



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Nevus de Sutton: caracterización de la inmunogenicidad en tumores melanocíticos y papel de la microscopía confocal en su diagnóstico

Albert Brugués Daví



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement- NoComercial – SenseObraDerivada 4.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento - NoComercial – SinObraDerivada 4.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 4.0. Spain License.**



UNIVERSITAT_{DE}
BARCELONA

NEVUS DE SUTTON: CARACTERIZACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD EN TUMORES MELANOCÍTICOS Y PAPEL DE LA MICROSCOPIA CONFOCAL EN SU DIAGNÓSTICO

Memoria de tesis doctoral
presentada por

Albert Brugués Daví

Para optar al grado de doctor por la Universidad de Barcelona

Directora y tutora

Prof. Cristina Carrera Álvarez

Profesora agregada. Departament de
Medicina, Facultat de Medicina Universitat
de Barcelona

Programa de Doctorado en Medicina e Investigación Traslacional
Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud. Universidad de Barcelona
Abril, 2025



A mi familia

A mi familia, por ser mi fuerza y motivación. Gracias por su apoyo incondicional y por siempre creer en mí.

A Cristina

Cualquier logro que haya alcanzado se debe al apoyo de quienes me han guiado. Si están leyendo esta tesis es gracias a ella.

A mis compañeros de residencia

Son el mayor regalo que tuve al entrar al hospital

A Constanza, a Lorena y a Paula

Financiación

Proyecto apoyado parcialmente por las subvenciones PI18/0959, PI18/00419 y PI18/01077 por el Instituto de Salud Carlos III (ISC III), España, y cofinanciado por la Unión Europea. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER) del Instituto de Salud Carlos III, España, cofinanciado por el Instituto de Salud Carlos III - Subdirección General de Evaluación y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), "Una manera de hacer Europa." Programa Agencia de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca (AGAUR) 2017/SGR1134 y Programa Centros de Investigación de Cataluña (CERCA) de la Generalitat de Cataluña, España.

Los patrocinadores no tuvieron ninguna intervención en el diseño y desarrollo de los estudios; en la recopilación, análisis e interpretación de datos; ni en la preparación, revisión, aprobación de los manuscritos o en la decisión de enviar los manuscritos para su publicación.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	15
ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	17
ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS DE GENES.....	18
PUBLICACIONES.....	19
RESUMEN.....	23
1. INTRODUCCIÓN.....	27
1.1 EL NEVUS DE SUTTON	29
1.1.1 Fenómenos de inflamación, regresión e involución de nevus melanocíticos.....	31
1.2 EL MELANOMA MALIGNO	35
1.2.1 Introducción al melanoma maligno (MM).....	35
1.2.1 Estadificación del melanoma maligno (MM).....	38
1.2.2 Tratamiento del melanoma maligno (MM)	41
1.3 HERRAMIENTAS PARA EL DIAGNÓSTICO DERMATOLÓGICO ...	45
1.3.1 Técnicas de imagen dermatológica.....	45
1.3.1.1 Dermatoscopia.....	45
1.3.1.2 Microscopia confocal de reflectancia (RCM).....	49
1.3.1.3 Seguimiento secuencial mediante imagen dermatológica.....	55
1.3.2 Herramientas histopatológicas	57
2. HIPÓTESIS	61

3. OBJETIVOS	65
4. MATERIAL, MÉTODOS Y RESULTADOS.....	69
4.1 ARTÍCULOS ORIGINALES.....	71
4.1.1 Artículo 1	71
4.1.2 Artículo 2	81
4.2 CARTAS AL EDITOR	97
4.2.1 Carta al editor 1.....	97
4.2.2 Carta al editor complementaria.....	103
5. DISCUSIÓN.....	109
6. CONCLUSIONES	125
7. BIBLIOGRAFÍA	129

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.A. Nevus melanocítico inicial.

Figura 1.B. Nevus de Sutton mostrando la presencia de un nevus melanocítico central rodeado por un círculo blanco simétrico, redondeado u ovalado.

Figura 1.C. Nevus de Sutton mostrando la presencia de un halo hipopigmentado periférico, seguido por una pérdida de pigmento y la desaparición gradual del nevus central.

Figura 1.D. Nevus de Sutton mostrando la desaparición completa del nevus originario central.

Figura 2.A. Nevus previo a la exposición de radiación UV.

Figura 2.B. Nevus 7 días posterior a la exposición de radiación UV.

Figura 3. Tasas ajustadas por edad de incidencia y mortalidad por melanoma.

Figura 4.A. Clasificación de la profundidad del tumor primario (T).

Figura 4.B. Clasificación de la afectación de los ganglios linfáticos (N) .

Figura 4.C. Clasificación de la presencia de metástasis a distancia (M).

Figura 5.A Esquema que ilustra el punto de anclaje, objetivo del mecanismo de acción de los fármacos inhibidores de puntos de control inmunitario (ICI).

Figura 5.B. Esquema que muestra el mecanismo de acción de los fármacos inhibidores de puntos de control inmunitario (ICI).

Figura 6. Lista de los 7 puntos de Argenziano.

Figura 7. Dermatoscopia de nevus de Sutton (SN).

Figura 8.A. La presencia de células redondeadas pagetoides ubicadas en la epidermis supone un criterio de riesgo según el algoritmo Barcelona para la distinción entre nevus y melanoma con el uso de RCM.

Figura 8.B. La presencia de células nucleadas atípicas ubicadas en la dermis supone un criterio de riesgo según el algoritmo Barcelona para la distinción entre nevus y melanoma con el uso de RCM.

Figura 8.C. La presencia de células basales típicas supone un criterio protector según el algoritmo Barcelona para la distinción entre nevus y melanoma con el uso de RCM.

Figura 8.D. La presencia de papilas bien definidas supone un criterio protector según el algoritmo Barcelona para la distinción entre nevus y melanoma con el uso de RCM.

Figura 9.A. Corte horizontal epidérmico de microscopia confocal de reflectancia (RCM) de un nevus de Sutton.

Figura 9.B. Corte horizontal en dermis superficial de microscopia confocal de reflectancia (RCM) de un nevus de Sutton.

Figura 10.A. Tinción inmunohistoquímica de melanoma con regresión histológica. Marcador CD8 (x10).

Figura 10.B. Tinción inmunohistoquímica de melanoma con regresión histológica. Marcador PD1 (x20).

Figura 11.A. Tinción inmunohistoquímica de nevus de Sutton (SN). Marcador CD8 (x10).

Figura 11.B. Tinción inmunohistoquímica de nevus de Sutton (SN). Marcador PD1 (x20).

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

AAD	American Academy of Dermatology
AJCC	American Joint Committee on Cancer
BSGC	Biopsia selectiva de ganglio centinela
CTLA-4	Antígeno 4 de los linfocitos T citotóxicos
FM	Fenómeno de Meyerson
IA	Inteligencia artificial
ICI	Inhibidores de puntos de control inmunitario
ICCR	International Collaboration on Cancer Reporting
IL	Interleucina
ir-AEs	Eventos adversos inmunológicos
LC-OCT	Tomografía de Coherencia Óptica de Campo Lineal
MM	Melanoma Maligno
NK	Células Natural Killer
OCT	Tomografía de coherencia óptica
PD-1	Receptor de muerte programada 1
PRAME	Preferentially Expressed Antigen in Melanoma
RCM	Microscopia confocal de reflectancia
RNA-seq	Secuenciación de ARN
SD	Desviación estándar
SEER	Surveillance, Epidemiology, and End Results Program
SN	Nevus de Sutton
SND	Síndrome de nevus displásico
TILs	linfocitos intratumorales
UDE	Unión dermoepidérmica

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS DE GENES

BAP1 Proteína asociada al cáncer de mama 1

CDK4 Quinasa dependiente de ciclina 4

CDKN2A Quinasa dependiente de ciclina 2^a

LAG3 Gen 3 de activación linfocitaria

MC1R Receptor de melanocortina 1

MITF Factor de transcripción asociado a microftalmia

POT1 Protección de telómeros 1

TERT Telomerasa transcriptasa inversa

PUBLICACIONES

La presente tesis doctoral se ha estructurado siguiendo la normativa interna de la Universitat de Barcelona para la presentación de **tesis en formato de compendio de publicaciones científicas**.

La tesis consta de 5 objetivos y 4 artículos (2 artículos originales y 2 cartas al editor):

Artículos originales:

Brugués A, Ribero S, Martins da Silva V, Aguilera P, Garcia AP, Alós L, Malveyh J, Puig S, Carrera C. Sutton Naevi as Melanoma Simulators: Can Confocal Microscopy Help in the Diagnosis? Acta Derm Venereol. 2020 May 11;100(10): adv00134-00140

Factor de Impacto: 4.437

Primer cuartil

Albert Brugués, Gabriele Rocuzzo, Adriana Garcia-Herrera, Llúcia Alós, Josep Malvehy, Susana Puig, Rebecca Senetta, Simone Ribero, Cristina Carrera

Immunophenotypic profile of inflammatory cells in melanomas with regression and halo nevi: possible keys to distinguish intensely inflamed tumours Actas Dermosifiliogr

Factor de Impacto: 3.8

Primer cuartil

D^a. M^a Eugenia Eisman, en calidad de Publishing Editor de Elsevier España, S.L.U.

CERTIFICA:

Que el Dr. Albert Brugués es autor del artículo titulado "Immunophenotypic profile of inflammatory cells in melanomas with regression and halo nevi: possible keys to distinguish intensely inflamed tumours" (Albert Brugués, Gabriele Rocuzzo, Adriana Garcia-Herrera, Llúcia Alós, Josep Malvehy, Susana Puig, Rebecca Senetta, Simone Ribero, Cristina Carrera), aceptado para su próxima publicación en la revista Actas Dermo-Sifiliográficas.

Actas dermosifiliograficas. ISSN: 0001-7310.

Indexada en: Web of Science, Emerging Sources Citation Index (WoS, Clarivate), PubMed/Medline, IME, Embase/Excerpta Medica, Embase, Toxline, Cab Abstracts, Cab Health, Cancerlit Nlm, Serline: Biomed, Bibliomed, Pascal, Scopus, IBECs.

Factor de Impacto 2023: 3,8

Para que así conste y a petición de D. Albert Brugués, firmo el presente en Madrid a 18 de marzo 2025.



M^a Eugenia Eisman
Publishing Editor

Cartas al editor:

Brugués A, Ribero S, Barreiro A, Bassoli S, García AP, Longo C, Segura S, Alós L, Malvehy J, Puig S, Carrera C. Sutton's naevi as a pitfall for reflectance confocal microscopy: marked inflamed naevi could not be suitable for teleconfocal examination. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2021 Oct;35(10):e688-e690.

Factor de Impacto: 9.228

Primer cuartil

Brugués A, Ribero S, Pastorino C, Iglesias P, García A, Alós L, Malvehy J, Puig S, Carrera C. Challenging pigmented lesions in melanoma patients during checkpoint-inhibitors therapy. Melanoma Res. 2022 Oct 1;32(5):388-390

Factor de Impacto: 3.199

Primer cuartil

RESUM

NEVUS DE SUTTON: CARACTERITZACIÓ DE LA IMMUNOGENICITAT EN TUMORS MELANOCÍTICS I PAPER DE LA MICROSCÒPIA CONFOCAL EN EL SEU DIAGNÒSTIC

Introducció

El projecte de Tesis està centrat en l'estudi clínic-dermatoscòpic-confocal (in vivo) i histològic-immunofenotípic de lesions melanocítiques benignes amb marcada inflamació i regressió immunomediades. Aquestes lesions suposen un repte tant diagnòstic in vivo com anatomopatològic, donat que poden compartir característiques comuns amb el melanoma maligne.

Hipòtesis

- 1 La microscòpia confocal pot ajudar a diagnosticar nevus de Sutton inflamats i podria ser útil en l'estudi de lesions amb canvis inflamatoris.
- 2 La immunogenicitat difereix entre tumors melanocítics benignes i malignes, produint patrons inflamatoris i de regressió diferents.
- 3 L'anàlisi de l'infiltrat immunitari podria diferenciar nevus de Sutton i melanomes, i facilitar el desenvolupament de teràpies i biomarcadors específics.

Objectius

- 1 Descriure les característiques dermatoscòpiques i de microscòpia confocal dels nevus de Sutton, així com la seva correlació amb els troballes histopatològiques.
- 2 Comparar les característiques dermatoscòpiques i de microscòpia confocal dels nevus de Sutton amb les observades en melanomes amb inflamació.
- 3 Avaluar la utilitat de la microscòpia confocal per al diagnòstic de lesions pigmentades amb inflamació.
- 4 Caracteritzar l'infiltrat inflamatori present en els nevus de Sutton mitjançant tècniques d'immunohistoquímica.

5 Comparar el perfil immunofenotípic dels nevus de Sutton amb el patró inflamatori de limfòcits intratumorals observats en melanomes amb fenòmens de regressió.

Mètodes

En el primer estudi realitzat, una sèrie de nevus de Sutton que es presentaven com a lesions atípiques per clínica/dermatoscòpia i que es van extirpar per descartar malignitat es varen comparar (per dermatoscòpia i microscòpia confocal) amb una sèrie de nevus de Sutton clàssics i amb un grup de melanomes incipients amb característiques histològiques de regressió. Un total de 57 lesions varen ser analitzades i comparades.

En el segon estudi es va comparar la precisió diagnòstica en l'avaluació de imatges de microscòpia confocal entre 6 especialistes amb expertesa en l'ús d'aquesta tècnica a l'hora de distingir entre 20 lesions (nevus inflamats i melanomes).

El darrer estudi es va centrar en comparar el perfil immunofenotípic de 16 nevus de Sutton amb el de 70 melanomes amb regressió.

Es va avaluar el grau de fibrosi, la densitat i la localització inflamatòria, així com els marcadors immunològics associats: CD3, CD4, CD8, CD25, FOXP3 i PD1, en ambdues poblacions.

Principals Resultats

L'avaluació dels resultats del primer estudi ens ha permès demostrar que un cert grup poc freqüent de nevus de Sutton (SN) pot tenir característiques dermatoscòpiques i de microscòpia confocal (RCM) indistingibles clínicament del melanoma i, com a conseqüència, s'han d'extirpar per descartar la possibilitat de malignitat. Tanmateix, l'examen de microscòpia confocal (RCM) pot ajudar si detecta menys del 10% de papil·les mal definides, menys del 10% de engruiximents de la unió dermo-epidèrmica, o la presència de nius, ja que són característiques associades a lesió benigna.

En el segon estudi vàrem objectivar que la sensibilitat per a la detecció de melanoma oscil·lava entre el 20% i 100% (valor mitjà 53,3; 27,5 DS) amb una especificitat que oscil·la del 47% al 87% (valor mitjà 67,8; 13,5 DS). La sensibilitat per als nevus de Sutton

va ser entre el 50% i el 90% (valor mitjà 66,6; 17,9 DS), però és important tenir en compte que tots els experts varen diagnosticar erròniament almenys dos nevus de Sutton orientant-los com a melanomes. El 80% dels nevus de Sutton es van considerar probablement malignes (fals positius per RCM. (Valor mitjà 43,3; 21,3 DS).

En el darrer estudi es va poder objectivar que els nevus de Sutton presentaven una major densitat inflamatòria en comparació amb els melanomes amb regressió. En relació al tipus de infiltrat cel·lular els melanomes amb regressió van mostrar un predomini de limfòcits T col·laboradors (CD4+) mentre que els nevus de Sutton van presentar un predomini de limfòcits T citotòxics (CD8+), amb una major expressió de marcadors immunoreguladors com FOXP3, PD1 i CD25.

Conclusions

En conclusió, el nevus de Sutton pot imitar al melanoma tant en dermatoscòpia com en microscòpia confocal, cosa que pot dificultar-ne el diagnòstic diferencial. Tot i que la dermatoscòpia continua sent una eina essencial per orientar aquestes lesions, l'avaluació de la unió dermoepidèrmica mitjançant microscòpia confocal aporta informació extra per diferenciar entre nevus de Sutton i melanomes; de totes formes, la seva precisió diagnòstica disminueix considerablement quan s'utilitza sense tenir en compte el context clínic, l'edat del pacient i els signes dermatoscòpics.

Finalment, existeixen diferències quantitatives i qualitatives en la resposta immunològica generada en els nevus de Sutton i els melanomes amb regressió, cosa que podria contribuir a millorar la comprensió i el maneig d'aquestes lesions.

Malgrat les seves contribucions, el projecte de Tesis presenta limitacions, com ara la mida reduïda de la mostra, especialment en els nevus de Sutton, i certa subjectivitat inherent a l'anàlisi de les tècniques utilitzades.

Paraules clau:

Microscòpia confocal

Melanoma

Càncer de pell

Dermatologia

Immunohistoquímica

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1 EL NEVUS DE SUTTON (SN)

El *nevus de Sutton* (SN), también conocido como *halo nevus*, es una condición clínico-patológica descrita por Sutton en 1916¹, que se refiere a una neoplasia melanocítica benigna con una marcada respuesta linfocítica del huésped, lo que a menudo lleva a la regresión o involución del nevus. Clínicamente se suele presentar como un nevus melanocítico central rodeado por una mácula blanca simétrica, redondeada u ovalada². En su evolución, pueden distinguirse etapas clínicas sucesivas, comenzando con el nevus melanocítico original que presenta un halo hipopigmentado periférico, seguido por una pérdida de pigmento y la desaparición gradual del nevus central, finalizando con la desaparición completa del halo.

FASES DE EVOLUCIÓN CLÍNICA DEL NEVUS DE SUTTON (SN)^{1,2}



Figura 1.A. Imagen de un nevus melanocítico inicial. Imagen adaptada de la Unidad de Melanoma, Servicio de Dermatología, Hospital Clínic de Barcelona.



Figura 1.B. Nevus de Sutton mostrando la presencia de un nevus melanocítico central rodeado por un círculo blanco simétrico, redondeado u ovalado. Imagen adaptada de nuestro estudio desarrollado en la Unidad de Melanoma, Servicio de Dermatología, Hospital Clínic de Barcelona.

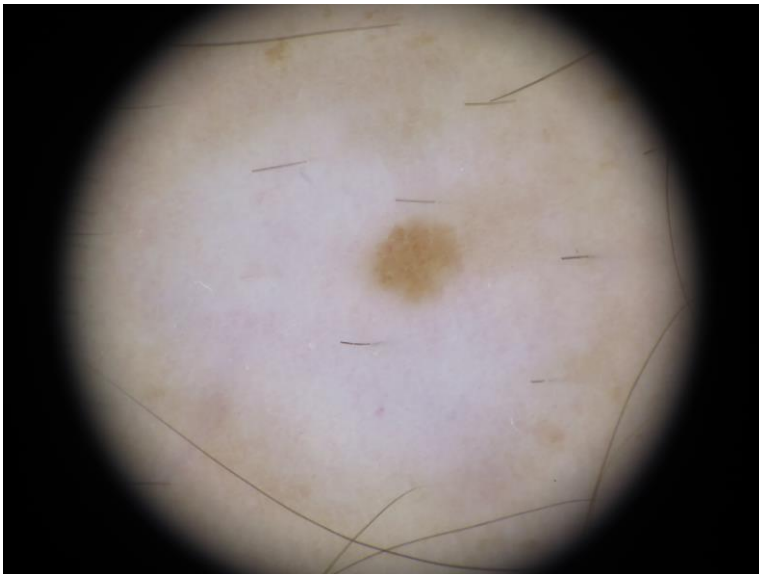


Figura 1.C. Nevus de Sutton mostrando la presencia de un halo hipopigmentado periférico, seguido por una pérdida de pigmento y la desaparición gradual del nevus central. Imagen adaptada de nuestro estudio desarrollado en la Unidad de Melanoma, Servicio de Dermatología, Hospital Clínic de Barcelona.

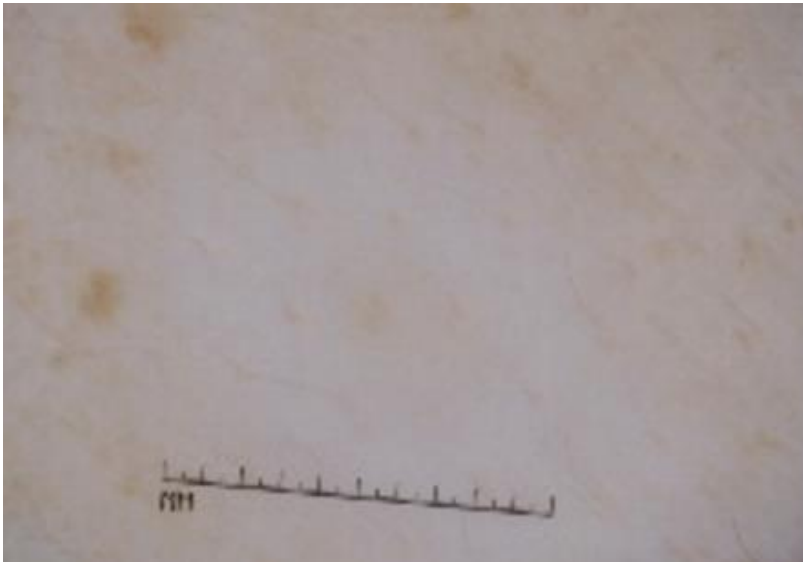


Figura 1.D Nevus de Sutton mostrando la desaparición completa del nevus originario central. Imagen adaptada del artículo de Brooks y colaboradores ³.

1.1.1 Fenómenos de inflamación, regresión e involución de nevus melanocíticos:

La inflamación de los nevus y los fenómenos de regresión o involución son procesos clínicos y patológicos que pueden observarse en diferentes tipos de tumores melanocíticos tanto melanoma como nevus melanocíticos. En el caso de nevus con inflamación o regresión pueden plantear un desafío diagnóstico tanto en el examen clínico como en el dermatoscópico, ya que en ciertos casos obligan a descartar melanoma.

El fenómeno de halo en los nevus de Sutton es un tipo de regresión de nevus, donde se observa una despigmentación periférica alrededor del nevus. Este fenómeno está mediado por una respuesta inmune, principalmente por células T citotóxicas, que destruyen los melanocitos.

El fenómeno de Meyerson (FM)⁴ hace referencia a una erupción eccematosa localizada, habitualmente asociada a nevus melanocíticos benignos, de ahí el nombre de nevus de Meyerson. Este fenómeno se describe como un halo simétrico de eritema y descamación alrededor de un nevus melanocítico central. La reacción inflamatoria es de naturaleza eccematosa y puede incluir espongiosis y un infiltrado inflamatorio compuesto principalmente por linfocitos CD4⁺ y células de Langerhans^{5,6}.

El fenómeno de Meyerson también se ha documentado en melanomas, aunque con menor frecuencia, como es el caso publicado por nuestro grupo de un paciente afecto de melanoma múltiple asociado a fenómeno de Meyerson⁷.

