar el IB y podría ser muy aceptable para los histopatólogos, ya que tanto el IB como la anchura invasiva sólo necesitan una sección teñida con H&E.

Conclusiones

La literatura médica se centra en los biomarcadores moleculares de alta tecnología que suelen generar costos y pueden tener barreras técnicas para la adopción clínica generalizada. Puede ser que estas características de “tecnología simple y barata”, que se puede medir usando solo un portaobjetos teñido con hematoxilina y eosina en cuestión de segundos y que podría ser empleada por cualquier histopatólogo en el mundo mañana, resulte ser el más inteligente camino hacia el perfeccionamiento de la predicción del resultado del melanoma.

La DB explica la supervivencia específica del melanoma (MSS) mejor que el espesor de Breslow por sí solo, pero el IB y la DB se utilizan mejor juntas, ambas pueden combinarse en una puntuación y que ésta puede utilizarse como complemento de la AJCC8.

El ATC es práctica porque es rápida de medir (típicamente <1minuto) y sólo requiere la misma tinción H&E utilizada para el diagnóstico, lo que la hace simple y barata. En particular, aunque se están buscando activamente nuevos biomarcadores moleculares, los biomarcadores microscópicos basados puramente en H&E siguen siendo poco investigados y, sin embargo, representan una rica línea de investigación.

Se describe además el ancho invasivo como un nuevo rasgo histológico del melanoma y se sugiere, que podría convertirse en una nueva característica pronóstica. Adicionalmente, el ancho invasivo es complementario al IB como característica pronóstica y es igual de simple, rápido y económico de medir.

Como corolario final debemos remarcar que todas las nuevas características pronosticas, revisadas en el presente trabajo son fáciles y simples de medir en los laboratorios de patología de nuestros hospitales, sin adicionar coste adicional, pero con la peculiaridad de mejorar de manera notable el pronóstico y estadificación del melanoma maligno.



Referencias bibliográficas

1. Reina A Z E, González Debén M R, Villafuerte Reinante J, Corrales Hernández J, Pérez Rumbaut G I, Nualla Bolufé D. Caracterización histopatológica del melanoma maligno cutáneo. Provincia de Cienfuegos. 2009-2011 Medisur agosto 2018; Vol16, (4).
2. González-Velázquez V, Roque-Pérez L, Pedraza-Rodríguez E, Rodríguez-Rodríguez L, González-Escudero M. Factores pronósticos de mortalidad en pacientes con melanoma maligno cutáneo. Revista Finlay [revista en Internet]. 2021 [citado 2022 Ene 25]; 11(1): [aprox. 12 p.]. Disponible en: <http://www.revfinlaysld.cu/index.php/finlay/article/view/868>.
3. Ministerio de Salud Pública. Anuario Estadístico de Salud 2019. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2020. ¹_{SEP}
4. Oro-Pozo Y, Leyva-Sánchez E, Díaz-Rojas PA. Indicadores morfométricos del melanoma maligno de piel. ArchmédCamagüey. 2020; 24(6): e7456.
5. Bamford M, Udensi L, Khanna A, O'Riordan M, Saldanha G. Comparison of the prognostic value of microscopically measured invasive width versus macroscopic width in cutaneous melanoma shows the superiority of microscopic invasive width measurement. J CutanPathol. 2022; 49:536–542.
6. Gershenwald JE, Scolyer RA, Hess KR, et al. Melanoma staging: evidence-based changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. CA Cancer J Clin. 2017;67: 472–492.
7. Saldanha G, Yarrow J, Elsheikh S, O'Riordan M, Uraiby H, Bamford M. Development and initial validation of calculated tumor area as a prognostic tool in cutaneous malignant melanoma. JAMA Dermatol. 2019; 155:890-898.
8. Saldanha G, Yarrow J, Pancholi J, Flatman K, Teo KW, Elsheik S, et al. Breslow density is a novel prognostic feature that adds value to melanoma staging. Am J SurgPathol. 2018; 42:715-25.
9. Martínez Manzano A. Estudio de los Factores Predictivos de Afectación Metastásica en el Ganglio Centinela y en los Ganglios "no Centinela" tras Linfadenectomía en el Melanoma. Tesis doctoral; 2021.
10. Rashed H, Flatman K, Bamford M, Teo KW, Saldanha G. Breslow density is a novel prognostic feature in cutaneous malignant melanoma. Histopathology. 2017; 70:264-272.
11. Tejera-Vaquerizo A, Fernández-Figueras M.T, Santos-Briz A, Ríos-Martín J.J, Monteagudo C, Fernández-Flores A, et al. Protocolo de diagnóstico histológico para muestras de pacientes con melanoma cutáneo. Documento de consenso de la SEAP y la



ISSN: 1995-9427 RNPS: 2162

<http://revcimeq.sld.cu/index.php/img>
Vol. 14 No. 3 (Suplemento) | 2022



AEDV para el Registro Nacional de Melanoma: Documento de Consenso. ActasDermosifiliogr. 2021; 112(1):32-43.

12. Bosch-Amate X, Vargas-Mora P, Morgado-Carrasco D. Calculated Tumor Area and Breslow Density: Two New Prognostic Features in the Staging of Melanoma: RESIDENT FORUM. ACTAS Dermo-Sifiliográficas 2021;112: 922-923.

13. Saldanha G, Khanna A, O'Riordan M, Bamford M. The width of invasion in malignant melanoma is a novel prognostic feature that accounts for outcome better than Breslow thickness. Am J Surg Pathol. 2020; 44(11):1522-1527.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.