Aunque en la práctica clínica el diagnóstico de lesiones melanocíticas inflamadas, como los nevus de Meyerson y los nevus de Sutton, suele ser sencillo⁸, en ocasiones la inflamación hace que estas entidades sean sospechosas en la evaluación clínica y dermatoscópica. También se conocen bien las características atípicas que los nevus pueden presentar tras una exposición aguda al sol e inflamación debido a quemaduras solares⁹. Según el estudio publicado por Carrera y colaboradores⁹ los cambios clínicos más frecuentes después de la exposición a la radiación UV fueron pigmentación, descamación y eritema; mientras que los cambios dermatoscópicos más comunes fueron el aumento de glóbulos, la red difuminada de pigmento, la regresión y los vasos puntiformes. De hecho, los nevus inflamados pueden plantear un desafío diagnóstico tanto en el examen clínico como en el dermatoscópico, ya que en casos dudosos debe descartarse el melanoma.



Figura 2.A Nevus previo a la exposición de radiación UV según el estudio de Carrera y colaboradores⁹.

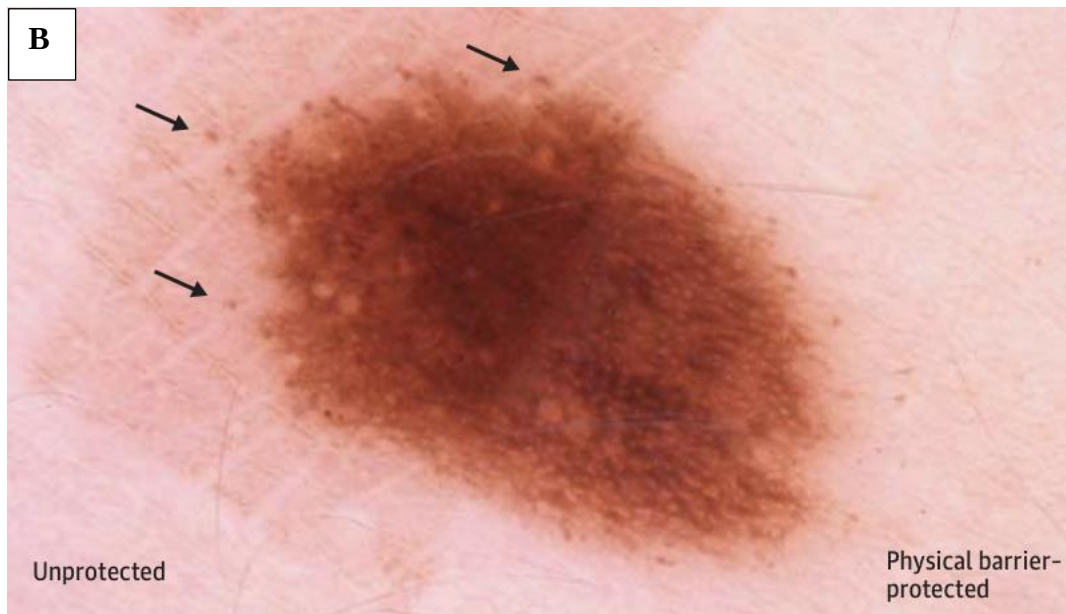


Figura 2.B Nevus 7 días posterior a la exposición de radiación UV según el estudio de Carrera y colaboradores⁹. La mitad izquierda de la lesión quedó desprotegida mientras que el lado derecho de dicha lesión se protegió con una barrera física. En la dermatoscopia, se observó un aumento de la pigmentación y la presencia de glóbulos periféricos (flechas) en la mitad desprotegida.

El fenómeno de **regresión o involución de los nevus** es un fenómeno común en pacientes con síndrome de nevus displásicos. Moreno y colaboradores¹⁰ del hospital Arnau de Vilanova de Lleida observaron que el 81% de estos pacientes presentó en la exploración al menos un nevus involutivo y que el 25% de sus nevus registrados para seguimiento digital mostraban este fenómeno. El patrón estructural predominante de las lesiones fue el reticular (>70%), y las estructuras de regresión más frecuentemente observadas fueron las vasculares (33.8%). Histológicamente, el patrón de involución progresiva se caracteriza por un infiltrado inflamatorio, presencia de melanófagos, fibrosis y un aumento de los vasos sanguíneos.

Según un estudio publicado por Schiferle y colaboradores¹¹, las células T colaboradoras CD4+ presentes en el nevus inicial serían las responsables de generar una expansión clonal masiva en respuesta a antígenos específicos de los melanocitos, siendo las responsables de inducir la regresión y eliminación del nevus.

Dicha involución de los nevus también puede ocurrir en pacientes sometidos a terapias sistémicas, como durante la inmunoterapia con inhibidores de puntos de control

inmunitario o en terapias diana con los inhibidores de *BRAF* y *MEK* en pacientes con melanoma avanzado¹². Se ha documentado que la regresión de nevus y la despigmentación similar al vitíligo en este tipo de pacientes pueden ser signo de una reacción inmune efectiva contra el tumor e indicarían una buena respuesta al tratamiento¹³.

1.2 EL MELANOMA MALIGNO (MM)

1.2.1 Introducción al melanoma maligno (MM)

El melanoma es una neoplasia maligna agresiva que afecta a las células productoras de pigmento conocidas como melanocitos. Dicha neoplasia puede desarrollarse en diversas localizaciones incluyendo la piel, las membranas mucosas, aparato ungueal, en el globo ocular, ganglios linfáticos y leptomeninges.

La etiología del melanoma no se comprende completamente, aunque se cree que la radiación ultravioleta desempeña un papel importante^{14,15,16}. Además se han identificado genes de susceptibilidad al melanoma asociados tanto a síndromes tumorales específicos de melanoma como a otros síndromes tumorales familiares. Estos incluyen mutaciones *CDKN2A* (quinasa dependiente de ciclina 2A) y, con menor frecuencia, en *CDK4* (quinasa dependiente de ciclina 4), *BAP1* (proteína asociada al cáncer de mama 1), *TERT* (telomerasa transcriptasa inversa) y *POT1* (protección de telómeros 1)¹⁷, o con variantes en genes de riesgo intermedio como *MC1R*¹⁴ (receptor de melanocortina 1) y *MITF* (factor de transcripción asociado a microftalmia)¹⁸.

El melanoma presenta una alta tasa de mutación, lo que refleja su diversidad clínica y patológica, así como su resistencia al tratamiento en estadios avanzados.

Entre los factores de riesgo para el melanoma se encuentran antecedentes familiares o personales de melanoma, quemaduras solares severas especialmente en la infancia, presentar un nevus congénito gigante (mayor de 20 cm), fototipo de piel claro y la presencia de múltiples lunares atípicos.

En Estados Unidos, el número de casos nuevos de melanoma ha aumentado constantemente desde 1975, con una estimación de 100,640 nuevos casos en 2024. Se calcula que el riesgo de por vida de desarrollar melanoma en Estados Unidos es del 2,1%¹⁹. A pesar de que la incidencia de melanoma ha aumentado²⁰ para ambos géneros en la mayoría de los países durante los últimos diez años, las tasas de mortalidad muestran una tendencia a estabilizarse o incluso disminuir según datos del registro Surveillance, Epidemiology, and End Results Program (SEER)^{19,21} (Fig.1). Esto podría reflejar una variedad de factores, aunque probablemente esté relacionado, al menos en parte, con la

disponibilidad de nuevas opciones terapéuticas que han sido implementadas en la última década para tratar el melanoma avanzado y metastásico.²²

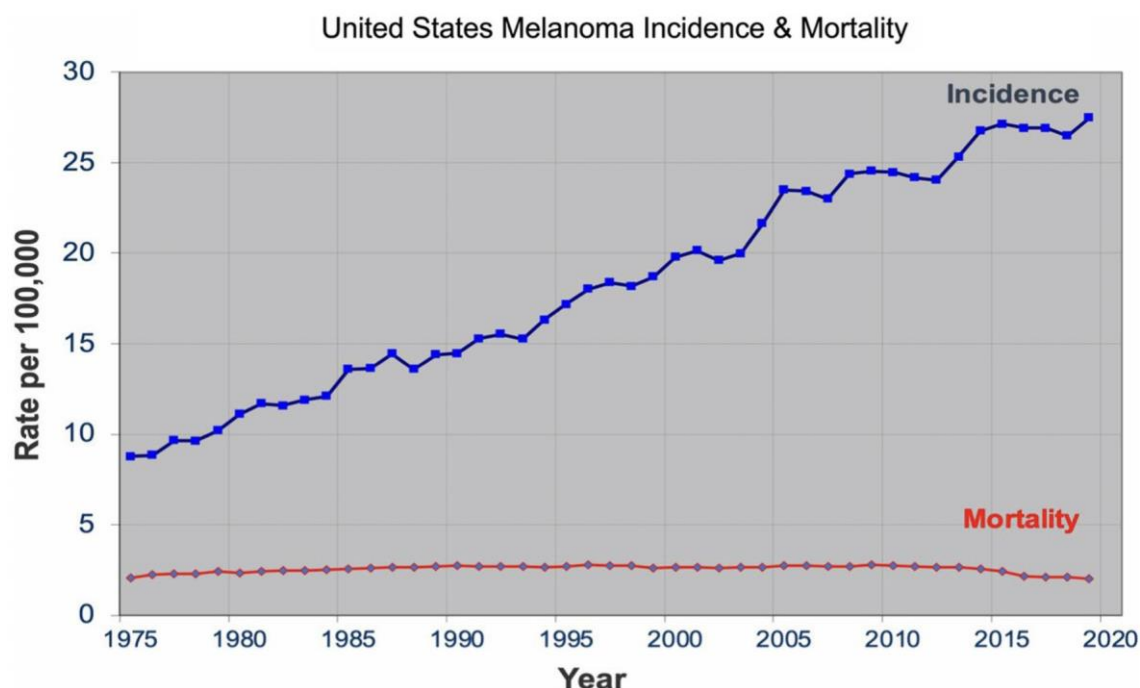


Figura 3. Tasas ajustadas por edad de incidencia y mortalidad por melanoma. Los datos muestran una reducción en las tasas de mortalidad en los últimos años, a pesar de que la incidencia ha seguido aumentando. Esta información se basa en registros del SEER.²¹

En Cataluña la tendencia es similar a la que presenta Estados Unidos; según un estudio liderado por nuestro grupo, Podlipnik *et al.*,²³ objetivaron que la incidencia de melanoma en Cataluña ha mostrado un aumento significativo en los últimos años, especialmente en la población de mayor edad, con una tasa de incidencia estandarizada por edad que aumentó de 11.56 por 100,000 habitantes en 2008 a 13.78 en 2017.

En cuanto a la mortalidad por melanoma en Cataluña, los datos del estudio publicado por Marcos-Gragera *et al.*²⁴ indican estabilidad de cifras en las últimas dos décadas, mimetizando así la tendencia que seguía Estados Unidos.

El dato más relevante de cara al pronóstico y agresividad del melanoma es la presencia de ulceración clínico-patológica y su profundidad de invasión, determinada histológicamente en milímetros mediante el índice de Breslow²⁵. Este índice se mide desde la capa granulosa de la epidermis, o desde la base de una úlcera si está presente, hasta la célula tumoral más profunda en la dermis o el tejido subcutáneo.

La American Academy of Dermatology (AAD) y la International Collaboration on Cancer Reporting (ICCR) destacan que el grosor de Breslow es el factor pronóstico más importante para el melanoma maligno²⁶ utilizándose para su estadificación y como guía en las decisiones terapéuticas.

El diagnóstico y tratamiento tempranos de melanomas delgados suelen asociarse con un pronóstico favorable (97% y 95% de supervivencia a los 10 y 20 años, respectivamente)²⁷. Sin embargo, en formas avanzadas, el pronóstico es menos alentador ya que el melanoma puede metastatizar a cualquier órgano del cuerpo, siendo los sitios más comunes la piel y el tejido subcutáneo, los ganglios linfáticos, los pulmones, el hígado y el cerebro.

1.2.1 Estadificación del melanoma maligno (MM)

El estadio del melanoma maligno se determina utilizando el sistema de clasificación TNM de la American Joint Committee on Cancer (AJCC), octava edición²⁸ actualizada en 2018. Según las "Guidelines of Care for the Management of Primary Cutaneous Melanoma" de la American Academy of Dermatology (AAD)²⁵, los estadios se definen de la siguiente manera:

- **Estadio 0:** Tis (melanoma in situ), N0, M0.
- **Estadio IA:** T1a o T1b, N0, M0.
- **Estadio IB:** T2a, N0, M0.
- **Estadio IIA:** T2b o T3a, N0, M0.
- **Estadio IIB:** T3b o T4a, N0, M0.
- **Estadio IIC:** T4b, N0, M0.
- **Estadio III:** Cualquier T, N1a-N3c, M0.
- **Estadio IV:** Cualquier T, cualquier N, M1.

El estadio se asigna en función de la profundidad del tumor primario (T), la afectación de los ganglios linfáticos (N) y la presencia de metástasis a distancia (M)²⁹:

TNM del AJCC para el melanoma (8.ªed)			
T	TX	Tumor primario no puede ser determinado (tras curetaje...)	
	T0	Sin evidencia de tumor primario	
	Tis	melanoma <i>in situ</i>	
	T1	≤ 1 mm	a (< 0,8 sin ulceración)
			b (< 0,8 mm con ulceración o 0,8-1 mm con o sin ulceración)
	T2	> 1 mm-2 mm	a (sin ulceración)
			b (con ulceración)
	T3	> 2 mm-4 mm	a (sin ulceración)
			b (con ulceración)
	T4	> 4 mm	a (sin ulceración)
			b (con ulceración)

Figura 4.A. Clasificación de la profundidad del tumor primario (T) utilizando el sistema de clasificación TNM de la American Joint Committee on Cancer (AJCC), octava edición²⁸. Información de la tabla³⁰

N	NX	Afectación ganglionar no puede determinarse (extirpación previa por otro motivo, hábito corporal...)
	N0	Ausencia de afectación ganglionar clínica/radiológica
	N1	N1a: micrometástasis en un ganglio linfático (clínicamente oculto)
		N1b: ganglio linfático clínicamente detectado
		N1c: metástasis en tránsito, satélites o microsátélites sin afectación ganglionar
	N2	N2a: micrometástasis en 2 o 3 ganglios (clínicamente ocultos)
		N2b: metástasis en 2 o 3 ganglios linfáticos
		N2c: metástasis en un ganglio (oculta o clínica) y metástasis en tránsito, satélites o microsátélites
	N3	N3a: 4 o más micrometástasis en ganglios linfáticos
		N3b: 4 o más metástasis en ganglios linfáticos, al menos una de ella clínicamente evidente o presencia de conglomerado adenopático
		N3c: 2 o más micrometástasis o metástasis ganglionares clínicamente detectables o presencia de conglomerado adenopático y metástasis en tránsito, satélites o microsátélites

Figura 4.B. Clasificación de la afectación de los ganglios linfáticos (N) utilizando el sistema de clasificación TNM de la American Joint Committee on Cancer (AJCC), octava edición²⁸. Información de la tabla³⁰

M	M0	Sin evidencia de metástasis ganglionares
	M1	M1a: metástasis a distancia en piel, tejidos blandos (incluyendo músculo) y/o ganglios linfáticos no regionales - M1a(0): LDH normal - M1a(1): LDH elevada
		M1b: metástasis pulmonares con/sin M1a - M1b(0): LDH normal - M1b(1): LDH elevada
		M1c: metástasis a distancia en órganos distintos del SNC con/sin M1a y M1b - M1c(0): LDH normal - M1c(1): LDH elevada
		M1d: metástasis al SNC con/sin M1a, M1b o M1c - M1d(0): LDH normal - M1d(1): LDH elevada

Figura 4.C. Clasificación de la presencia de metástasis a distancia (M) utilizando el sistema de clasificación TNM de la American Joint Committee on Cancer (AJCC), octava edición²⁸. Información de la tabla³⁰

1.2.2 Tratamiento del melanoma maligno (MM)

El abordaje terapéutico del melanoma maligno varía según el estadio de la enfermedad. En los casos de melanoma primario, el tratamiento de primera línea consiste en una resección quirúrgica amplia, con márgenes que serán determinados en función del grosor tumoral (índice de Breslow).³¹

Para el melanoma en estadios avanzados, las terapias sistémicas desempeñan un papel esencial. Entre ellas, los inhibidores de puntos de control inmunitario (ICI) destacan como una estrategia clave, ya que bloquean mecanismos tumorales que suprimen la activación de las células T, favoreciendo así una respuesta inmunológica más eficaz del huésped frente al tumor.³²

Los principales puntos de control inmunológico empleados en el tratamiento del melanoma avanzado son el antígeno 4 de los linfocitos T citotóxicos (CTLA-4) y el receptor de muerte programada 1 (PD-1) y más recientemente el gen 3 de activación linfocitaria (LAG3).³³ Diversos anticuerpos monoclonales, como ipilimumab (anti-CTLA-4), pembrolizumab y nivolumab (ambos anti-PD-1), relatlimab (anti LAG3) han demostrado en monoterapia o combinados prolongar significativamente la supervivencia en pacientes con melanoma avanzado^{34,35}.

El uso combinado de inhibidores de puntos de control inmunológico ha evidenciado mayores tasas de respuesta y una mejora en la supervivencia en comparación con la monoterapia, aunque con un incremento en la incidencia de efectos adversos asociados a la respuesta inmune (ir-AES)³⁶.

El uso de terapias antiPD1 en adyuvancia postquirúrgica en pacientes con alto riesgo de recaída (a partir del estadio T3b) ha demostrado mejorar la supervivencia libre de metástasis. En España, actualmente, se ofrece este tratamiento a pacientes desde el estadio IIB/IIC y IIIC. Además, la neoadyuvancia está ofreciendo resultados incluso más prometedores en pacientes con enfermedad quirúrgica, loco-regional o avanzada, iniciando la terapia inmunológica antes de la cirugía^{37,38,37}.

En pacientes con melanoma avanzado que presentan mutaciones en el gen *BRAF*, también se puede ofrecer terapias con combinaciones de inhibidores de *BRAF* y *MEK*³⁴.

En conclusión, el manejo del melanoma maligno se basa en la cirugía para los casos localizados y en el uso de terapias sistémicas, con o sin cirugía, en la enfermedad avanzada o de alto riesgo de recaída (principalmente inmunoterapia³⁹ y terapias dirigidas).

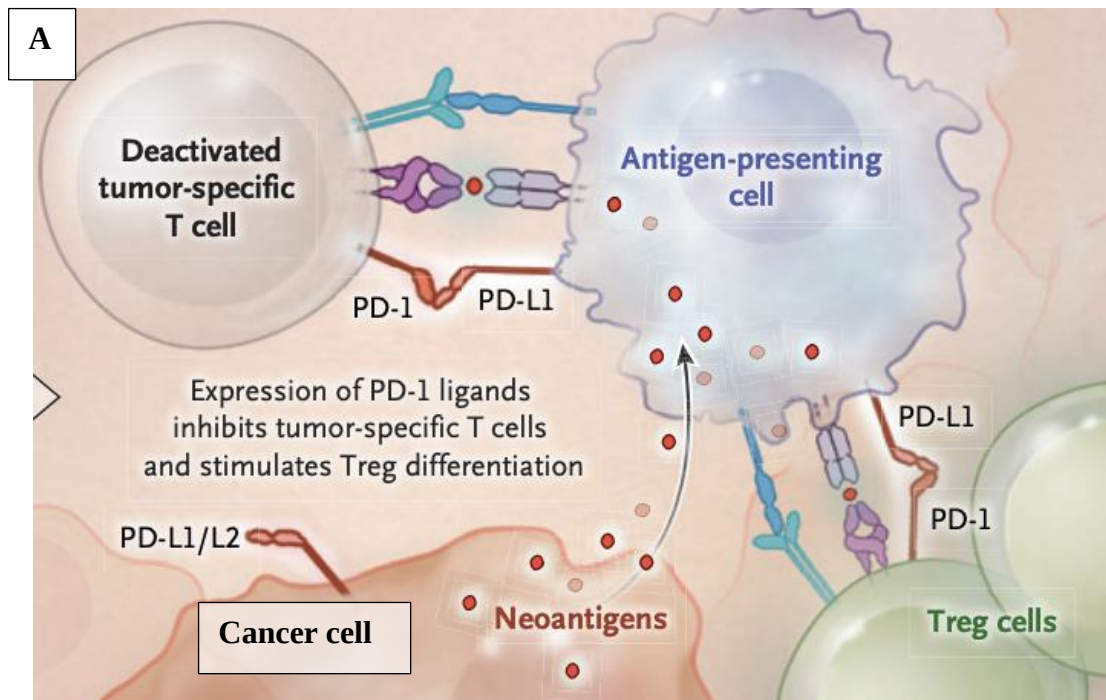


Figura 5.A Esquema que ilustra el punto de anclaje, objetivo del mecanismo de acción de los fármacos inhibidores de puntos de control inmunitario (ICI), específicamente los anti-PD-1 (pembrolizumab y nivolumab): El tratamiento anti-PD-1 funciona bloqueando la interacción entre el receptor de muerte programada 1 (PD-1), presente en la superficie de las células T, y su ligando (PD-L1 o PD-L2), que se encuentra en las células tumorales y otras células del microambiente tumoral. Imagen extraída del artículo de Vassiliki A. Boussiotis³²

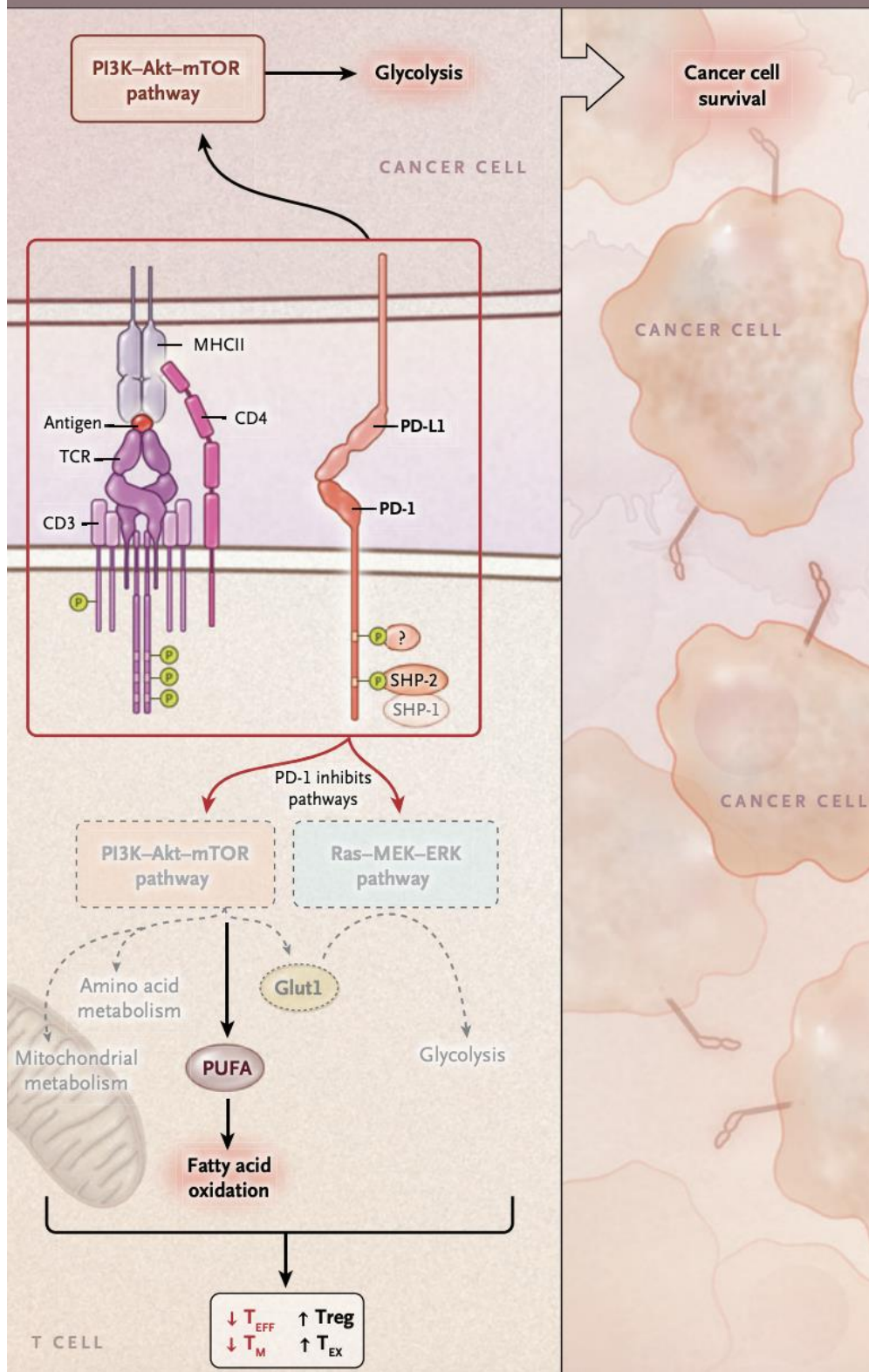
B**B** Ligation of PD-1 by PD-L1 Expressed on a Cancer Cell

Figura 5.B. Esquema que muestra el mecanismo de acción de los fármacos inhibidores de puntos de control inmunitario (ICI), en concreto anti-PD-1. Dicho **Mecanismo de acción** es el siguiente:

- **En condiciones normales**, la unión de PD-1 con PD-L1 o PD-L2 suprime la activación de las células T, lo que impide una respuesta inmune excesiva y protege a los tejidos sanos de la autoinmunidad.
- **En el melanoma** los niveles elevados de PD-L1 consiguen evadir el sistema inmunológico, inactivando las células T efectoras contra el tumor.
- **Los inhibidores anti-PD-1**, como pembrolizumab y nivolumab, bloquean este mecanismo, permitiendo que las células T permanezcan activas y ataquen las células tumorales de manera más efectiva. Imagen extraída del artículo de Vassiliki A. Boussiotis³²

1.3 HERRAMIENTAS PARA EL DIAGNÓSTICO DERMATOLÓGICO:

1.3.1 Técnicas de imagen dermatológica:

1.3.1.1 Dermatoscopia

La dermatoscopia es una técnica no invasiva utilizada en dermatología para examinar la piel y sus estructuras de manera más detallada que a simple vista. También se conoce como dermoscopia o microscopia de epiluminiscencia y requiere del uso de un dermatoscopio: Un dermatoscopio es un dispositivo similar a una lupa, equipado con luz polarizada o no polarizada, que elimina reflejos de la superficie de la piel, permitiendo una visualización más clara de las capas superficiales y subyacentes.

El propósito de esta técnica es la ayuda en el diagnóstico temprano de lesiones pigmentadas que permitirá al experto evitar biopsias innecesarias⁴⁰. Permitirá una mayor precisión en la diferenciación entre nevus, melanomas, y otras tumoraciones cutáneas (queratosis seborreicas, carcinomas basocelulares, carcinomas escamosos, etc) o incluso enfermedades inflamatorias de la piel (como psoriasis, lupus) y del pelo (tricoscopia).

El objetivo principal de la dermatoscopia es identificar estructuras y patrones específicos en las lesiones que puedan ser indicadores de malignidad o benignidad, muchos de los cuales tienen una explicación histopatológica detrás.

Como hemos comentado, existe una superposición entre la dermatoscopia y la histopatología. Sin embargo, la dermatoscopia y la histopatología no son equivalentes. La histopatología tiene una ventaja sobre la dermatoscopia en que evalúa secciones verticales del tejido, lo que permite analizar la profundidad completa de la lesión.

Además, la histopatología permite el uso de técnicas inmunohistoquímicas y moleculares para complementar el diagnóstico morfológico, lo cual no es posible con la dermatoscopia. Por el contrario, a diferencia de la histología, que evalúa menos del 1% del volumen total del tumor, la dermatoscopia evalúa toda la superficie de la lesión en el plano horizontal, pero solo hasta la profundidad de la dermis papilar y sin resolución a nivel celular⁴¹.

La capacidad de evaluar la lesión en el plano horizontal permite identificar ciertas estructuras de importancia diagnóstica, además de permitir al observador identificar

colores, lo que puede ser crucial para el diagnóstico. Otras ventajas de la dermatoscopia incluyen la posibilidad de evaluar el contexto de las lesiones en la piel y realizar una monitorización a lo largo del tiempo para determinar su biología y dinámica.

La dermatoscopia es una herramienta ideal para mejorar el diagnóstico del cáncer de piel y, de hecho, tiene una alta sensibilidad para el diagnóstico de estos cánceres mientras mantiene una alta especificidad, lo que resulta en una baja tasa de falsos positivos ^{42,43,44}.

Sin embargo, como ocurre con cualquier herramienta de diagnóstico, la dermoscopia requiere entrenamiento. Durante la fase de aprendizaje, los clínicos tienden a aumentar su sensibilidad, pero a reducir su especificidad⁴¹. De hecho, durante el primer año después de aprender dermoscopia, generalmente la cantidad de biopsias innecesarias aumenta. Sin embargo, tras adquirir experiencia, la especificidad de los clínicos también mejora.

Es importante destacar que la dermoscopia no debe usarse sin considerar los hallazgos clínicos del paciente o de la lesión que se pretende diagnosticar debido a que los patrones y características dermoscópicas pueden variar según la edad, el tipo de piel, la ubicación de la lesión y el grado de daño solar.

Se requiere un conocimiento adecuado de la dermoscopia, ya que pueden existir excepciones. No obstante, la dermoscopia puede servir como un puente entre los clínicos y los patólogos, fortaleciendo la correlación clinicopatológica.

En la literatura se han publicado múltiples listas de criterios dermatoscópicos para el entrenamiento de los profesionales en el estudio de lesiones sospechosas de melanoma: una de las más aceptadas es la **Lista de los 7 puntos de Argenziano**. Este método asigna puntos a siete características dermatoscópicas específicas, cada una de las cuales tiene un valor de 1 punto (criterios menores), excepto tres características que tienen un valor de 2 puntos (criterios mayores)^{45,46}. Las características son las siguientes:

Criterios Mayores	Puntuación
Red de pigmento atípico	2
Velo azul-blanquecino	2
Patrón vascular atípico	2
Criterios Menores	
Proyecciones irregulares	1
Pigmentación irregular	1
Glóbulos/puntos irregulares	1
Estructuras de regresión	1

Figura 6. Lista de los 7 puntos de Argenziano⁴⁵. Tabla adaptada y traducida. Criterios dermatoscópicos y sistema de puntuación.

Una lesión que acumula 3 o más puntos se considera sospechosa de melanoma y generalmente se recomienda su excisión para un análisis histopatológico más detallado. Este algoritmo ha demostrado ser una herramienta útil en la práctica clínica para mejorar la precisión diagnóstica de los dermatólogos en la detección temprana del melanoma.⁴⁷

Entre los patrones que pueden presentar las lesiones pigmentadas, es importante destacar las características dermatoscópicas asociadas a la inflamación y la regresión histopatológica, como las llamadas estructuras blanco-azuladas. Estas pueden verse como áreas blancas (despigmentación similar a una cicatriz blanca), áreas azules (gránulos azulados como de pimienta), o una combinación de ambas⁴⁸. Se ha informado que las lesiones melanocíticas que muestran regresión combinada blanco-azulada y/o más del 50% de la superficie con criterios de regresión deben ser extirpadas, ya que hasta un 70% de ellas pueden ser equívocas o "limítrofes" después de ser revisadas en reuniones patológicas de consenso⁴⁸. Hasta la fecha, las características dermatoscópicas del SN han sido descritas por Kolm *et al*². Analizaron 138 imágenes dermatoscópicas digitales de nevus con halo y encontraron que los patrones globulares y/o homogéneos son las características dermatoscópicas típicas en estos nevus. Informaron que los nevus con halo presentan un halo regular cuyo tamaño tiende a disminuir con el tiempo. Como regla general, cuando se presentan características dermatoscópicas atípicas con criterios

regresivos, las lesiones melanocíticas se consideran sospechosas, mientras que si un halo simétrico está asociado a un nevus de apariencia banal, sugiere un SN.

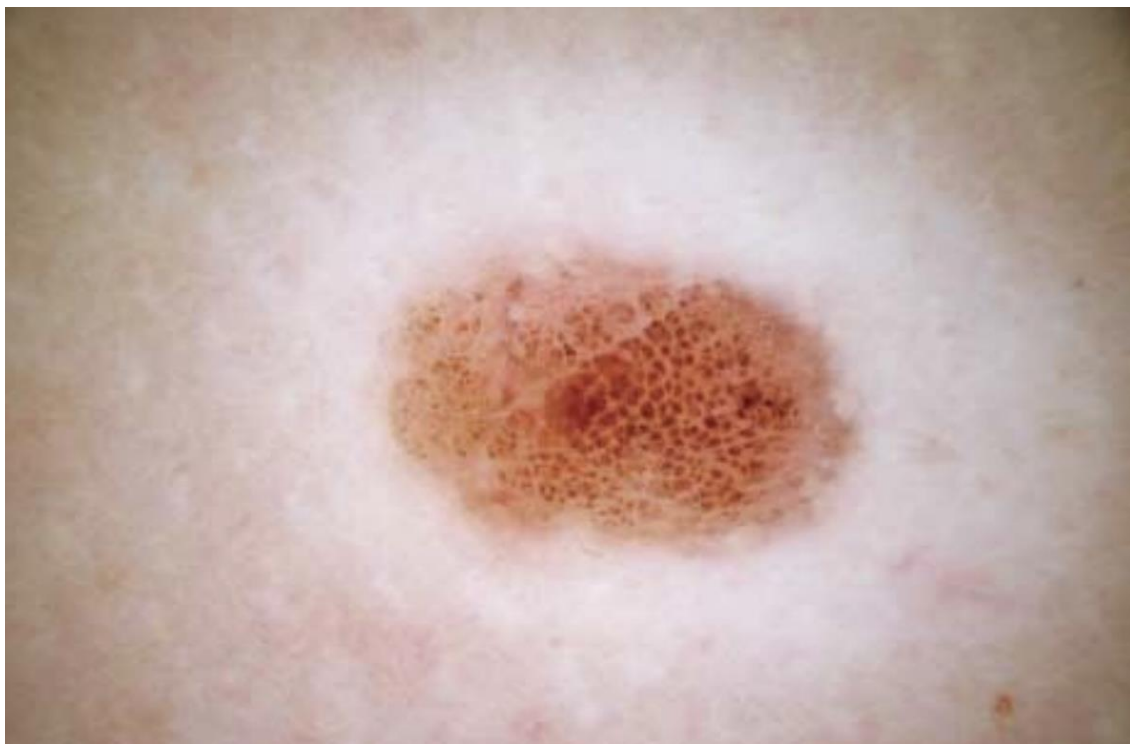


Figura 7. Dermatoscopia de nevus de Sutton (SN). Dermatoscópicamente la lesión presenta un patrón globular que corresponde al nevus central y un borde circundante de área blanca sin estructura, que corresponde al halo. Imagen extraída del estudio de Kolm et al².

1.3.1.2 Microscopia confocal de reflectancia (RCM) in vivo:

La microscopía confocal de reflectancia (RCM) es una herramienta de imagen no invasiva que proporciona vistas horizontales in vivo de la piel, cercanas a las histológicas, y recientemente se ha descrito un desarrollo considerable de sus aplicaciones para el diagnóstico de lesiones cutáneas en la literatura^{49,50,51,52}. Se ha demostrado que la evaluación por RCM es útil en lesiones melanocíticas clínicamente y dermatoscópicamente equívocas, con el fin de diferenciar entre melanoma y nevus. En el contexto de pacientes con múltiples nevus bajo monitorización digital, la RCM ayuda a reconocer melanomas incipientes (alta sensibilidad), al mismo tiempo que evita extirpaciones innecesarias (alta especificidad), disminuyendo el número necesario a tratar (proporción Benigno Maligno de 2:1)^{53,54}.

Desafortunadamente, aunque la RCM ha mejorado significativamente nuestra sensibilidad y especificidad en la detección de lesiones malignas, su precisión diagnóstica no es del 100%, y por lo tanto, aún es necesario reconocer algunas limitaciones de la técnica e interpretar los hallazgos en el contexto del escenario clínico completo. Primero, la RCM no puede mostrar imágenes adecuadas más allá de la dermis papilar (alrededor de 250 micrómetros). En segundo lugar, la interpretación de la prueba requiere experiencia y formación, y en tercer lugar, algunas lesiones pueden seguir siendo equívocas y conducir a un diagnóstico falso positivo o negativo de melanoma.

Con el fin de simplificar el aprendizaje y la evaluación de lesiones atípicas, se han desarrollado diferentes algoritmos. Como ejemplo, el algoritmo de Barcelona incluye las principales características de RCM asociadas a melanoma: la presencia de células redondeadas pagetoides ubicadas en la epidermis, células nucleadas atípicas en la dermis, papilas no bien definidas y células basales atípicas^{8,53}.

Algoritmo Barcelona RCM⁵³

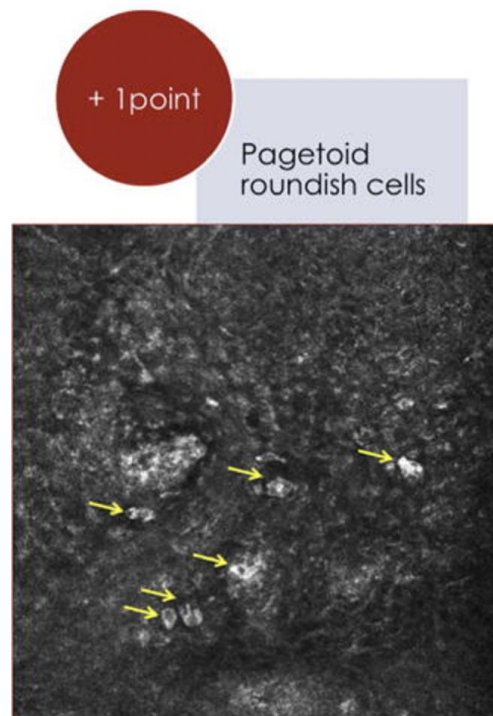


Figura 8.A La presencia de células redondeadas pagetoides ubicadas en la epidermis supone un criterio de riesgo según el algoritmo Barcelona para la distinción entre nevus y melanoma con el uso de RCM⁵³.

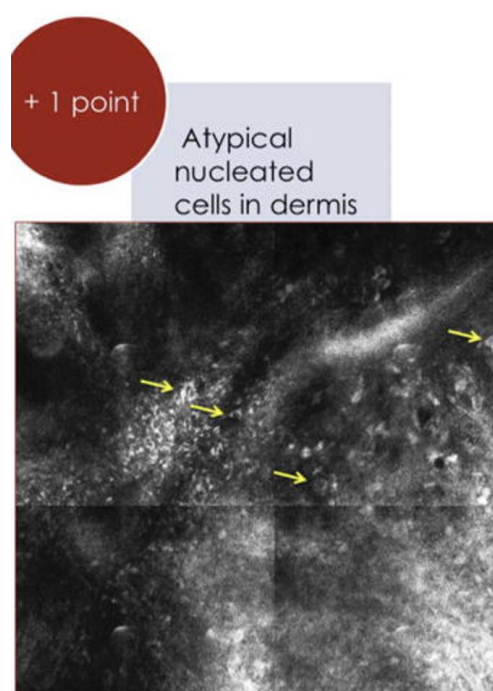


Figura 8.B La presencia de células nucleadas atípicas ubicadas en la dermis supone un criterio de riesgo según el algoritmo Barcelona para la distinción entre nevus y melanoma con el uso de RCM⁵³.

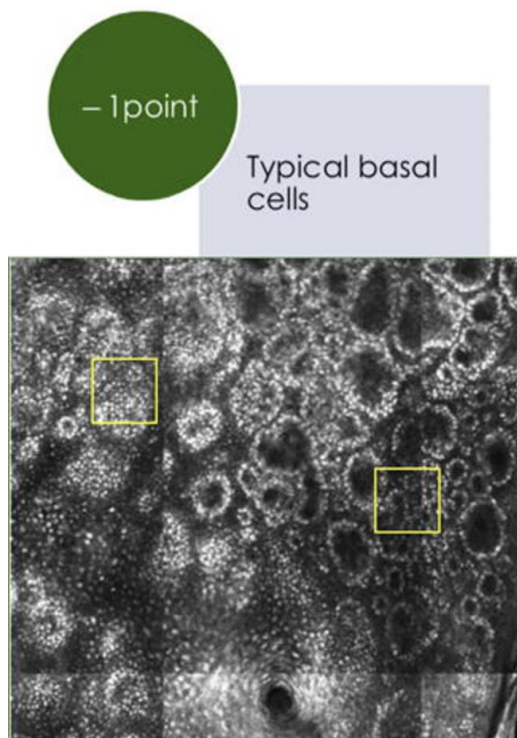


Figura 8.C La presencia de células basales típicas supone un criterio protector según el algoritmo Barcelona para la distinción entre nevus y melanoma con el uso de RCM⁵³

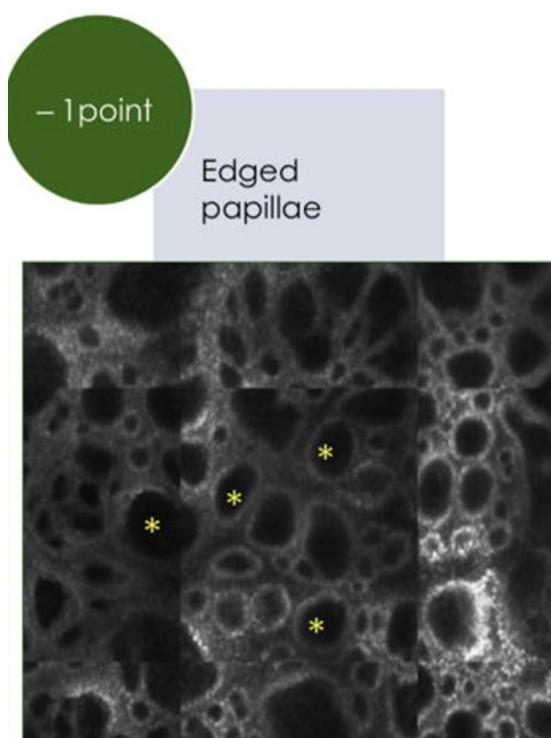


Figura 8.D La presencia de papilas bien definidas supone un criterio protector según el algoritmo Barcelona para la distinción entre nevus y melanoma con el uso de RCM⁵³

Solo cuatro características en el confocal diferenciaron entre nevus y melanoma en el análisis multivariable según el estudio de Segura y colaboradores⁵³. Dos características protectoras se asociaron a lesiones benignas (células basales típicas y papilas bien definidas), mientras que dos características de riesgo se relacionaron con el melanoma (células redondeadas pagetoides ubicadas en la epidermis y células nucleadas atípicas en la dermis).

Según la presencia o ausencia de factores protectores y de riesgo, asignaron a las lesiones un valor de -2 a 2. Con un punto de corte de -1 para distinguir entre lesiones benignas y malignas, el algoritmo mostró una sensibilidad del 86,1 % y una especificidad del 95,3 %.

En cuanto a los nevus de Sutton (SN), sus características de RCM han sido descritas recientemente en una serie de casos por Schawrz *et al.*⁵⁴, quienes describieron la evaluación confocal in vivo de nueve nevus con halo clásicos clínicamente diagnosticados. Encontraron que:

- En cinco (55.6%) casos se observaron células pagetoides.
- Se encontraron papilas dérmicas no bien definidas y engrosamiento en la unión en tres (33%) casos.
- Se observaron células nucleadas en las papilas dérmicas en siete (77.8%) casos.
- Se objetivaron células brillantes grandes (tipo Plump bright cells) en seis (66.7%) casos.

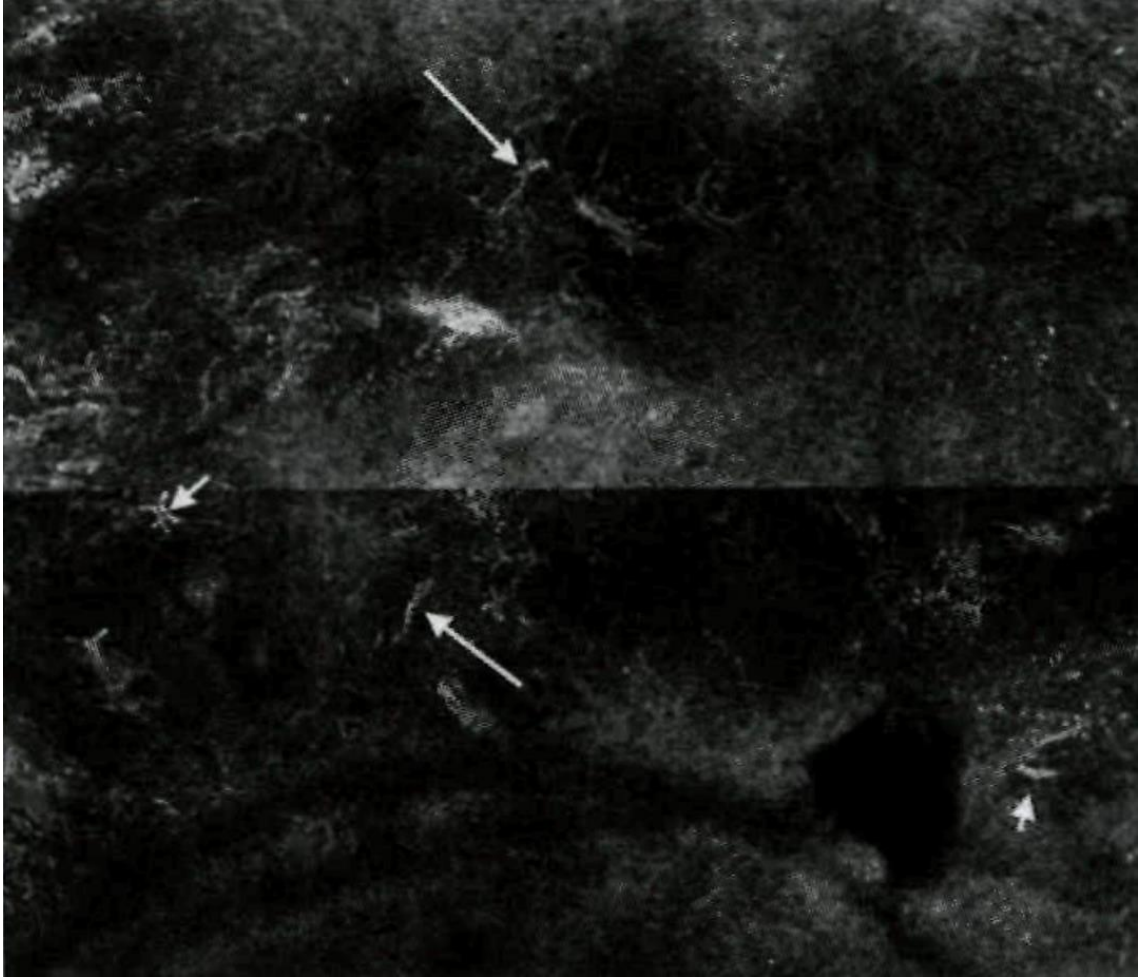


Figura 9.A Corte horizontal epidérmico de microscopia confocal de reflectancia (RCM) de un nevus de Sutton del estudio de Schwartz y colaboradores. Destaca la presencia de numerosas células dendríticas pagetoides (flechas)⁵⁴.

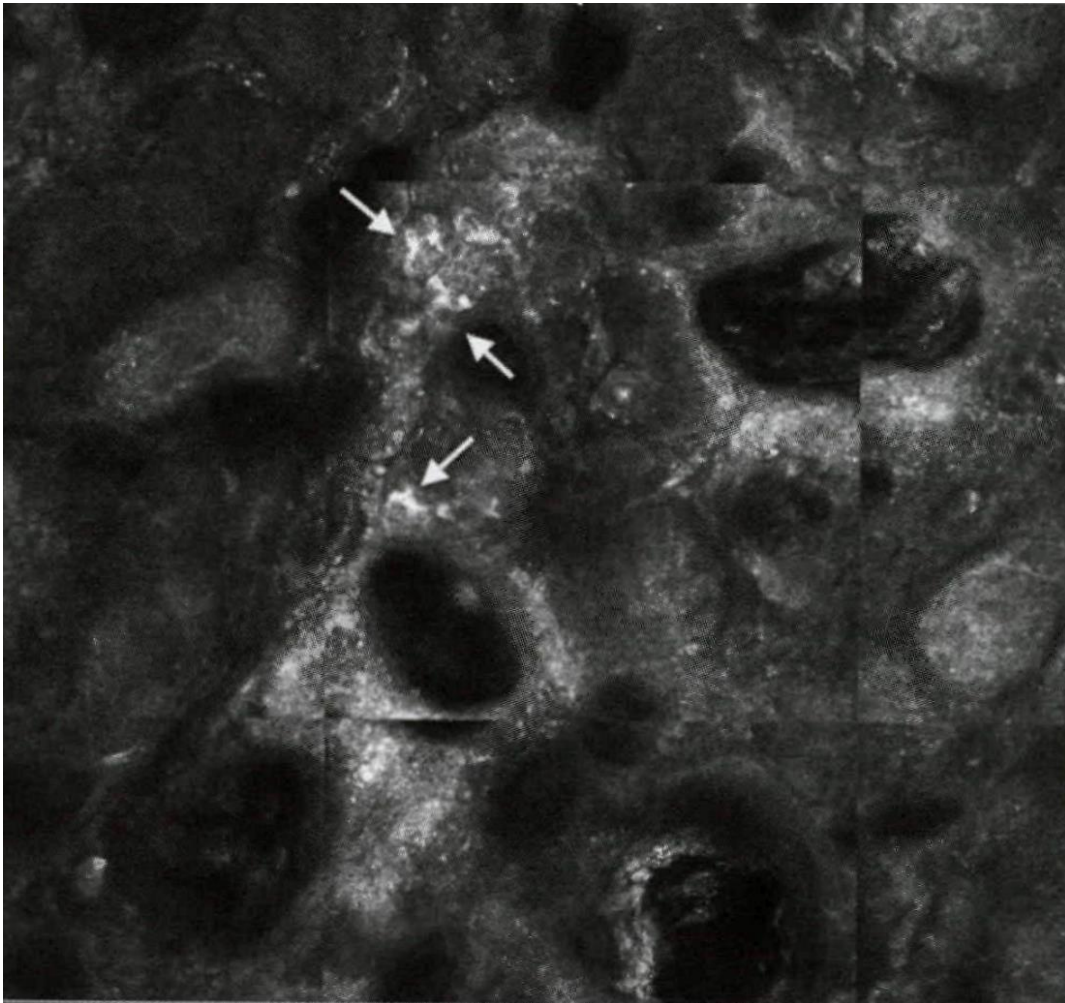


Figura 9.B Corte horizontal en dermis superficial de microscopia confocal de reflectancia (RCM) de un nevus de Sutton del estudio de Schwartz y colaboradores. Destaca la presencia de numerosas células brillantes grandes tipo Plump bright cells (flechas)⁵⁴.

Los autores⁵⁴ concluyen que la evaluación por RCM de los SN puede mostrar características atípicas que se superponen con aquellas observadas en lesiones melanocíticas atípicas y melanomas.

1.3.1.3 Seguimiento secuencial mediante imagen dermatológica:

La dermatoscopia es una técnica especialmente útil para la monitorización y seguimiento de aquellos pacientes con elevado número de nevus, y especialmente afectados de melanoma y síndrome de nevus displásico (SND). El seguimiento digital en pacientes de alto riesgo a melanoma se refiere a la monitorización de lesiones melanocíticas utilizando herramientas digitales como la fotografía corporal total y la dermatoscopia digital. Este enfoque resulta especialmente útil en pacientes con un mayor riesgo de desarrollar melanoma y se ha demostrado que gracias a la detección de cambios sutiles en las comparativas, permite la identificación temprana de melanomas con una baja tasa de extirpaciones innecesarias.^{55,56}

El método de seguimiento digital más comúnmente utilizado es el "método de dos pasos", que combina la fotografía corporal total con la dermatoscopia digital. Este método ha demostrado ser eficaz en la detección temprana de melanomas, reduciendo la necesidad de extirpaciones innecesarias de lesiones benignas⁵⁵. En un estudio realizado por nuestro grupo⁵⁵, se monitorizaron 11,396 lesiones en 618 pacientes de alto riesgo durante un seguimiento mediano de 96 meses, resultando en la detección de 98 melanomas, la mayoría de los cuales fueron melanomas in situ o melanomas invasivos con un índice de Breslow menor a 1 mm.

Además, nuestro grupo demostró que la combinación de la dermatoscopia digital con la microscopía confocal de reflectancia (RCM) mejora aún más la precisión diagnóstica en pacientes incluidos en el programa de seguimiento digital. Esta combinación permite identificar cambios dinámicos en las lesiones melanocíticas y reducir el número de resecciones innecesarias.⁴⁹ Nuestro grupo evaluó el uso combinado de la dermatoscopia digital y la RCM en lesiones melanocíticas equívocas estudiadas durante el seguimiento digital, obteniendo una sensibilidad del 100% y una especificidad del 69% para el diagnóstico de melanoma. Estos resultados sugieren que la adición de RCM a la dermatoscopia digital mejora significativamente la sensibilidad en la detección temprana de melanomas.

En conclusión, el seguimiento digital es una estrategia eficaz para la detección precoz de melanomas en pacientes de alto riesgo. Herramientas como la fotografía corporal total y la dermatoscopia digital desempeñan un papel clave en este proceso y pueden

complementarse con la microscopía confocal de reflectancia para optimizar la precisión diagnóstica.

1.3.2 Herramientas histopatológicas

El gold estándar en el diagnóstico de las lesiones melanocíticas es el análisis histopatológico, el cual permite tras la extirpación quirúrgica identificar características clave de benignidad o malignidad en los tumores. Sin embargo, el melanoma maligno ha planteado nuevos retos diagnósticos histológicos que se han intensificado paralelamente a la mejora de las técnicas de imagen no invasivas comentadas anteriormente (como la dermatoscopia y la microscopia confocal). Actualmente dichas técnicas permiten la detección de melanomas tempranos y de difícil diagnóstico, incrementando así el número de tumores histológicamente desafiantes⁵⁷. El estudio de características específicas, como la regresión tumoral y los infiltrados inflamatorios, ha despertado un considerable interés, ya que pueden llevar a errores en el diagnóstico de lesiones melanocíticas bajo el microscopio⁵⁸. Por lo tanto, es fundamental comprender los mecanismos inmunológicos involucrados en estos fenómenos, ya que pueden contribuir a un mejor diagnóstico y ser muy útiles para el desarrollo de terapias específicas dirigidas^{59, 60}.

La regresión tumoral, un fenómeno observado en una proporción significativa de melanomas (con una frecuencia que varía entre el 10% y el 58%), se caracteriza por una reducción parcial o completa del componente melanocítico, acompañada de un infiltrado inflamatorio, melanófagos, nuevos vasos y variable fibrosis⁶¹. La influencia de la regresión en el pronóstico del melanoma ha generado un amplio debate a lo largo de los años⁶²: Algunos estudios consideran que la regresión es un factor pronóstico negativo, ya que podría interferir con la medición precisa del grosor Breslow del melanoma, afectando así la correcta estadificación tumoral. Otros estudios sugieren que la regresión histológica aumenta el riesgo de metástasis. Por el contrario, algunos informes proponen que la regresión no altera el pronóstico e incluso, en ciertos casos, podría actuar como un factor protector^{61,63,64,65}.

Las investigaciones han revelado que las características de malignidad y biológicas específicas de un cáncer están influenciadas no solo por sus anormalidades genéticas, sino también por la interacción entre las células cancerígenas y su microambiente circundante. La interacción entre el tumor y el sistema inmunológico del huésped resulta particularmente fascinante, especialmente dado el impacto clínico significativo mostrado por los medicamentos dirigidos a estas vías específicas⁶⁶. De hecho, la presencia de linfocitos infiltrantes densos en el tumor se ha asociado con una mejor respuesta a los

inhibidores de puntos de control inmunitario (ICI)⁶⁷. De manera similar, los nevus de Sutton (SN), que son lesiones benignas clínicamente caracterizadas por un halo acrómico que rodea al nevus melanocítico, también han mostrado asociaciones con la activación de respuestas inmunitarias locales^{60,68}. El fenómeno del halo, manifestado como un halo despigmentado asociado principalmente a nevus melanocíticos adquiridos, también puede observarse en otros tumores melanocíticos cutáneos, siendo el melanoma un tema de especial atención⁶⁸. Recientemente, el análisis inmunofenotípico de las células inflamatorias presentes en el microambiente tumoral de melanomas en regresión y nevus con halo ha despertado un creciente interés^{63,69}: Identificar y caracterizar el perfil inmunofenotípico en estas lesiones podría proporcionar información invaluable sobre la respuesta inmune local y sus posibles implicaciones en la patogénesis y progresión de estas entidades cutáneas. Según la literatura, la caracterización del infiltrado inmune en melanomas con regresión histológica reveló una prevalencia de células T efectoras y supresoras, células B, células Natural Killer (NK), macrófagos y células dendríticas reguladoras, todas capaces de ejercer efectos inmunoestimuladores o inmunosupresores contrastantes dentro del mismo microambiente tumoral⁶⁴. Por el contrario, se ha publicado que el infiltrado inflamatorio observado en los nevus con halo destaca por una mayor cantidad de células T citotóxicas activas (CD8) y células T reguladoras positivas para PD1 cuando se contrasta con el infiltrado observado en los melanomas con regresión⁶³.

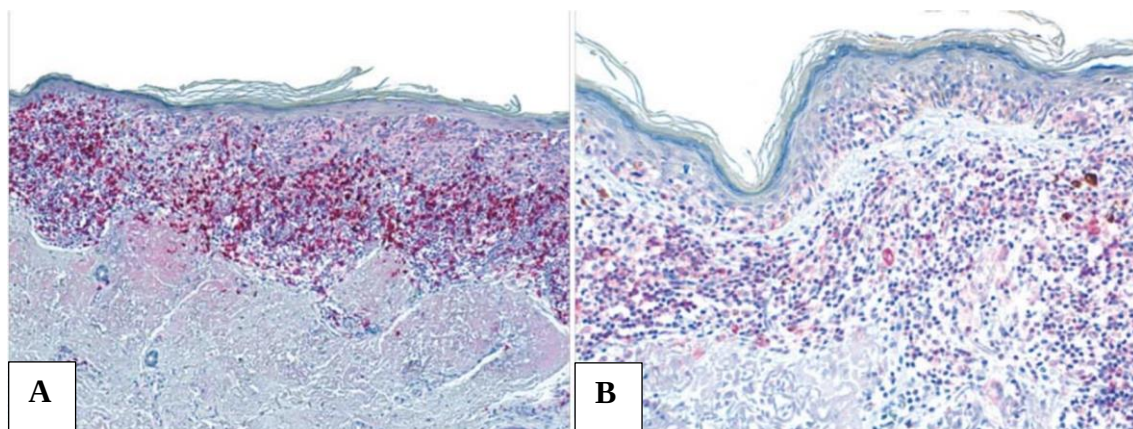


Figura 10. Ambas imágenes corresponden a tinciones inmunohistoquímicas de melanomas con regresión histológica. **Figura 10.A.** Marcador CD8 (x10). **Figura 10.B.** Marcador PD1 (x20).⁶³

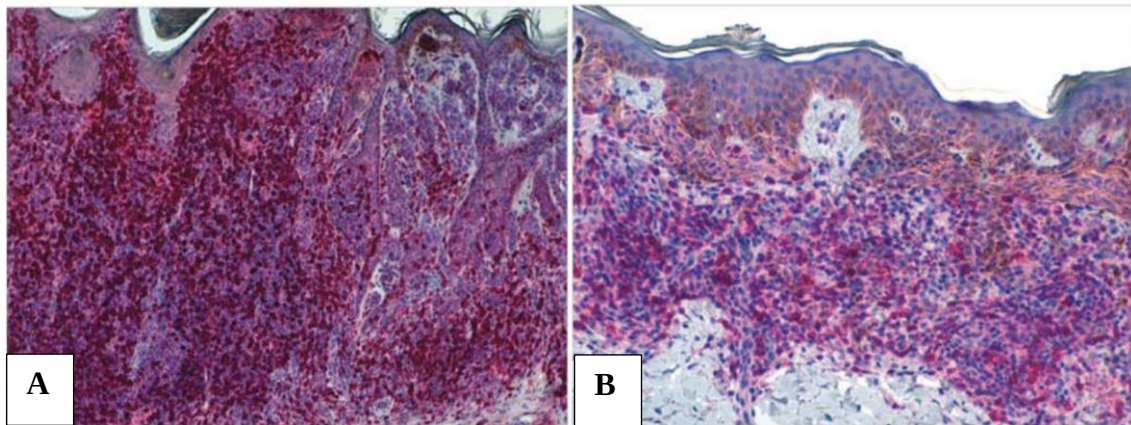


Figura 11 Ambas imágenes corresponden a tinciones inmunohistoquímicas de nevus de Sutton (SN). **Figura 11.A** Marcador CD8 (x10). **Figura 11.B** Marcador PD1 (x20) ⁶³. Es importante destacar la predominancia de de células T citotóxicas activas (CD8) y células T reguladoras positivas para PD1 en los nevus de Sutton en contraste con los melanomas con regresión histológica.

HIPÓTESIS

2. HIPÓTESIS

1. La microscopía confocal de reflectancia *in vivo* podría mejorar el diagnóstico de lesiones melanocíticas benignas marcadamente inflamadas, como los nevus de Sutton, y ser de ayuda en el estudio de lesiones con cambios inflamatorios durante las terapias sistémicas con fármacos inhibidores de puntos de control inmunitario (ICI).
2. La inmunogenicidad inducida por tumores melanocíticos benignos y malignos podría diferir significativamente debido a las características intrínsecas de cada tipo de lesión y a la interacción específica con el sistema inmunológico del huésped. Dicha variabilidad en la inmunogenicidad haría que los fenómenos inflamatorios y de regresión observados en nevus de Sutton y melanomas tuvieran patrones distintivos.
3. La caracterización del infiltrado inmunitario mediante técnicas de inmunohistoquímica podría ayudar a diferenciar entre nevus de Sutton y melanomas en lesiones equívocas o de difícil diagnóstico. Además, estas diferencias podrían ofrecer pistas para el desarrollo de terapias específicas que potencien la respuesta inmunitaria en melanomas o incluso para identificar biomarcadores pronósticos y predictivos en ambas entidades.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

1. Describir las características dermatoscópicas y de microscopía confocal de los nevus de Sutton, así como su correlación con hallazgos histopatológicos.
2. Comparar las características dermatoscópicas y de microscopía confocal de los nevus de Sutton con las observadas en melanomas con inflamación.
3. Evaluar la utilidad de la microscopía confocal para el diagnóstico de lesiones pigmentadas con inflamación.
4. Caracterizar el infiltrado inflamatorio presente en los nevus de Sutton mediante técnicas de inmunohistoquímica.
5. Comparar el perfil inmunofenotípico de los nevus de Sutton con el patrón inflamatorio de linfocitos intratumorales observados en melanomas con fenómenos de regresión.

MATERIAL, MÉTODOS Y RESULTADOS

4. MATERIAL, MÉTODOS Y RESULTADOS

4.1 ARTÍCULOS ORIGINALES

4.1.1 Artículo 1

Con el propósito de responder a los objetivos 1 y 2:

1. Describir las características dermatoscópicas y de microscopía confocal de los nevus de Sutton, así como su correlación con hallazgos histopatológicos.
2. Comparar las características dermatoscópicas y de microscopía confocal de los nevus de Sutton con las observadas en melanomas con inflamación.

Realizamos el siguiente estudio:

Sutton Naevi as Melanoma Simulators: Can Confocal Microscopy Help in the Diagnosis?

Brugués A, Ribero S, Martins da Silva V, Aguilera P, Garcia AP, Alós L, Malveyh J, Puig S, Carrera C.

Acta Dermato Venereologica. 2020 May 11;100(10):5743.

Factor de Impacto: 4.437

Primer cuartil

Resumen del artículo 1:

El nevus de Sutton (SN), también conocido como nevus con halo se caracteriza por ser un nevus melanocítico benigno rodeado por un halo blanco simétrico, resultado de una intensa respuesta inmunitaria linfocítica que frecuentemente lleva a la involución de la lesión. Aunque el diagnóstico de SN suele ser clínico e inequívoco, en algunos casos la inflamación puede generar características atípicas que dificultan su diferenciación clínica y dermatoscópica con melanoma.

La microscopía confocal de reflectancia (RCM) proporciona una visualización *in vivo* con resolución casi histológica y ha demostrado utilidad en la evaluación de lesiones

melanocíticas dudosas, permitiendo distinguir entre lesiones benignas y malignas, y evitando así biopsias innecesarias. Este estudio busca examinar las características dermatoscópicas y confocales asociadas al SN, y compararlas con melanomas con signos de regresión, abordando los retos diagnósticos que estas lesiones presentan.

Resultados:

- **Características clínicas:** Los pacientes con SN eran significativamente más jóvenes que los de melanoma (32 años $\pm$ 13.23 SD frente a 58 años $\pm$ 16.62 SD, $p < 0.001$). Las lesiones benignas eran más pequeñas (5.73 mm $\pm$ 2.76 SD frente a 13 mm $\pm$ 8.72 SD, $p < 0.001$) y la mayoría se localizaban en el tronco. De las 17 lesiones que presentaban un halo blanquecino periférico, 16 de ellas (94 %) eran SN, mientras que 1 (6 %) era melanoma. Once (65 %) de las lesiones mostraron un halo regular y simétrico, en contraste con 6 lesiones (incluyendo 1 melanoma) en las que el halo era irregular y asimétrico. Todas las lesiones con halo simétrico resultaron ser SN.
- **Hallazgos dermatoscópicos:** Las diferencias dermatoscópicas objetivadas entre SN atípicos y melanomas fueron las siguientes: Los melanomas presentaron con mayor frecuencia el velo azul-blanquecino (presenten en un 35% de melanomas y en ningún nevus de Sutton atípico, $p=0.003$), líneas blancas cortas brillantes (presentes en 43% de los melanomas y en un 5% de los SN atípicos, $p=0.003$), proyecciones (57% de los melanomas y 10% de SN atípicos, $p<0.01$) y manchas irregulares (30% de los melanomas y ningún SN atípico, $p<0.01$). No se objetivaron diferencias en cuanto a: retículo invertido, vasos atípicos y ulceración.
- **Características de la regresión:** Tanto los SN atípicos como los melanomas mostraron signos dermatoscópicos sugestivos de regresión (áreas blancas y azul-gris), siendo la distribución periférica/global del pigmento azul-gris observada exclusivamente en los SN (19%, $p=0.028$).
- **Hallazgos en RCM:** Las diferencias clave entre SN y melanomas se centraron en la arquitectura de la unión dermoepidérmica (UDE). Los SN presentaron más frecuentemente nidos, mientras que los melanomas mostraron en $>10\%$ de la superficie engrosamientos de la UDE, $>10\%$ de papilas mal definidas y células basales atípicas (dendríticas o redondas).

Discusión:

El estudio confirmó que los SN pueden presentar signos atípicos compartiendo características dermatoscópicas y confocales indistinguibles de los melanomas, complicando su diagnóstico. De forma similar ambos tipos de lesiones pueden mostrar mediante confocal células atípicas en la epidermis y en el interior de las papilas dérmicas. Sin embargo, la presencia de menos del 10% de papilas mal definidas o de menos del 10% de engrosamientos en la UDE, o la observación de nidos, se asociaron a benignidad. La edad del paciente resultó ser un factor clínico crucial: las lesiones inflamadas en adultos jóvenes se asociaron a benignidad. Aunque la presencia de signos dermatoscópicos de regresión es un signo de sospecha de malignidad, este estudio encontró que su distribución periférica y global se asocia a SN.

Limitaciones:

El estudio fue realizado en un único centro, con un tamaño de muestra limitado. Además, la profundidad de las imágenes confocales fue insuficiente para evaluar estructuras dérmicas profundas y no se analizaron los patrones vasculares de las lesiones. La evaluación por consenso entre dos dermatólogos, en lugar de una evaluación independiente, podría haber introducido un sesgo en los resultados.

Conclusiones:

Existen nevus de Sutton de presentación atípica que pueden ser indistinguibles de melanoma tanto en dermatoscopia como en RCM, lo que en algunos casos justifica la necesidad de extirpación para descartar malignidad. Sin embargo, la integración de hallazgos clínicos, dermatoscópicos y confocales permite mejorar la precisión diagnóstica. La edad es un factor determinante en la decisión de extirpar o no lesiones inflamadas. Este estudio destaca la importancia de la RCM como herramienta para diferenciar lesiones melanocíticas benignas y malignas, al identificar parámetros clave asociados a lesiones melanocíticas inflamadas benignas frente a melanoma.

Sutton Naevi as Melanoma Simulators: Can Confocal Microscopy Help in the Diagnosis?

Albert BRUGUÉS¹, Simone RIBERO^{1,2}, Vanessa MARTINS DA SILVA¹, Paula AGUILERA^{1,3}, Adriana P. GARCÍA^{4,5}, Lluïa ALÓS^{4,5}, Josep MALVEHY^{1,3}, Susana PUIG^{1,3,5} and Cristina CARRERA^{1,3,5}

¹Dermatology Department, Hospital Clínic & Melanoma Group IDIBAPS (Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer), Barcelona, Spain, ²Medical Sciences Department, Section of Dermatology, University of Turin, Turin, Italy, ³Centro Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), ⁴Department of Pathology, Hospital Clínic Barcelona, and ⁵University of Barcelona, Barcelona, Spain

Sutton naevi can sometimes present a challenging appearance with atypical presentation, also by dermoscopy. Reflectance confocal microscopy could help in making a diagnosis. This study prospectively collected two groups of Sutton naevi: the first one was composed by typical white halo naevi monitored for one year (13, 23%) and the second one was made up of atypical lesions excised in order to rule out melanoma, which were histologically diagnosed as Sutton naevi (21, 37%). These two groups of Sutton naevi were compared to a retrospectively collected cohort of thin melanomas with histologic regression features (23, 40%). On dermoscopy, atypical Sutton naevi and melanomas were indistinguishable. Reflectance confocal microscopy demonstrated significant differences at the dermo-epidermal junction: marked dermo-epidermal junction thickening and non-edged papilla were associated with melanoma, while the presence of nests was associated with Sutton naevi. However, reflectance confocal microscopy also detected marked intraepidermal pagetoid cells in Sutton naevi that were a combination of MelanA⁺ and CD1a⁺ cells. Sutton naevi can simulate melanoma, under both dermoscopy and reflectance confocal microscopy. Nevertheless, relevant confocal dermo-epidermal junction features and the clinical scenario can be helpful to make a final diagnosis, especially in those situations where melanoma must be ruled out.

Key words: Sutton naevus; melanoma; simulator; reflectance confocal microscopy; dermoscopy; dermatoscopy.

Accepted Apr 21, 2020; Epub ahead of print Apr 21, 2020

Acta Derm Venereol

Corr: Cristina Carrera, Dermatology Department, Hospital Clínic Barcelona, Villarroel 170, ES-08036 Barcelona, Spain. E-mail: ccarrera@clinic.cat

Sutton naevus (SN), also known as halo naevus, is a clinical-pathological condition described by Richard L. Sutton in 1916 as “*leukoderma acquisitum centrifugum*” (1). SN consists of a benign melanocytic neoplasm with a marked lymphocytic host response, which often leads to regression or involution of the naevus. Clinically, SN usually appears as a central melanocytic naevus surrounded by a symmetrical roundish-to-oval white circle (2).

SIGNIFICANCE

Sutton naevi can often be diagnosed easily, but they sometimes present a challenging appearance, without a white halo, clinically and dermoscopically simulating melanoma. Reflectance confocal microscopy, a non-invasive imaging technique that has been demonstrated to improve detection of melanoma, could be used to distinguish these benign inflamed naevi from melanoma. The results of this study show that atypical presentation of Sutton naevi does exist and that, even by reflectance confocal microscopy, such naevi may be indistinguishable from melanoma. However, the integration of the subject's age and the careful examination of the dermo-epidermal junction by reflectance confocal microscopy can help clinicians to make the decision between excision or follow-up.

Although the diagnosis of inflamed melanocytic lesions, such as SN, is usually straightforward (3), sometimes inflammation makes these entities suspicious on clinical and dermoscopic evaluation. The atypical features that naevi can present after acute sun exposure and inflammation due to sunburn (4) are also well known. Indeed, inflamed naevi can pose a diagnostic challenge for both clinical and dermoscopic examination, and melanoma has to be ruled out in equivocal cases.

Reflectance confocal microscopy (RCM) is a non-invasive imaging tool that provides an *in vivo* near-histological horizontal view of the skin. Continuous and substantial development of its applications for the diagnosis of skin conditions has been described during the last decade (5). In particular, RCM evaluation has proven useful in examining clinically and dermoscopically equivocal melanocytic lesions, in differentiating between benign and malignant cases, and thus avoiding unnecessary biopsies of naevi (6, 7).

Dermoscopic differential diagnosis between SN and melanomas can sometimes be a challenge, therefore we suggest that RCM could significantly improve the diagnostic accuracy of dermoscopically atypical inflamed benign naevi, such as SN. The aim of the present study was to describe dermoscopic and RCM features associated with SN, and secondarily, to compare them with inflamed melanomas. A series of SN presented

as clinical/dermoscopic atypical lesions, which were excised to rule out malignancy, were compared with a series of classical SN and with melanomas with regression features.

MATERIALS AND METHODS

A single-institution prospective cohort of SN was analysed and compared with a historically collected cohort of melanomas.

We collected data from patients referred to the Melanoma Unit at the University Hospital of Barcelona, Spain, between 1 January 2010 and 30 May 2017. The evaluated patients met one of the following inclusion criteria for the 3 groups: (i) dermoscopic atypical melanocytic lesions excised due to the possibility of melanoma, which were subsequently histologically diagnosed as SN; (ii) typical white halo SN; (iii) thin melanomas (Breslow < 1.5 mm) that showed inflammation and regression features on histopathology.

Data regarding the age and sex of the patients, as well as the anatomical location and size of every lesion were collected. Each lesion was documented with a digital camera (Canon PowerShot G10, Canon, Tokyo, Japan) and a high-resolution polarized dermatoscope (DermLite Photo, 3GEN, LLC Dana Point, CA, USA). *In vivo* confocal microscopy was performed on every lesion with a commercially available reflectance confocal microscope (Vivascope 1500; Lucid Inc., Henrietta, NY, USA), which uses a near-infrared laser at 830-nm wavelength with a maximum power of 35 mW.

Dermoscopy and RCM images were interpreted by consensus by 2 dermatologists. The dermoscopic and confocal criteria used have been described previously in the literature (8–10). Dermoscopic evaluations of the 3 groups were analysed separately. Regarding RCM evaluation, atypical and classical SN were considered as a single group of benign lesions, contrary to melanomas. Histopathological assessment was considered the reference standard for diagnosis of benign (SN) or malignant melanocytic lesions. It was performed by 2 certified dermatopathologists with experience in melanocytic neoplasms. Immunohistochemical studies with mouse monoclonal antibodies against double staining for co-expression Ki67-MelanA (proliferative and melanocyte markers) and for CD1a (Langerhans cell marker) are always performed as routine in our laboratory.

All lesions presenting peripheral symmetrical hypopigmentation (white halo) and no suspicious criteria for malignancy at clinical/dermoscopic examination were defined as clinically typical SN. As a result of the integration of clinical presentation, along with dermoscopic and confocal evaluation, those lesions that were considered SN were not excised and remained under digital monitoring. No suspicious changes were detected after a minimum of 1 year of follow-up.

The Institutional Review Board of Ethics Committee at the hospital clinic approved the protocol. All experiments were conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki.

Statistical analyses

For basic statistical analysis, the absolute and relative frequencies of each clinical, dermoscopic and RCM feature were calculated. Fisher's exact test, χ^2 -test and Spearman's correlation coefficients were calculated for each qualitative feature related to the final diagnoses. Student's *t*-test was used for quantitative comparison among independent groups. The Kruskal–Wallis test was used for comparison of multiple groups.

Logistic regression was used to examine the association between dermoscopic and RCM features, according to the final pathological report. All statistical tests were 2-sided and a *p*-value ≤ 0.05 was considered significant. The analyses were performed by STATA 12 (StatCorp LP, College Station, TX, USA).

RESULTS

Clinical features

A total of 57 lesions from 54 patients were analysed; 21 females (39%) and 33 males (61%). Mean $\pm$ standard deviation (SD) age of the entire cohort was 42.6 ± 19.5 years.

The study included 34 (60%) SN, of which 13 were classical SN (23%), 21 clinically atypical SN (37%) and 23 melanomas (40%) (**Fig. 1**). Overall, patients with SN were significantly younger than patients with melanoma: 32.1 ± 13.23 years for benign lesions vs. 58.3 ± 16.62 years for melanomas ($p < 0.001$). No differences between sexes were detected according to malignancy.

Concerning location, 46 lesions (80%) were located on the trunk, 9 (15.8%) on limbs and 2 (3.5%) on the head and neck area. With regard to the diameter of the lesions, benign lesions appeared to be smaller than melanomas; the mean diameter was 5.73 ± 2.76 mm for benign lesions vs. 13 ± 8.72 mm for malignant ones ($p < 0.001$).

Clinically, 17 lesions had a peripheral whitish halo; of these 16 lesions (94%) were SN, while 1 (6%) was melanoma. Eleven (65%) of the lesions presented a regular and symmetrical halo, in contrast to 6 lesions (including 1 melanoma) in which the halo was irregular and asymmetrical. All lesions presenting with a symmetrical halo were found to be SN.

Dermoscopic features

The main dermoscopic and regression features found in the 3 different groups are summarized in **Tables I and II**.

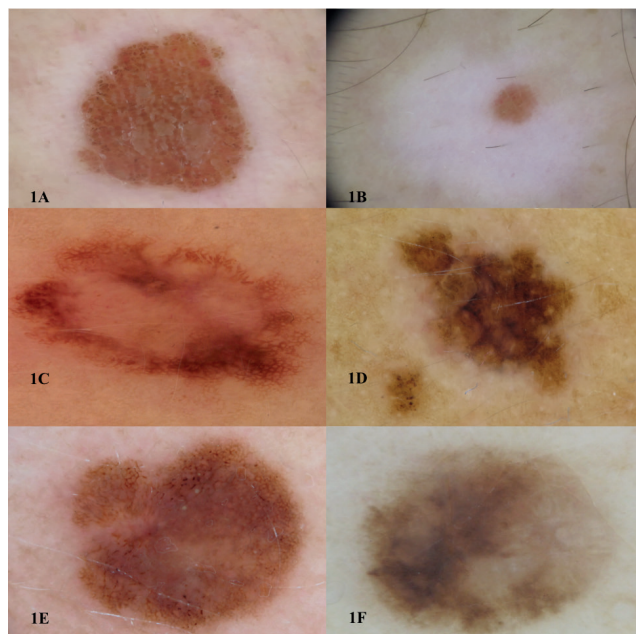


Fig. 1. Dermoscopic appearance of 6 of the studied lesions. (A, B) Clinically typical Sutton naevi. (C, D) Clinically and dermoscopically atypical presentation of biopsy-proven Sutton naevi. (E, F) Thin melanomas with regression features. Scale: A, C: 8 mm, B: 2 mm, D: 4 mm, E: 12 mm, F: 5 mm.

Table I. Dermoscopic characterization of Sutton naevi and melanomas

	Sutton naevi		Melanoma <i>n</i> (%)	<i>p</i> -value
	Typical <i>n</i> (%)	Atypical <i>n</i> (%)		
Pigment network				
Absent	10 (76.92)	5 (23.81)	4 (17.39)	0.249
Typical	3 (23.08)	2 (9.52)	0 (0)	
Atypical	0 (0)	14 (66.67)	19 (82.61)	
Dots/globules				
Absent	2 (15.38)	2 (9.52)	3 (13.04)	0.169
Typical	7 (53.85)	3 (14.29)	0 (0)	
Atypical	4 (30.77)	16 (76.19)	20 (86.96)	
Streaks				
Absent	13 (100)	19 (90.48)	10 (43.48)	0.001
Present	0 (0)	2 (9.52)	13 (56.52)	
Shiny-white streaks				
Absent	13 (100)	20 (95.24)	13 (56.52)	0.03
Present	0 (0)	1 (4.76)	10 (43.48)	
Vessels				
Absent	9 (69.23)	15 (71.43)	12 (52.17)	0.190
Present	4 (30.77)	6 (28.57)	11 (47.83)	
Ulceration				
Absent	13 (100)	21 (100)	22 (95.65)	0.334
Present	0 (0)	0 (0)	1 (4.35)	
Blotch				
Absent	13 (100)	21 (100)	16 (69.57)	0.006
Present	0 (0)	0 (0)	7 (30.43)	
Negative network				
Absent	13 (100)	19 (90.48)	19 (82.61)	0.448
Present	0 (0)	2 (9.52)	4 (17.39)	
Structureless pigmentation				
Absent	3 (23.08)	7 (33.33)	8 (34.78)	0.919
Present	10 (76.92)	14 (66.67)	15 (65.22)	
Blue-whitish veil				
Absent	13 (100)	21 (100)	15 (65.22)	0.003
Present	0 (0)	0 (0)	8 (34.78)	
Milky-red areas				
Absent	13 (100)	20 (95.24)	21 (91.30)	0.605
Present	0 (0)	1 (4.76)	2 (8.70)	
Erythema				
Absent	8 (61.54)	7 (33.33)	11 (47.83)	0.33
Present	5 (38.46)	14 (66.67)	12 (52.17)	
Median of 7-point checklist**	1 (1–5)	5 (2–7)	5 (2–8)	0.07

Dermoscopic evaluation of typical white halo Sutton naevi, atypical Sutton naevi histopathologically diagnosed, and proven melanomas. Comparison is presented between atypical benign vs malignant cases (*p*-value).

Table II. Dermoscopic characterization of regression features

Regression features	Sutton naevi		Melanoma	<i>p</i> -value
	Typical <i>n</i> (%)	Atypical <i>n</i> (%)		
White regression				
Absent	13 (100)	12 (57.14)	17 (73.91)	0.241
Present	0 (0)	9 (42.86)	6 (26.09)	
White regression, %				
0	13 (100)	12 (57.14)	17 (73.91)	0.276
< 50	0 (0)	5 (23.81)	5 (21.74)	
> 50	0 (0)	4 (19.05)	1 (4.35)	
Location of white regression				
Periphery/global	0 (0)	3 (14.29)	3 (13.04)	0.905
Central/absent	13 (100)	18 (85.71)	20 (86.96)	
Peppering				
Absent	8 (61.54)	3 (14.29)	9 (39.13)	0.065
Present	5 (38.46)	18 (85.71)	14 (60.87)	
Peppering, %				
0	8 (61.54)	3 (14.29)	9 (39.13)	0.154
< 50	4 (30.77)	14 (66.67)	12 (52.17)	
> 50	1 (7.69)	4 (19.05)	2 (8.70)	
Location peppering				
Periphery/global	1 (7.69)	4 (19.05)	0 (0)	0.028
Central/absent	12 (92.31)	17 (80.95)	23 (100)	

Dermoscopic regression characterization of typical white halo Sutton naevi (SN), atypical SN histopathologically diagnosed, and proven melanomas. Comparison is presented between atypical benign vs malignant cases (*p*-value).

The most commonly detected colour was light-brown ($n=29$, 51%), followed by dark-brown ($n=20$, 35%). Out of the 57 lesions, 18 (32%) presented a global reticular pattern, 17 (30%) a globular pattern, 10 (18%) a reticulo-globular pattern, 10 (18%) a multicomponent pattern, and 2 (4%) a non-specific pattern.

Differences found between clinically atypical SN and melanomas were: the presence of blue-white veil ($p=0.003$), streaks ($p<0.01$), shiny white streaks ($p=0.03$) and blotches ($p<0.01$), which were related to malignancy. However, other dermoscopic features that have often been reported to be associated with malignancy (e.g. atypical vessels, ulceration or negative network) did not show statistical differences between atypical presentation of SN and melanomas in our series. The median value of the 7-point checklist was 5 in both groups (atypical SN and malignant melanoma) (Table I).

Dermoscopic regression features

Regression was analysed separately according to type (white vs. blue), distribution (peripheral-global vs. central-absent) and percentage within the lesion.

White regression was detected in 43% of atypical SN and in 26% of melanomas (Table II), while blue-grey regression was present in 86% of atypical SN and 61% of melanomas. In terms of distribution, none of the melanomas presented peripheral/global peppering, in contrast to 19% of the atypical SN ($p=0.028$).

Reflectance confocal microscopy features

Confocal features are summarized in Table III. In the epidermis, the presence of atypical pagetoid cells and tangled lines (suggestive of dendrites) were seen in both atypical SN and melanomas (60% and 65%, respectively) ($p=0.3$ and $p=0.5$). Roundish pagetoid cells were found in 33.3% of atypical SN and 47.8% of melanomas ($p=0.1$).

At the dermo-epidermal junction (DEJ), the presence of nests was associated with benign lesions ($p=0.03$), while melanomas presented a higher prevalence of junctional thickenings compared with SN. Presence of at least 10% junctional thickenings was significantly related to melanoma ($p=0.04$). None of the studied melanomas showed less than 10% junctional thickenings. The presence of at least 10% non-edged papilla was significantly higher in melanomas compared with SN ($p=0.03$). Neither the presence of junctional ringed pattern nor the presence of more than 50% of atypical basal cells significantly differed between benign and malignant lesions. However, the presence of dendritic atypical basal cells was observed in 70% of melanomas and in 42% of benign lesions ($p=0.04$). Moreover, the presence of roundish basal cells was significantly related to malignancy (83% of melanomas vs. 48% of SN, $p=0.01$).

Table III. Characterization using reflectance confocal microscopy

RCM features	Sutton naevi		Melanoma <i>n</i> (%)	<i>p</i> -value
	Typical <i>n</i> (%)	Atypical <i>n</i> (%)		
<i>Epidermis</i>				
Atypical pagetoid cells				
Absent	10 (76.92)	8 (38.10)	9 (39.13)	0.306
Present	3 (23.08)	13 (61.90)	14 (60.87)	
Round-shape pagetoid cells				
Absent	11 (84.62)	14 (66.67)	12 (52.17)	0.097
Present	2 (15.38)	7 (33.33)	11 (47.83)	
Tangled lines				
Absent	8 (61.54)	7 (33.33)	8 (34.78)	0.48
Present	5 (38.46)	14 (66.67)	15 (65.22)	
<i>Dermo-epidermal junction (DEJ)</i>				
Architectural delimitation				
Absent	4 (36.36)	14 (66.67)	2 (33.33)	0.302
Present	7 (63.64)	7 (33.33)	4 (66.67)	
Nests				
Absent	2 (16.67)	6 (28.57)	12 (52.17)	0.032
Present	10 (83.33)	15 (71.43)	11 (47.83)	
Non-edged papillae				
< 10%	6 (50)	6 (28.57)	4 (17.39)	0.03
> 10%	6 (50)	15 (71.43)	19 (82.61)	
Junctional thickenings				
< 10%	5 (41.67)	5 (23.81)	0 (0)	0.04
> 10%	7 (58.33)	16 (76.19)	23 (100)	
Atypical basal cells				
< 50%	10 (90.91)	15 (71.43)	16 (69.57)	0.472
> 50%	1 (9.09)	6 (28.57)	7 (30.43)	
Round basal cells				
Absent	8 (80)	8 (38.10)	4 (17.39)	0.01
Present	2 (20)	13 (61.9)	19 (82.61)	
Dendritic basal cells				
Absent	9 (90)	9 (42.86)	7 (30.43)	0.04
Present	1 (10)	12 (57.14)	16 (69.57)	
<i>Dermis</i>				
Atypical nucleated dermal cells				
Absent	11 (91.67)	12 (60)	16 (69.57)	0.852
Present	1 (8.33)	8 (40)	7 (30.43)	
Bright particles				
Absent	4 (33.33)	0 (0)	1 (4.35)	0.316
Present	8 (66.67)	21 (100)	22 (95.65)	
Plump cells				
Absent	7 (58.33)	1 (4.76)	3 (13.04)	0.29
Present	5 (41.67)	20 (95.24)	20 (86.96)	

Reflectance confocal microscopy (RCM) evaluation of typical white halo Sutton naevi, atypical Sutton naevi histopathologically diagnosed, and proven melanomas. Comparison between benign vs malignant cases is presented (p-value).

Concerning dermal findings, overall a high proportion of lesions presented features compatible with inflammatory phenomena (76% plump cells and 87% bright particles). Both SN and melanomas presented nucleated atypical dermal cells, plump cells and bright particles, and none of the evaluated features were statistically related to whether the lesion was benign or malignant (Fig. 2).

All 57 tumours were histopathologically reviewed and diagnosis was reached by consensus between 2 expert dermatopathologists. The tumour board meeting formed by experts in the field of melanoma, dermoscopy, confocal microscopy and dermatopathology agreed the confocal-histopathological correlations. Immunohistochemical studies (Melan A and CD1a antibodies) demonstrated that the atypical intraepidermal and basal cells seen in SN by RCM corresponded to a combina-

tion of large melanocytes and Langerhans cells (Fig. 3) occupying the epidermis and DEJ.

DISCUSSION

Evaluation of intensely inflamed naevi, such as SN, poses a diagnostic challenge, since they can present with both atypical dermoscopic and confocal findings. The main confocal features usually associated with melanoma, such as intraepidermal pagetoid dendritic and roundish cells and atypical nucleated cells at the basal layer or within the dermal papillae, were all, to some extent, found in the present series of SN.

The current study found that some SN share atypical dermoscopic and confocal features with melanomas; therefore, the distinction between both entities in daily practice is complicated. As an example, the median value of the 7-point checklist was 5 in the group of atypical SN, and the same value was seen in the melanoma group; this illustrates the degree of atypical dermoscopic presentation that SN can show and the difficulties for clinicians in assessing these types of lesions with dermoscopy.

It is important to keep in mind that this atypical presentation of SN is extraordinary. To give a general overview, in our referral department, approximately 240 naevi with some degree of dysplasia and 140 melanomas are excised per year. This means that atypical SN could represent less than 1.4% of atypical benign naevi excised.

According to the literature (11), the age of patients is an important clinical marker of risk. In the current series, patients with SN were significantly younger than melanoma patients.

It is well accepted that melanocytic lesions with extensive regression features should be considered suspicious, especially if regression is seen in more than 50% of the entire lesion. The fact is that regression is seen in both atypical SN and melanomas (12, 13). Moreover, regression is a suspicious sign, which often leads to excision, even though it is difficult to differentiate between benign and malignant lesions using this feature alone. In the current study, we were able to find some differences relating to the distribution of the regression in the lesion. In fact, we found that, although atypical SN and MM can both present white and blue-grey regression, none of the melanomas in the current study presented peripheral/global peppering, in contrast to 19% of the atypical SN (p=0.028). This may be related to the differences found in the underlying immune reaction developed in the subset of inflamed benign lesions (Meyerson or SN) in contrast to the inflammation seen in malignant lesions (14). There can be a mixture of Meyerson's and also Sutton's types of inflammation in the same patient (15), which can lead to more atypia (16, 17).

The main role of confocal microscopy (RCM) in patients with multiple naevi is to increase specificity

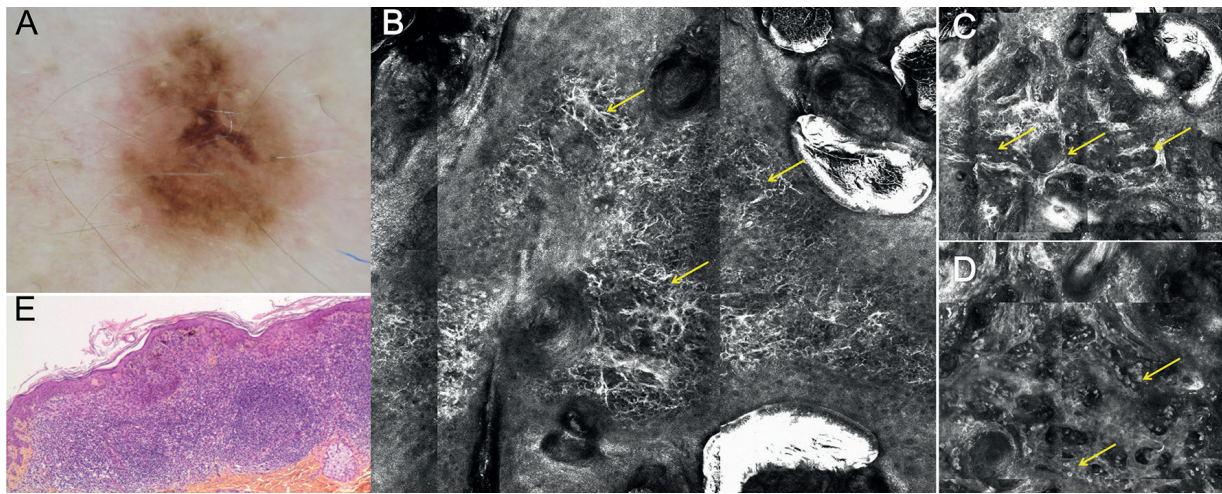


Fig. 2. Sutton naevus. A 16-year-old male patient with familial history of melanoma and multiple atypical naevi, with a growing lesion on his back. (A) Asymmetrical atypical pigment network and blotch on dermoscopy. (B, arrows) Reflectance confocal microscopy section at the epidermis showing numerous dendritic pagetoid cells. (C, arrows) Non-edged papillae and junctional thickenings at the dermal-epidermal junction. (D, arrows) Atypical nucleated cells on basal layer and dermal papillae. (E) Histopathology revealed compound naevus with dense lymphocytic infiltrate in the dermis, compatible with Sutton naevus. A: Dermoscopy image (5 mm), B–D: Confocal mosaic (B: 1×1 mm, C: 1.5×1.3 mm, D: 0.75×0.75 mm), E: Hematoxylin-eosin (×40).

without losing sensitivity in order to detect early melanomas, therefore avoiding excision of typical naevi (6). The confocal findings in the current study can be used to differentiate between benign and malignant lesions, and are useful to characterize lesions in terms of percentage and distribution of RCM parameters. In particular, the presence of at least 10% of junctional thickenings, at least 10% of non-edged papillae and atypical basal cells are the findings associated with diagnosis of melanoma.

When comparing SN with melanomas with regressive features, we observed the most specific confocal features previously reported for melanoma were found in both groups: both SN and melanomas could present atypical dendritic and round pagetoid cells infiltrating the epidermis, atypical basal cells, disarranged dermo-epidermal architecture and atypical nucleated cells within dermal papillae.

Regarding RCM, we realized that looking at epidermal and dermal mosaics (Vivablocks), SN can be equivocal due to an important presence of pagetoid cells in the epidermis and a strong infiltrate of plump cells with bright particles in the dermis (Fig. 2). These findings can be related to the presence of epidermal Langerhans cells or inflammatory infiltrates (3), and these usually prompt clinicians to perform an excision of the lesion, since these features have often been reported in melanomas. In fact, the main confocal features included in melanoma algorithms (6, 18) are the presence of atypical pagetoid cells, non-edged papillae and atypical junctional or dermal cells. This clearly demonstrates the importance of these RCM features when evaluating lesions. The present study demonstrated that the atypical cells seen in SN by RCM correspond to Langerhans cells (CD1a⁺) and also to atypical melanocytes within the epidermal and basal

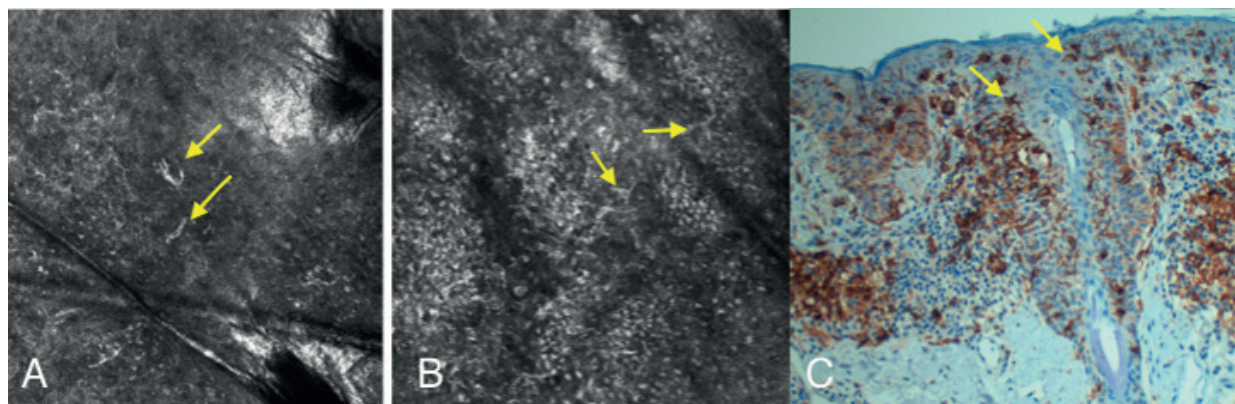


Fig. 3. Sutton naevus. Reflectance confocal microscopy (RCM) and immunostaining correlation of pagetoid cells. (A) RCM single image (500×500 µm) at the subcorneal layer; several dendritic pagetoid refractile cells are observed (arrows). (B) RCM single image (500×500 µm) at intraepidermal layer (deeper than A), atypical cobblestone pattern with multiple dendritic refractile cells are detected (arrows). (C) Histopathological slide (200×) with CD1a immunostaining identifying Langerhans cells (arrows) infiltrating the epidermis and follicular infundibulum. When evaluating papillary dermis these CD1a positive cells are organized in nest-like structures.

layers (Melan A+). Therefore, SN should be considered as a possible false-positive (melanoma simulator) by confocal evaluation.

To summarize the RCM findings, the most significant differences between SN and melanoma were related to DEJ architecture. The presence of at least 10% of junctional thickenings, at least 10% of non-edged papilla, and atypical basal cells (either dendritic or roundish), were the findings associated with malignancy, while the presence of nests was more related to benignity. No differences were found regarding epidermal RCM features evaluated as SN can present marked pagetoid intraepidermal cells similar to those seen in melanomas.

Study limitations

This is a single-centre study, and the limited sample size might have impacted on its power. Also, most of the clinically typical halo SN were not excised, and therefore were not evaluated by histopathology. However, they were systematically monitored clinically, dermoscopically and by RCM examination and neither relevant changes nor suspicious criteria were detected after 12 months' follow-up. Evaluation of dermoscopic and RCM images was performed by consensus between 2 readers, rather than independently performed. Confocal limitations in depth did not allow proper evaluation of deep dermis. Furthermore, the vascularity of every lesion was not taken into account, since the study did not record video-files examining blood vessels by RCM.

Conclusion

This study demonstrated that a certain rare group of SN can have dermoscopic and RCM features that make them indistinguishable from melanoma and, as a consequence, they should be removed in order to avoid the possibility of malignancy. However, RCM examination can be helpful if it detects less than 10% of non-edged papillae, less than 10% of junctional thickenings, or the presence of nests at DEJ, as these are features indicative of a benign lesion. Finally, this study confirms that the age of the patient is a robust factor in deciding to excise an inflamed atypical lesion in adulthood. In conclusion, SN can present as melanoma simulators (false-positives) by RCM; therefore the integration of clinical findings with dermoscopic and confocal findings is necessary in order to make final decisions regarding excision or follow-up.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank all members of the Dermatology Department of Hospital Clinic and the Melanoma Group of IDIBAPS, Barcelona, who participated in visiting patients and taking images of all cases. We thank the study nurse and the technician team; Beatriz Alejo, Pablo Iglesias, Abel Caño, Mireia Domínguez, Daniel Gabriel, M

Eugenia Moliner. We especially thank Paul Hetherington, PhD, for his assistance in English editing of the manuscript.

The authors have no conflicts of interest to declare.

REFERENCES

1. Steffen C, Thomas D. The man behind the eponyms: Richard L Sutton: periadenitis mucosa necrotica recurrens (Sutton's ulcer) and leukoderma acquisitum centrifugum-Sutton's (halo) nevus. *Am J Dermatopathol* 2003; 25: 349–354.
2. Kolm I, Di Stefani A, Hofmann-Wellenhof R, Fink-Puches R, Wolf IH, Richtig E, et al. Dermoscopy patterns of halo nevi. *Arch Dermatol* 2006; 142: 1627–1632.
3. Carrera C, Marghoob AA. Discriminating nevi from melanomas. *Dermatol Clin* 2016; 34: 395–409.
4. Carrera C, Puig-Butillé JA, Aguilera P, Ogbah Z, Palou J, Lecha M, et al. Impact of sunscreens on preventing UVR-induced effects in nevi: in vivo study comparing protection using a physical barrier vs sunscreen. *JAMA Dermatol* 2013; 149: 803.
5. Lovatto L, Carrera C, Salerni G, Alós L, Malvehy J, Puig S. In vivo reflectance confocal microscopy of equivocal melanocytic lesions detected by digital dermoscopy follow-up. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2015; 29: 1918–1925.
6. Segura S, Puig S, Carrera C, Palou J, Malvehy J. Development of a two-step method for the diagnosis of melanoma by reflectance confocal microscopy. *J Am Acad Dermatol* 2009; 61: 216–229.
7. Schwartz RJ, Vera K, Navarrete N, Lobos P. In vivo reflectance confocal microscopy of halo nevus. *J Cutan Med Surg* 2013; 17: 33–38.
8. Pellacani G1, Longo C, Malvehy J, Puig S, Carrera C, Segura S, et al. In vivo confocal microscopic and histopathologic correlations of dermoscopic features in 202 melanocytic lesions. *Arch Dermatol* 2008; 144: 1597–1608.
9. Grant-Kels JM, Pellacani G, Longo C. Confocal microscopy, an issue of dermatologic clinics, E-book. Amsterdam: Elsevier Health Sciences; 2016.
10. Malvehy J, Puig S, Braun, RP, Marghoob, AA, Kopf AW. Handbook of dermoscopy. London: Taylor & Francis; 2006.
11. Larre Borges A, Zalaudek I, Longo C, Dufrechou L, Argenziano G, Lallas A, et al. Melanocytic nevi with special features: clinical-dermoscopic and reflectance confocal microscopic findings. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2014; 28: 833–845.
12. Zalaudek I, Argenziano G, Ferrara G, Soyer HP, Corona R, Sera F, et al. Clinically equivocal melanocytic skin lesions with features of regression: a dermoscopic-pathological study. *Br J Dermatol* 2004; 150: 64–71.
13. Ribero S, Moscarella E, Ferrara G, Piana S, Argenziano G, Longo C. Regression in cutaneous melanoma: a comprehensive review from diagnosis to prognosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2016; 30: 2030–2037.
14. Speeckaert R, van Geel N, Vermaelen KV, Lambert J, Van Gele M, Speeckaert MM, Brochez L. Immune reactions in benign and malignant melanocytic lesions: lessons for immunotherapy. *Pigment Cell Melanoma Res* 2011; 24: 334–344.
15. Vázquez-Osorio I, González-Sabín M, Rodríguez-Díaz E. Co-existence of Sutton and Meyerson nevi. *Actas Dermosifiliogr* 2017; 108: 671.
16. Ferneiny M, Pansé I, Schartz N, Battistella M, Verola O, Morel P, et al. Phénomène de Meyerson périnævique disséminé révélateur d'un mélanome. *Ann Dermatol Venereol* 2012; 139: 137–141.
17. Fernández-Sartorio C, Alós L, García-Herrera A, Ferrando J, Carrera C. Multiple primary melanoma with the Meyerson phenomenon in a young patient. *Melanoma Res* 2019; 29: 325–327.
18. Pellacani G, Guitera P, Longo C, Avramidis M, Seidenari S, Menzies S. The impact of in vivo reflectance confocal microscopy for the diagnostic accuracy of melanoma and equivocal melanocytic lesions. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 2759–2765.

4.1.2 Artículo 2

Con el propósito de responder a los objetivos 4 y 5:

1. Caracterizar el infiltrado inflamatorio presente en los nevus de Sutton mediante técnicas de inmunohistoquímica.
2. Comparar el perfil inmunofenotípico de los nevus de Sutton con el patrón inflamatorio de linfocitos intratumorales observados en melanomas con fenómenos de regresión.

Realizamos el siguiente estudio (aceptado para publicación en la revista *Actas Dermo-Sifiliográficas*, se adjunta certificado):

Immunophenotypic profile of inflammatory cells in melanomas with regression and halo nevi: possible keys to distinguish intensely inflamed tumours

Albert Brugués, Gabriele Rocuzzo, Adriana Garcia-Herrera , Llúcia Alós, Josep Malvehy, Susana Puig, Rebecca Senetta, Simone Ribero, Cristina Carrera
Actas Dermo-Sifiliográficas 2025

Factor de Impacto: 3.8

Primer cuartil

Carta de aceptación para publicación del artículo 2:



Elsevier España, SLU
Av. Josep Tarradellas, 20-30 1ª Planta
08029 Barcelona
Spain
t +34 932000711
f +34 932091136
elsevier.com

Empowering Knowledge

D^a. M^a Eugenia Eisman, en calidad de Publishing Editor de Elsevier España, S.L.U.

CERTIFICA:

Que el Dr. Albert Brugués es autor del artículo titulado “Immunophenotypic profile of inflammatory cells in melanomas with regression and halo nevi: possible keys to distinguish intensely inflamed tumours” (Albert Brugués, Gabriele Rocuzzo, Adriana Garcia-Herrera , Llúcia Alós, Josep Malvehy, Susana Puig, Rebecca Senetta, Simone Ribero, Cristina Carrera), aceptado para su próxima publicación en la revista Actas Dermo-Sifiliográficas.

Actas dermosifiliograficas. ISSN: 0001-7310.

Indexada en: Web of Science, Emerging Sources Citation Index (WoS, Clarivate), PubMed/Medline, IME, Embase/Excerpta Medica, Embase, Toxline, Cab Abstracts, Cab Health, Cancerlit Nlm, Serline: Biomed, Bibliomed, Pascal, Scopus , IBECs.

Factor de Impacto 2023: 3,8

Para que así conste y a petición de D. Albert Brugués, firmo el presente en Madrid a 18 de marzo 2025.

M^a Eugenia Eisman
Publishing Editor

Resumen del artículo 2:

Introducción. Regresión tumoral: características y controversias

Los avances en técnicas de imagen dermatológica han permitido detectar melanomas en etapas más tempranas, extirpando menos lesiones banales, pero también identificando lesiones melanocíticas con características más complejas para los dermatopatólogos. En este contexto, fenómenos como la inflamación y la respuesta inmunológica, así como la posible regresión tumoral adquieren gran relevancia, ya que pueden dificultar el diagnóstico tanto clínico como histopatológico de estas lesiones.

Se estima que la regresión tumoral está presente en un 10 % a 58 % de los melanomas. Algunos estudios sugieren que se correlaciona con una respuesta inmunitaria más eficiente, la cual incluso podría tener un efecto protector frente a la progresión del melanoma⁶⁵. De hecho, la presencia de elevada densidad de linfocitos intratumorales (TILs) en melanoma se considera marcador de mejor respuesta inmunológica antitumoral⁶⁷.

Por otro lado, los nevus de Sutton, lesiones benignas rodeadas de un halo despigmentado, también están asociados a respuestas inmunitarias locales activas del propio huésped frente a las células que componen la lesión melanocítica inicial.

El presente estudio se centra en comparar el perfil inmunofenotípico de los nevus de Sutton con el de los melanomas con regresión para comprender mejor los mecanismos inmunológicos que subyacen en ambas entidades.

Resultados

Los principales hallazgos del estudio son:

melanomas con regresión histológica:

- Se incluyeron 70 pacientes afectos de melanoma con regresión histopatológica: 39 hombres (56%) y 31 mujeres (44%), con una edad media de 58 años (rango 23-78).
- La mayoría de los tumores primarios se localizaron en el tronco (58.6%), seguidos de las extremidades inferiores (31.4%).

- El subtipo histológico más común fue el melanoma de extensión superficial (80%).
- El grosor medio de Breslow fue de 2.73 mm (SD $\pm$ 2.10), con ulceración presente en el 33% de los casos.
- Un 37% de los pacientes presentaron metástasis en el ganglio centinela.

Nevus de Sutton atípicos:

- Se analizaron 16 casos, con una edad media de 30 años (rango 16-53). Predominaron los hombres (68.75%).
- Las lesiones se ubicaron mayormente en la región interescapular (25%), lumbar y escapular (18.8% cada una).
- En dermatoscopia, el 50% mostró un patrón reticular-globular, el 25% un patrón reticular y el 25% un patrón globular.
- Según la lista de 7 puntos de Argenziano⁴⁵, el 93.75% de los casos obtuvo una puntuación ≥ 3 .
- En la evaluación confocal siguiendo el algoritmo Barcelona, el puntaje más frecuente fue 1 (50%), seguido de 0 (37.5%) y 2 (12.5%)⁵³.

Evaluación histopatológica e inmunohistoquímica:

- El 50% de los nevus de Sutton mostraron un infiltrado inflamatorio alto (>60%), el 43.75% moderado (30-60%) y el 6.25% bajo (<30%).
- No se observó fibrosis difusa, aunque el 87.5% de los casos presentaron algún grado de fibrosis ya fuera baja (56.25%) o moderada (31.25%).
- En cuanto a la localización de la inflamación fue infiltrativa difusa en el 43.75% de los casos, perivascular/intratumoral en el 37.5% y localizada bajo la lesión en el 18.75%.
- Comparativamente, los nevus de Sutton atípicos mostraron una mayor densidad inflamatoria que los melanomas con regresión ($p=0.008$ para inflamación baja y $p<0.001$ para inflamación alta). Sin embargo, no hubo diferencias en cuanto a la ubicación de la inflamación en la lesión ni en la cantidad de fibrosis ($p>0.05$).
- En términos de inmunotinción, los nevus de Sutton atípicos exhibieron una mayor proporción CD8/CD3, mientras que los melanomas con regresión mostraron proporciones más altas de CD4/CD3 y CD4/CD8 ($p<0.05$).
- Otros marcadores inmunohistoquímicos como CD25/CD4, FOXP3/CD4 y PD1/CD4 fueron significativamente predominantes en los nevus de Sutton atípicos ($p<0.05$).

Discusión

Gracias a un perfil de inflamación diferente, los presentes hallazgos resaltan la importancia de caracterizar el infiltrado inflamatorio en estas lesiones melanocíticas con intensa inflamación. Además, las diferencias en la composición del microambiente inmunológico podrían reflejar diferencias significativas en el comportamiento de estas lesiones.

A pesar de sus contribuciones, el estudio presenta limitaciones, como el tamaño reducido de la muestra, especialmente en los nevus de Sutton, y cierta subjetividad inherente al análisis de las técnicas inmunohistoquímicas utilizadas.

Conclusión

Los nevus de Sutton presentan un denso infiltrado de linfocitos citotóxicos, expresando consecuentemente mecanismos reguladores eficientes, a diferencia de los melanomas con regresión. Nuestros resultados sugieren que el análisis inmunofenotípico del infiltrado inflamatorio puede ser útil para complementar el estudio histopatológico y molecular que diferencie nevus de Sutton de melanomas con regresión, en casos difíciles con características morfológicas superpuestas. El interés en caracterizar estos procesos inmunológicos espontáneos radica no solo en la mejora diagnóstica, sino también en el potencial terapéutico de estudiar la respuesta inmunomediada del huésped al tumor, sea benigno o maligno.

Immunophenotypic profile of inflammatory cells in melanomas with regression and halo nevi: possible keys to distinguish intensely inflamed tumours

Abstract:

Introduction: The immunophenotypic analysis of inflammatory cells in the tumour microenvironment of regressing melanomas is object of ongoing debate. On the other hand, benign halo nevi paradigmatically show marked inflammation. Characterizing these immune profiles can provide insights into the local immune response, the pathogenesis and the differential diagnosis.

Methodology: A cohort of 16 clinically atypical Sutton nevi from Hospital Clínic of Barcelona, Spain, and 70 regressing melanomas from the University Hospital of Turin, Italy, were evaluated. Histological assessments analyzed inflammation density, location, fibrosis, and markers like CD3, CD4, CD8, CD25, FOXP3, and PD1.

Results: Sutton nevi showed higher inflammation density than regressing melanomas, but similar location and quantity of fibrosis. Sutton nevi had higher CD8/CD3 ratios, while melanomas had higher CD4/CD3 and CD4/CD8 ratios. Markers such as CD25/CD4, FOXP3/CD4, and PD1/CD4 were more common in Sutton nevi.

Conclusion: Results indicate a stronger cytotoxic reaction and consequently a regulatory mechanism in halo nevi, characterized by increased PD1, FOXP3, and CD25. This research further characterizes halo nevi and regressing melanomas, and shows possible clues to distinguish those challenging inflamed melanocytic tumours from melanomas.

Keywords: Sutton naevus, reflectance confocal microscopy, dermoscopy, dermatoscopy

Perfil inmunofenotípico de células inflamatorias en melanomas con regresión y nevus de Sutton: posibles claves para distinguir tumores intensamente inflamados

Abstract:

Introducción: El análisis inmunofenotípico de las células inflamatorias en el microambiente tumoral de los melanomas con regresión histológica es objeto de actual debate. Por otro lado, los halo nevus benignos, de manera paradigmática, muestran también una inflamación marcada. La caracterización de perfiles inmunológicos en estas lesiones inflamadas puede proporcionar información sobre la respuesta inmunitaria local, la patogénesis y su diagnóstico diferencial.

Metodología: Se evaluó una cohorte de 16 nevus de Sutton clínicamente atípicos del Hospital Clínic de Barcelona, España, y 70 melanomas con regresión del Hospital Universitario de Turín, Italia. Los evaluadores analizaron la densidad de la inflamación, su localización, la fibrosis y los marcadores CD3, CD4, CD8, CD25, FOXP3 y PD1.

Resultados: Los nevus de Sutton mostraron una mayor densidad inflamatoria que los melanomas con regresión, pero similar localización y cantidad de fibrosis. Los nevus de Sutton presentaron mayores ratios de CD8/CD3, mientras que los melanomas presentaron índices más altos de CD4/CD3 y CD4/CD8. Marcadores, como CD25/CD4, FOXP3/CD4 y PD1/CD4, fueron más comunes en los nevus de Sutton.

Conclusiones: Los resultados indican una reacción citotóxica más fuerte y, consecuentemente, un mecanismo regulador en los halo nevus, caracterizado por un aumento de PD1, FOXP3 y CD25. Este artículo caracteriza más a fondo los halo nevus y los melanomas con regresión y plantea posibles pistas para distinguirlos entre ellos.

Palabras clave: Nevus de Sutton, Microscopia confocal, Dermatoscopia

1. Introduction

Malignant melanoma is a type of skin cancer that represents a growing concern in public health due to its increasing incidence and metastatic potential [1], [2]. Moreover, the improvement in dermatological imaging techniques to identify early and difficult to diagnose melanomas has led to an increase of the pathological challenging tumors [3]. The study of specific features, such as tumour regression and inflammatory infiltrates, has sparked considerable interest since they could lead to a misdiagnosis of melanocytic lesions under microscope [4]. Therefore, it is very important to understand the immunological mechanisms involved in these phenomena, as they can aid in better diagnosis and be very useful for the development of specific targeted therapies [5], [6]. Tumour regression, a phenomenon observed in a significant fraction of melanomas (frequency ranges between 10 and 58%), is characterized by partial or complete reduction of the melanocytic component accompanied by a variable inflammatory infiltrate, melanophages, new vessels, and a degree of fibrosis [7]. The influence of regression on the prognosis of melanoma has sparked extensive debate over the years [8]. Some studies consider regression a negative prognostic factor, as it might have interfered with the accurate measurement of melanoma thickness, thereby affecting the proper tumor staging. Other studies suggest that histological regression increases the risk of metastasis. Conversely, some reports propose that regression does not alter the prognosis, and in certain cases, it may even act as a protective factor [9]–[11]. Studies have revealed that the distinct malignancy and biological characteristics of a cancer are influenced not only by its genetic abnormalities but also by the interaction between cancer cells and their surrounding microenvironment. The interplay between the tumour and the host's immune system is particularly captivating, especially given the substantial clinical effectiveness displayed by medications directed at these specific pathways [12]. Indeed, the presence of dense tumor infiltrating lymphocytes has been associated with a better response to immune checkpoint inhibitors [13]. Similarly, Sutton Nevi (SN), which are benign lesions clinically characterized by an achromic halo surrounding the melanocytic nevus, have also shown associations with the activation of local immune responses [6], [14]. The halo phenomenon, manifested as a depigmented halo primarily associated with acquired melanocytic nevi, can also be seen in other melanocytic skin tumors, with melanoma posing heightened concern [14]. In this scenario, Reflectance Confocal Microscopy has emerged as a potential tool to differentiate benign inflamed nevi from melanoma [15]. Integration of the patient's age and meticulous examination of the dermo-epidermal junction using reflectance confocal microscopy has been suggested to improve diagnostic accuracy [15].

Recently, the immunophenotypic analysis of inflammatory cells present in the tumour microenvironment of regressing melanomas and halo nevi has gained increasing interest [9], [16]. Identifying and characterizing the immunophenotypic profile in these lesions could provide new insights into the local immune response and its potential implications in the pathogenesis and progression of these cutaneous entities. The characterization of immune infiltrate in melanoma with histological regression revealed a prevalence of effector and suppressor T cells, B cells, natural killer cells, macrophages, and regulatory dendritic cells, all capable of exerting contrasting immuno-stimulatory or immunosuppressive effects within the tumour microenvironment [10]. Conversely, the inflammatory infiltrate observed in halo nevi stands out due to a higher quantity of active cytotoxic T cells and PD1-positive regulatory T cells in comparison to the infiltrate observed in regressing melanoma [9]. In this research, we aim to examine the immunophenotypic profile of inflammatory cells present in halo nevi through a detailed analysis of histological markers, comparing them to a recently published cohort of melanomas with regression, in order to enhance a deeper understanding of the immunological mechanisms linked to these skin lesions.

2. Materials and Methods

A retrospective cohort of 70 melanomas demonstrating histological regression diagnosed at the Hospital of Turin between January 2003 and December 2014 was compared with a prospective cohort comprising 16 dermatoscopically atypical Sutton nevi, excised at the Hospital Clínic of Barcelona from January 2017 to December 2020. In this last group, we included those dermoscopic atypical melanocytic lesions that were excised to rule out melanoma and later histologically diagnosed as Sutton nevi. Histological assessment included degree and location of the inflammatory infiltrate within the lesion, degree of fibrosis, and the evaluation of specific immunohistochemical markers—CD3, CD4, CD8, CD25, FOXP3, and PD1—in both cohorts. All patients provided informed consent allowing the use of their biological samples in a biobank. The study received approval from both local ethics committee in Hospital Clínic de Barcelona and Hospital of Turin. The nevi group included only those nevi that displayed atypical dermoscopic features accompanied by histological regression or intense inflammatory phenomena. In contrast, nevi exhibiting exclusively histological features of regression were not analyzed. To ensure a comprehensive evaluation of histological parameters, only samples that completely removed the tumour and included the entire thickness of the melanocytic lesion in the examination were considered. Consequently, shave and punch biopsies, partial excisions, and samples with inadequate material were excluded from the study. Demographic, clinical, and pathological details of patients were documented and updated in an internal database.

For all cases, histopathological features were assessed on sections stained with haematoxylin and eosin (H&E) by two dermatopathologists (LC and RS). This evaluation included: degree of inflammatory infiltrate, classified as low (<30%), medium (30–60%), or high (>60%), pattern/localization of the inflammatory infiltrate (diffusely infiltrative, patchy perivascular or intratumoral, underneath the tumor), and degree of fibrosis (categorized as absent, low <30%, moderate 30–60% or high >60%). In instances of disagreement, a third dermatopathologist (APC) was consulted for resolution. In the melanoma group, to distinguish from tumour-infiltrating lymphocytes (TIL), the primary criterion for defining regression was the necrosis, apoptosis or complete disappearance of malignant tumour cells, with evident partial or total active breakdown of melanocytic nests, replaced in the early phase by inflammatory cells, and in the late phase by fibrosis with dilated vessels, and melanophages [17]. Regions of ulceration or those closely related or adjacent to it were excluded from consideration.

The surgical specimens were fixed in 4% buffered formalin, routinely processed and paraffin embedded. For each case, 3 µm thick paraffin sections collected on Superfrost Plus slides were tested by immunohistochemistry. Immunohistochemical analysis was performed using an automated slide-processing platform (Ventana BenchMark XT Autostainer; Ventana Medical Systems, USA). The entire halo nevus cohort was stained with CD3 (Confirm anti-CD3, clone 2GV6; Ventana, Roche); CD4 (Confirm anti-CD4, clone SP35; Ventana, Roche); CD8 (Confirm anti-CD8, clone SP57; Ventana, Roche); CD25 (clone 4C9; Cell Marque, Sigma Aldrich); FOXP3 (clone 236A/E7; eBiosciences); PD1 (clone NAT 105; Cell Marque, Sigma Aldrich).

Lymphocyte subset populations were investigated by assessing immunohistochemical expression of CD3, CD4, CD8, FOXP3 and PD1. For each marker, the number of positive cells per high power field (HPF) was counted manually. Each HPF corresponds to a high magnification microscope field (400×) measuring 500 µm in diameter on a 40×/0.65 lens mounted on an Olympus microscope model BX41 (Olympus, Japan). Counts were made in at least 4 (max 8) HPF fields for each type of area and the total absolute value was normalised to 1 mm² (4 HPFs correspond to 1 mm²). Additionally, the following ratios were calculated for every lesion: CD4+/CD3+, CD8+/CD3+, CD4+/CD8+, CD25+/CD4+, FOXP3+/CD4+, PD1+/CD4+

Descriptive statistics summarized patient and lesion characteristics. The Mann-Whitney test compared non-normally distributed continuous data between two groups. Fisher's exact test examined associations in paired nominal data, particularly for small sample sizes. The Chi-squared test assessed associations in larger paired nominal datasets. P-values < 0.05 were considered statistically significant. Statistical analysis was performed using Stata/SE.v.18 (StataCorp, College Station, TX).

3. Results

Of the 70 patients with histologically regressed melanoma, 39 (56%) were male and 31 (44%) were female, with a median age of 58 years (range 23–78) [10]. The primary tumors were located on the trunk in 58.6% of cases (41/70), followed by the lower limbs (22/70, 31.4%), upper limbs (4/70, 5.7%), and head/neck (3/70, 4.3%). The most common histological type was superficial spreading melanoma, observed in 80% of cases (56/70). The mean Breslow thickness was 2.73 mm (SD 2.10). Ulceration was present in 33% of lesions (23/70). A mitotic count greater than 1/mm² was observed in 61% (43/70),

with 38.5% (27/70) displaying diffuse neo-angiogenesis and 48.6% (34/70) exhibiting vascular invasion. TILs were described as 'brisk' in 28.6% of cases (20/70). Metastatic involvement of the sentinel lymph node (SLN) was noted in 37% of patients (26/70).

As for the Sutton nevi population, a total of 16 cases were suitable for analysis. The median age of the individuals was 30 years (range 16-53). Among the 16 individuals, 11 were male (68.75%) and 5 were female (31.25%). The lesions were most commonly located in the interscapular region (4/16, 25%), followed by the lumbar and scapular areas (3/16, 18.8% each). The shoulder and abdomen areas each accounted for 2/16 (12.5%) of the cases. Other locations, such as the retro-auricular and paravertebral areas, each accounted for 1/16 (6.25%) of the total number of lesions. The sizes of the atypical Sutton nevi varied, with a median size of 5.5 mm (range 2-10 mm). The most frequently recorded sizes were 5 mm (25% of the cases), 4 mm (12.5%), and 7 mm (12.5%). Clinically palpable lesions were present in 4 out of 16 cases (25%). Dermoscopically, 8 out of 16 cases (50%) showed a reticular-globular pattern, while 4 out of 16 (25%) displayed a reticular pattern, and 4 out of 16 (25%) had a globular pattern. According to the commonly used 7-point checklist for melanocytic lesions, a score ≥ 3 was recorded in 15 cases (93.75%), while a score < 3 in just one case (6.25%) [18]. As for the confocal features according to the Barcelona score (i.e. threshold for ruling out melanoma = 0), the most common score was 1 (8/16, 50%), followed by score 0 (6/16, 37.5%) and score 2 (2/16, 12.5%) [15].

At histopathologic evaluation, 8 out of 16 cases (50%) exhibited a high inflammatory infiltrate ($>60\%$). In 7 out of 16 cases (43.75%), the infiltrate was moderate (30-60%), and in the remaining case (1/16, 6.25%), it was low ($<30\%$). No cases showed diffuse fibrosis; however, 14 out of 16 cases (87.5%) exhibited low (9/16, 56.25%) or moderate (5/16, 31.25%) fibrosis, with fibrosis being absent in 2 out of 16 cases (12.5%). The inflammatory localization pattern was diffusely infiltrative in 7 out of 16 cases (43.75%), patchy perivascular or intratumoral in 6 out of 16 cases (37.5%), and located underneath the tumor in 3 out of 16 cases (18.75%).

As for the comparative analysis between the two groups in terms of immuno-staining, the atypical Sutton nevi group exhibits significantly higher inflammation density than the group of melanomas with regression ($p=0.008$ for low-density and $p<0.001$ for high-density inflammation, respectively). However, no differences were observed in terms of inflammation location within the lesion (diffuse, underneath the melanocytic lesion, or patchy). Regarding the quantity of fibrosis, no significant differences were observed between the two groups ($p > 0.05$). However, when assessing the quality of fibrosis, the Sutton nevi group predominantly exhibited a mild-delicate fibrosis, whereas the melanoma group displayed well-established fibrosis, characterized as sclerotic, desmoplastic, lamellar, or compact.

IHC	Melanomas with regression (n=70)	Halo nevi (n=16)	p-value
CD4/CD3	55%	35%	<0.001
CD8/CD3	49%	65%	<0.001
CD4/CD8	120%	55%	<0.001
CD25/CD4	8%	10%	0.046
FOXP3/CD4	14%	25%	0.007
PD1/CD4	1%	25%	<0.001

Table 1. Diagnosis-based distribution of values for immunohistochemical stains

As for immunostaining evaluation, atypical Sutton nevi demonstrate a higher CD8/CD3 population ratio, while melanomas with regression showed higher CD4/CD3 and CD4/CD8 ratios (all statistically significant at $p<0.05$) (Table 1. Figures 1, 2A, 2B, 2C)

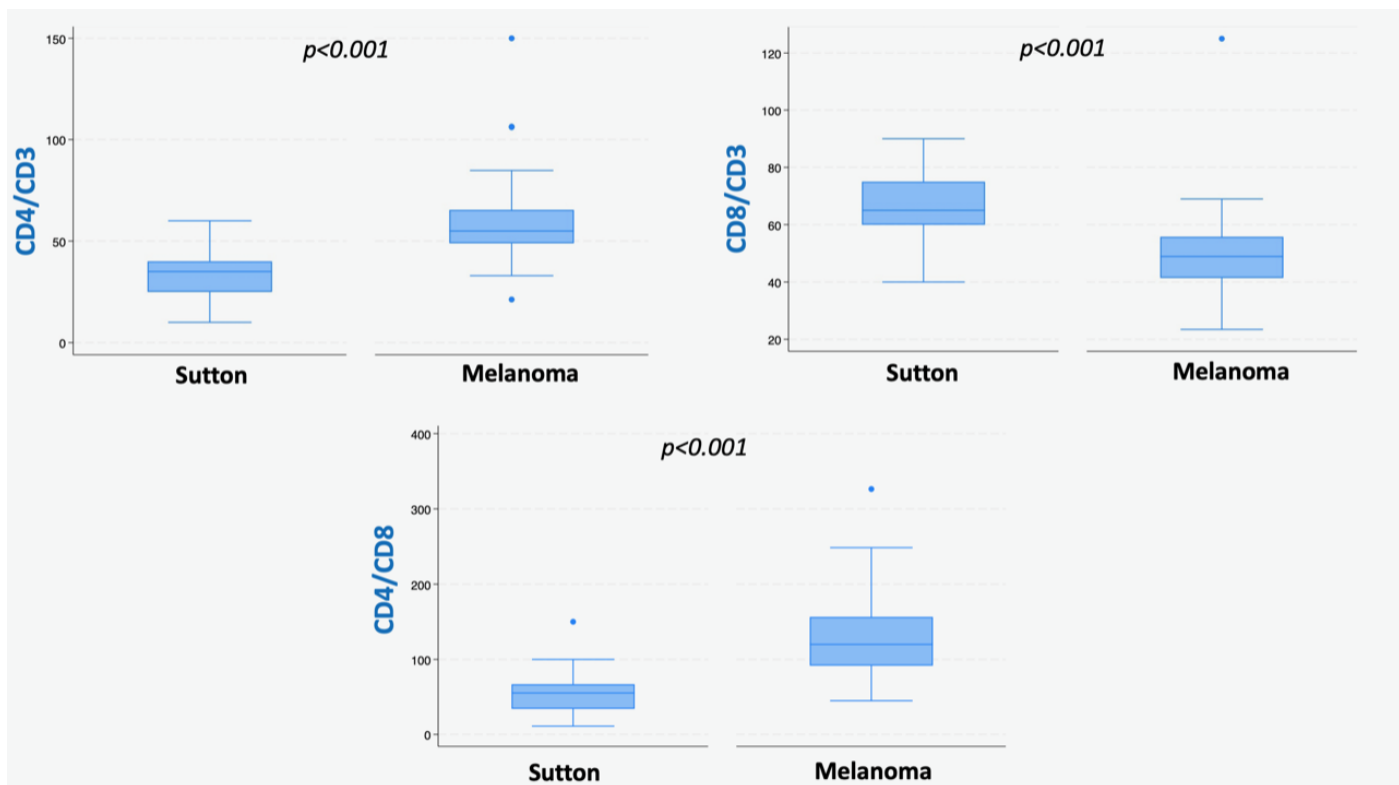


Figure 1. Box plot of cellular ratio expression (median, range).

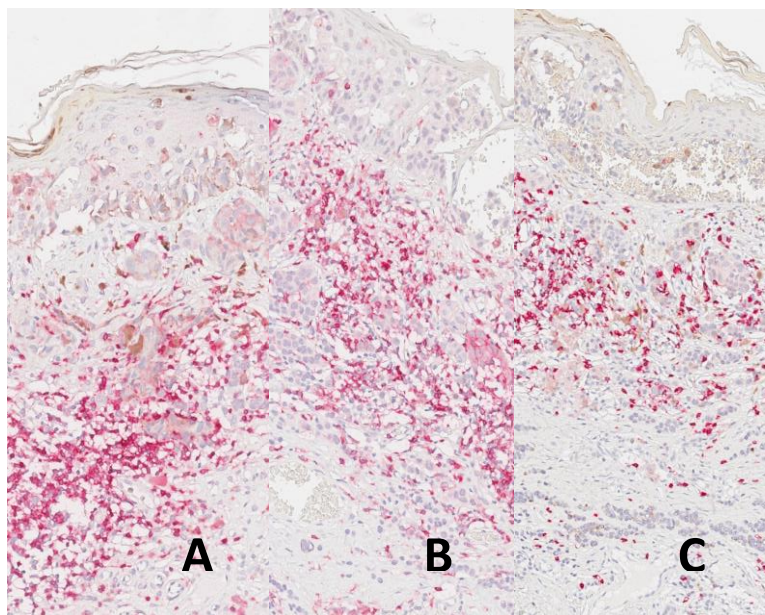


Figure 2A. CD3 expression in Melanoma with regression. **Figure 2B.** CD4 expression in Melanoma with regression. **Figure 2C.** CD8 expression in Melanoma with regression

Among other immunohistochemical markers, CD25/CD4, FOXP3/CD4, and PD1/CD4 ratios were statistically higher in atypical Sutton nevi ($p < 0.05$) (Table 1. Figure 3).

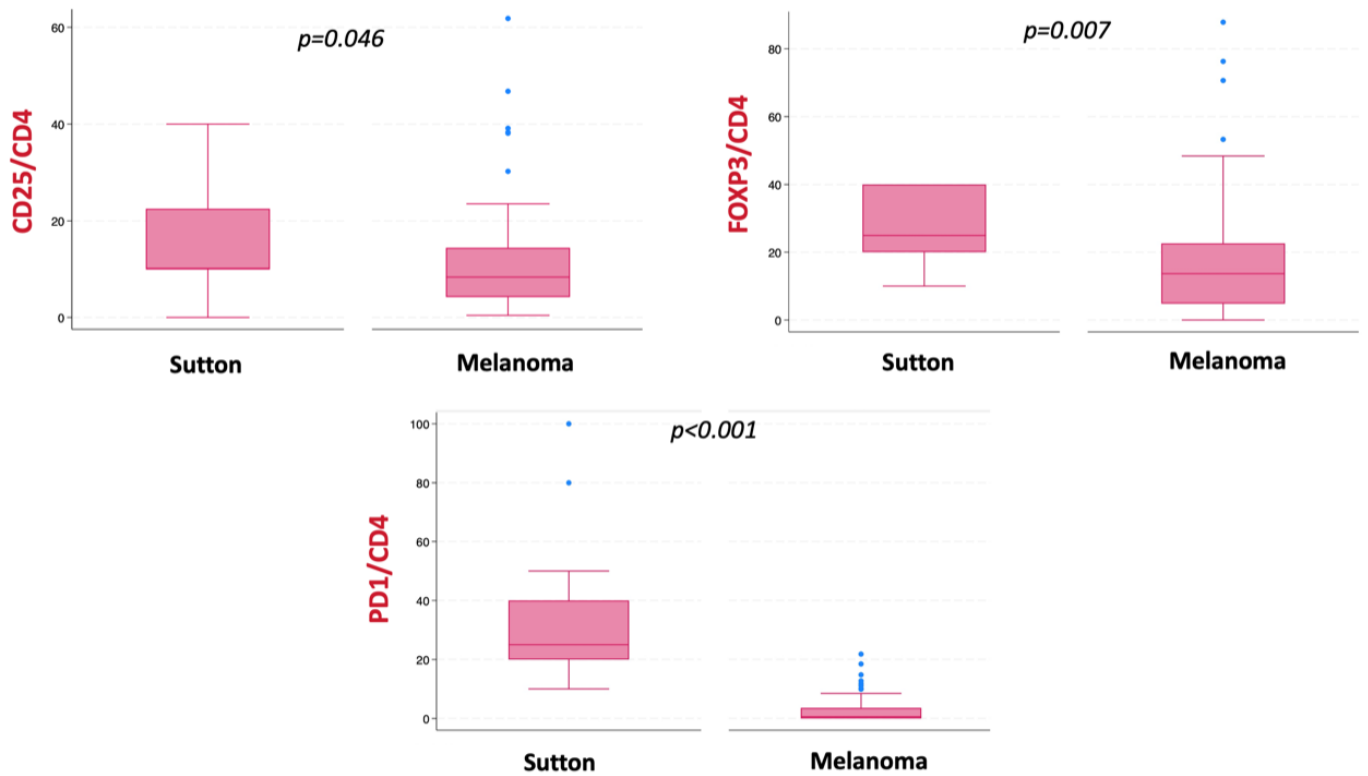


Figure 3. Box plot of cellular ratio expression (median, range).

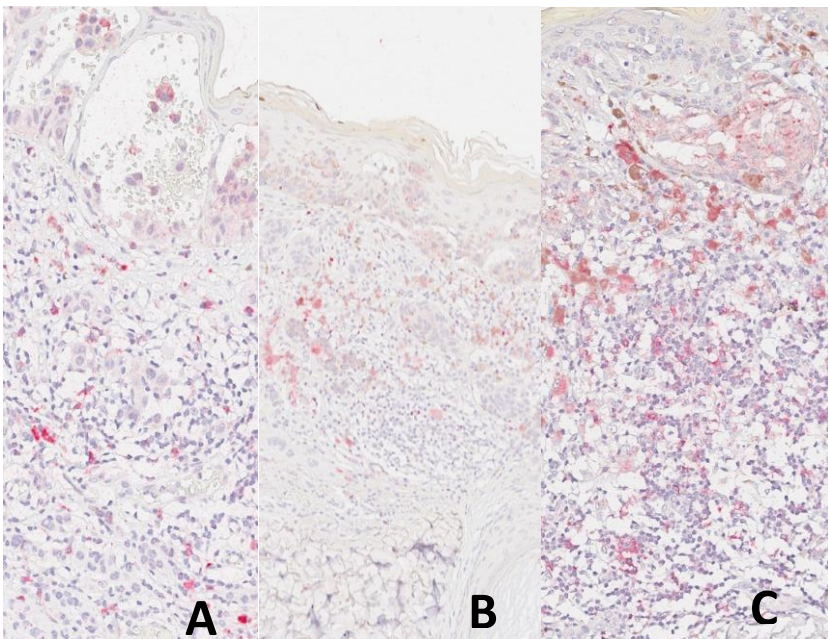


Figure 4A. CD25 expression in Melanoma with regression. **Figure 4B.** FOXP3 expression in Melanoma with regression. **Figure 4C.** PD1 expression in Melanoma with regression

4. Discussion

Histologically, a halo nevus exhibits a dense lymphocytic infiltrate that gradually obscures and replaces nevus cells. Similarly, regression in melanoma shares this feature, showing a dense lymphocytic infiltrate and areas where neoplastic cells have disappeared entirely. Conceptually, regression and halo nevi both demonstrate an active immune response against the melanocytic lesion.

The immunophenotyping of inflammatory cells accompanying regression in melanoma and Sutton nevi has been poorly studied. In 2015, a study by Botella *et al.* found a higher cytotoxic reaction in halo nevi compared to melanomas with

regression, validating our study, which showed a higher CD8/CD3 ratio in the Sutton nevus group [9]. Similar results were found in a series of spitzoid melanocytic lesions, when these lesions were grouped into benign/ low-grade tumors and malignant/ high-grade tumors [16]. However, the study by Botella *et al.* also observed a denser infiltrate of PD1-marked cells in Sutton nevi yet found no significant differences in FOXP3 expression. Conversely, our study did find significant differences, with higher PD1 and FOXP3 presence in the Sutton group compared to melanomas [9].

These findings suggest an active regulatory mechanism alongside the cytotoxic response in Sutton nevi. The combined evidence of a denser infiltrate of PD1, FOXP3, and CD25 points toward a more active immune environment, aiding in better immune response regulation, especially in Sutton nevi [19].

Ribero *et al.* suggested that in melanomas, certain neoplastic clones might evade the immune response, leading to unrestrained growth [11]. In this scenario, the inefficiency of the cytotoxic response in melanomas could be linked to a decrease in CD8, as well as a reduction in the regulatory immune environment marked by PD1, CD25, and FOXP3 (Figures 4A, 4B, 4C).

Recent encouraging findings from Cho *et al.* suggested that a compound named Celastrol exhibits significant efficacy in inhibiting tumour growth in melanoma [20]. This effect is achieved by blocking the binding between IL-2 and CD25, thereby enhancing the antitumor activity of T cells. This could be very promising especially in combination with other targeted therapies for advanced melanomas [21], [22].

In melanomas, the presence of FOXP3+ cells has been associated with a reduction of both the innate and the acquired immune response against the tumour, employing a mechanism typically involved in shielding the body against autoimmunity [20], [23], [24]. When we assessed the FOXP3/CD4 ratio in our study, we noticed higher levels of expression in Sutton nevi and lower levels in regressed melanomas. This discrepancy suggests a distinct state of immune tolerance between Sutton nevi and regressed melanomas, potentially serving as an early indicator of immune system deactivation in melanomas. This observation aligns with evidence indicating that in metastatic melanoma, FOXP3+ immune cells infiltrating the tumour could serve as a potential predictive biomarker for treatment response and overall survival. Balatoni *et al.* demonstrated that the density of FOXP3+ cells infiltrating lymph node metastases was the strongest predictor of response to ipilimumab treatment [25].

This study addresses two entities challenging to differentiate in our daily practice: halo nevi and malignant melanoma with regression. The autoimmune phenomena seen in Sutton nevi could induce reactive atypia, complicating its differentiation, especially for expert pathologists [26]. Our aim was to describe the immune reaction in both entities: firstly, the inflammatory infiltrate in halo nevi is more active, whereas there's a pronounced cytotoxic response in Sutton nevi. Secondly, a regulatory mechanism parallel to the cytotoxic response with a denser infiltrate of PD1, FOXP3, and CD25 is observed. In conclusion, studying the immune profile of melanocytic tumors might be useful in cases of overlapping morphological features, which make it challenging to distinguish between melanoma with regression and Sutton nevus. However, the present results do not allow extrapolating the usefulness of the immunophenotype of inflammation to differentiate melanoma from melanocytic lesions with regression. The limitations of our study include the subjective nature of the immunohistochemistry evaluation method. Additionally, the small sample size in both groups limits the study's robustness, with the sample size of the Sutton nevus group being significantly smaller compared to the melanoma group as the diagnosis of Sutton nevi is usually clinical/dermoscopic and does not require surgical excision. The cases included in the study were those Sutton nevi that exhibit atypical clinical features, requiring excision and posing a diagnostic challenge. Such specific cases are less common in daily clinical practice. Another limitation is that only atypical clinical presentations of Sutton nevi were included, which may limit the generalizability of the results to all types of Sutton nevi. None of these cases have recurred to date.

Understanding the composition of the immune infiltrate in cases where melanomas fully or partially disappear is crucial in an era of treatments designed to enhance the immune response against this tumor. Based on our findings, we recommend further studies to deepen the understanding of the immunophenotype of Sutton nevi and the mechanisms underlying histological regression in melanomas, contributing to advancements in clinical and pathological knowledge.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and reviewed and approved by the Research Ethics Committee of Hospital Clinic Barcelona IRB; approval HCB/2018/0872 (15th.June.2022).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: Data are available upon request to the authors.

References

- [1] J. Huang, S. C. Chan, and S. Ko, "Global Incidence, Mortality, Risk Factors and Trends of Melanoma: A Systematic Analysis of Registries," *Am J Clin Dermatol*, vol. 24, no. 6, pp. 965–975.

-
- [2] S. Amabile *et al.*, "Clinical Significance of Distant Metastasis-Free Survival (DMFS) in Melanoma: A Narrative Review from Adjuvant Clinical Trials," *J. Clin. Med.*, vol. 10, no. 23, Dec. 2021.
- [3] G. Nazzaro *et al.*, "Dermoscopic predictors of melanoma in small diameter melanocytic lesions (mini-melanoma): a retrospective multicentric study of 269 cases," *Int. J. Dermatol.*, vol. 62, no. 8, pp. 1040–1049, Aug. 2023.
- [4] T. Brenn, "Pitfalls in the evaluation of melanocytic lesions: Challenging benign melanocytic proliferations," *Histopathology*, vol. 60, no. 5, pp. 690–705.
- [5] V. O. Volpe, D. M. Klufas, U. Hegde, and J. M. Grant-Kels, "The new paradigm of systemic therapies for metastatic melanoma," *J Am Acad Dermatol*, vol. 77, no. 2, pp. 356–368.
- [6] F. Cavallo *et al.*, "Extensive 'halo naevi' phenomenon and regression of melanin during nivolumab treatment in metastatic melanoma: A predictor of a better outcome?," *Dermatol. Ther.*, vol. 35, no. 7, Jul. 2022.
- [7] E. S. MA, A. K, and W. AJ, "Association of Histologic Regression With a Favorable Outcome in Patients With Stage 1 and Stage 2 Cutaneous Melanoma," *JAMA Dermatol*, vol. 157, no. 2, pp. 166–173.
- [8] C. Requena, R. Botella-Estrada, V. Traves, E. Nagore, S. Almenar, and C. Guillén, "Problems in defining melanoma regression and prognostic implication," *Actas Dermosifiliogr*, vol. 100, no. 9, pp. 759–766.
- [9] R. Botella-Estrada and H. Kutzner, "Study of the immunophenotype of the inflammatory cells in melanomas with regression and halo nevi," *Am J Dermatopathol*, vol. 37, no. 5, pp. 376–380.
- [10] S. Osella-Abate, L. Conti, and L. Annaratone, "Phenotypic characterisation of immune cells associated with histological regression in cutaneous melanoma," *Pathol. (Phila)*, vol. 51, no. 5, pp. 487–493.
- [11] S. Ribero, S. Osella-Abate, and M. Sanlorenzo, "Favourable prognostic role of regression of primary melanoma in AJCC stage I-II patients," *Br J Dermatol*, vol. 169, no. 6, pp. 1240–1245.
- [12] S. Ribero, E. Moscarella, G. Ferrara, S. Piana, G. Argenziano, and C. Longo, "Regression in cutaneous melanoma: a comprehensive review from diagnosis to prognosis," *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*, vol. 30, no. 12, pp. 2030–2037.
- [13] F. Maibach, H. Sadozai, S. M. Seyed Jafari, R. E. Hunger, and M. Schenk, "Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Their Prognostic Value in Cutaneous Melanoma," *Front Immunol*, vol. 11, no. 2105.
- [14] R. I. Nedelcu, S. A. Zurac, and A. Brînzea, "Morphological features of melanocytic tumors with depigmented halo: review of the literature and personal results," *Rom. J Morphol Embryol Rev Roum Morphol Embryol*, vol. 56, no. 2 Suppl, pp. 659–663.
- [15] A. Brugués *et al.*, "Sutton Naevi as Melanoma Simulators: Can Confocal Microscopy Help in the Diagnosis?," *Acta Derm. Venereol.*, vol. 100, no. 10, pp. 1–6, May 2020.
- [16] I. Moysset *et al.*, "Immunophenotype of tumor-infiltrating lymphocytes in atypical Spitzoid tumors according to the risk of progression," *Ann. Diagn. Pathol.*, vol. 60, p. 151985, Oct. 2022.
- [17] W. Shon, D. Frishberg, and J. Gershenwald, "Protocol for the Examination of Excision Specimens From Patients With Melanoma of the Skin."
- [18] G. Argenziano, C. Catricalà, and M. Ardigo, "Seven-point checklist of dermoscopy revisited," *Br J Dermatol*, vol. 164, no. 4, pp. 785–790.
- [19] H. S. Park, S. A. Jin, Y. D. Choi, M. H. Shin, S. E. Lee, and S. J. Yun, "Foxp3(+) regulatory T cells are increased in the early stages of halo nevi: clinicopathological features of 30 halo nevi," *Dermatol Basel Switz*, vol. 225, no. 2, pp. 172–178.
- [20] O. Cho, J. W. Lee, Y. J. Jeong, L. K. Kim, B. K. Jung, and T. H. Heo, "Celastrol, which targets IL-2/CD25 binding inhibition, induces T cell-mediated antitumor activity in melanoma," *Eur J Pharmacol*, vol. 962, no. 176239.
- [21] G. Roccuzzo *et al.*, "Emerging prognostic biomarkers in advanced cutaneous melanoma: a literature update," *Expert Rev. Mol. Diagn.*, vol. 24, no. 1–2, pp. 49–66, 2024.
- [22] G. Roccuzzo, C. Sarda, V. Pala, S. Ribero, and P. Quaglino, "Prognostic biomarkers in melanoma: a 2023 update from clinical trials in different therapeutic scenarios," *Expert Rev. Mol. Diagn.*, vol. 24, no. 5, 2024.
- [23] V. Mourmouras, M. Fimiani, and P. Rubegni, "Evaluation of tumour-infiltrating CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells in

human cutaneous benign and atypical naevi, melanomas and melanoma metastases," *Br J Dermatol*, vol. 157, no. 3, pp. 531–539.

- [24] M. A. Franco-Molina, D. F. Miranda-Hernández, and E. Mendoza-Gamboa, "Silencing of Foxp3 delays the growth of murine melanomas and modifies the tumor immunosuppressive environment," *OncoTargets Ther*, vol. 9, pp. 243–253.
- [25] T. Balatoni, A. Mohos, and E. Papp, "Tumor-infiltrating immune cells as potential biomarkers predicting response to treatment and survival in patients with metastatic melanoma receiving ipilimumab therapy," *Cancer Immunol Immunother CII*, vol. 67, no. 1, pp. 141–151.
- [26] R. Nedelcu, A. Dobre, and A. Brinzea, "Current Challenges in Deciphering Sutton Nevi-Literature Review and Personal Experience," *J Pers Med*, vol. 11, no. 9.

4.2 CARTAS AL EDITOR

4.2.1 Carta al editor 1

Con el propósito de responder al objetivo 3:

3. Evaluar la utilidad de la microscopía confocal para el diagnóstico de lesiones pigmentadas con inflamación.

Realizamos el siguiente estudio:

Sutton's naevi as a pitfall for reflectance confocal microscopy:
marked inflamed naevi could not be suitable for teleconfocal
examination

Brugués A, Ribero S, Barreiro A, Bassoli S, García AP, Longo C, Segura S, Alós L,
Malveyh J, Puig S, Carrera C. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2021 Oct

Journal of the European Academy of Dermatology & Venereology 2021
Oct;35(10):e688-e690.

Factor de Impacto: 9.228

Primer cuartil

Resumen:

El estudio aborda los desafíos diagnósticos de los nevos de Sutton (SN) cuando se evalúan mediante microscopía confocal de reflectancia (RCM). Aunque el diagnóstico clínico de los SN suele ser sencillo, la inflamación puede provocar características clínicas y dermatoscópicas atípicas, dificultando su diferenciación de melanoma.

Objetivo: Evaluar la precisión diagnóstica de expertos en microscopia de reflectancia confocal in vivo para distinguir entre nevus y melanomas con diferente grado de inflamación.

Resultados:

- La sensibilidad para detectar melanomas varió entre 20% y 100% (promedio 53.3% +/- 27'5 DS), mientras que la especificidad osciló entre 47% y 87% (promedio 67.8% +/- 13'5 DS).
- Para los SN, la sensibilidad estuvo entre 50% y 90% (promedio 66.6% +/- 17'9 DS). Sin embargo, todos los expertos confundieron al menos dos SN con melanomas, con un 20-80% de SN clasificados como malignos (falsos positivos para RCM, promedio 43.3% +/- 21'3 DS).
- La concordancia entre los expertos fue baja (kappa de Fleiss: 0.21), aunque mejoró ligeramente (0.39) en casos con alta confianza diagnóstica (>80%).

Limitaciones del estudio: El tamaño reducido de la muestra y la variabilidad en la experiencia de los evaluadores.

Conclusiones:

Los SN pueden mostrar características focales asociadas típicamente al melanoma, como células dendríticas pagetoides intraepidérmicas, desestructuración de la UDE y la presencia de células nucleadas atípicas en dermis, lo que complica su diagnóstico. Los expertos en confocal deben ser conscientes de que la evaluación de los SN, sin una correcta correlación clínica y dermatoscópica, resulta poco fiable. Se recomienda integrar datos clínicos, dermatoscópicos y focales para decidir entre extirpación o seguimiento.

LETTER TO THE EDITOR

Sutton's naevi as a pitfall for reflectance confocal microscopy: marked inflamed naevi could not be suitable for teleconfocal examination

Dear Editor,

Reflectance confocal microscopy (RCM) has been widely demonstrated to improve the non-invasive diagnostic accuracy of melanocytic tumours.¹ Some studies have focused on studying the use of teleconsultation of RCM images with experts as a promising opportunity for those doctors who have little experience in the field.²

The clinical diagnosis of Sutton's naevus is usually straightforward³: a melanocytic naevus surrounded by a symmetrical white circle⁴; however, sometimes inflammation makes identifying this entity challenging, as it can present atypical clinical and dermoscopic features. This atypical presentation of Sutton's naevi can pose a diagnostic challenge. In addition, some groups, including ours, have recently published the confocal findings of such equivocal Sutton's naevi.^{5,6}

We aimed to evaluate the RCM diagnostic accuracy of confocal experts when it comes to distinguishing between inflamed naevi and melanomas. In order to study this, we retrospectively reviewed confocal findings of 20 cases of inflamed tumours: 5 thin melanomas with regression features on histopathology, 5 banal naevi and 10 histologically proven Sutton's naevi. Vivablock images were sent to 6 dermatologists specialized in

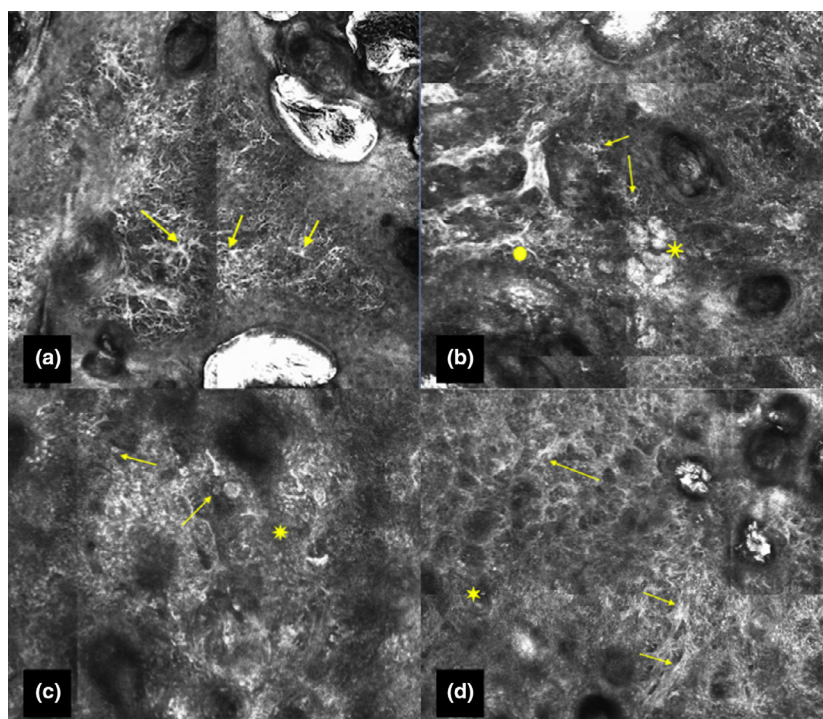


Figure 1 (a) Sutton naevus in a 16-year-old patient (RCM mosaic of 1 × 1 mm). There is a presence of multiple atypical dendritic pagetoid cells located at the superficial epidermis, below the stratum corneum (yellow arrows). (b) Sutton naevus (RCM mosaic of 0.75 × 0.75 mm). Non-edged papillae with isolated basal dendritic cells (arrows) and irregular hyperrefractive clusters of atypical cells (circle). Also, some dense refractive nests at the dermoepidermal junction can be seen (asterisk). (c) Sutton naevus. (RCM single image of 0.6 × 0.5 mm). Non-edged papillae with junctional thickenings at the dermoepidermal junction and pleomorphic atypical basal cells and nests (asterisk). Also, isolated round nucleated dermal cells can be seen (arrows). (d) Sutton naevus (RCM mosaic of 1 × 0.75 mm). Disarranged architecture and non-edged papillae with clusters of dendritic cells at dermoepidermal junction (arrows). Isolated nucleated cells at dermoepidermal junction and dermis are seen (asterisks).

melanoma and non-invasive imaging techniques with a minimum of 10 years' experience in the field. Firstly, each expert had to diagnose every lesion (naevus vs melanoma), and secondly, to assess the confidence level of their decisions (ranging from 0 to 100%). The analysis of the lesions was always performed blindly: their clinical-dermoscopic appearance and the pathological reports were not revealed.

All images were taken with the commercially available Vivascope 1500 (Lucid Inc., Henrietta, NY, USA). Statistical analysis was performed using SPSS 22.0 software (IBM, Chicago, IL). The sensitivity and specificity of confocal diagnoses and the mean diagnostic confidence level given by readers were assessed. Interobserver agreement on RCM diagnosis was evaluated by the Fleiss' kappa coefficient. The Institutional Research Board exempted this study from review.

Sensitivity for melanoma detection ranged between 20% and 100% (mean value 53.3 ± 27.5 DS) with a specificity ranging from 47% to 87% (mean value 67.8 ± 13.5 DS). The sensitivity for Sutton's naevi was between 50% and 90% (mean value 66.6 ± 17.9 DS), but it is important to note that all the experts misdiagnosed at least two SNs as melanomas. Furthermore, 20–80% of Sutton's naevi were considered probably malignant (false positives by RCM. Mean value 43.3 ± 21.3 DS).

Readers' interobserver agreement on the whole series of 20 tumours was poor (Fleiss κ , 0.21). The interobserver concordance increased to 0.39 (still just fair agreement) when we only took into account those lesions that were interpreted by the evaluators with a high level of diagnostic confidence (>80%).

The evaluation of Sutton's naevi poses a diagnostic challenge since they can present with both atypical dermoscopic and confocal findings.^{5,6} Indeed, the most robust confocal features usually associated with melanoma⁷ such as intraepidermal pagetoid dendritic and roundish cells, architectural disarrangement with non-edged papilla and atypical nucleated cells at the dermis can be found in some Sutton's naevi⁶ (Fig. 1).

The present study demonstrates that RCM evaluation of inflamed lesions alone, without any clinical or dermoscopic guidance, can be a pitfall for RCM diagnosis, even in the hands of confocal experts. The blind evaluation of multiple cases with different degrees of inflammation at the dermoepidermal layer led to a misinterpretation of malignancy features that resulted in considering some of the SNs as melanomas and vice versa: some of the melanomas were missed because they were misdiagnosed as inflamed naevi. In addition, an agreement between experts was very poor even among the most experienced, demonstrating the challenging nature of correctly identifying such images. The most expert readers in the group were those who better differentiated between malignant and benign tumours, but they also more often misdiagnosed Sutton's naevi as malignant tumours.

One previous study in particular⁸ has shown that the age and the presence of multiple Sutton's naevi in the same patient are important clinical markers that can help us to make a correct

diagnosis. Accordingly, based on our findings, we consider that the evaluation of marked inflamed lesions such as Sutton's naevi by RCM should be seen as unreliable and therefore not suitable for teleconsultation alone, because relevant clinical information could be missing.

Concerning the limitations of our study, the reduced sample size and the variable degree of expertise of the 6 readers could have impacted on the final findings.

In conclusion, marked inflamed naevi such as Sutton's naevi can simulate melanoma when assessed by RCM and vice versa: they could be a pitfall in RCM evaluation even in the hands of confocal experts. Integration of clinical information with dermoscopic and confocal findings is always necessary to make the final decision regarding excision or follow-up in such challenging tumours.

Acknowledgments

We are grateful to all members of the Dermatology Department of Hospital Clinic and the Melanoma Group of IDIBAPS, Barcelona, who participated by seeing patients and taking images of all cases. We are grateful for the work by our nurse and technician team: Beatriz Alejo, Alexandra Franco, Pablo Iglesias, Miríea Domínguez, María Soledad Peña and María Eugenia Moliner. We especially thank Paul Hetherington for his assistance in the English editing of the manuscript.

Conflicts of interest

We declare that this is an original paper with no financial conflict of interest, and all collaborators who have made substantial contributions to the work reported in the manuscript (including writing and editing assistance) are named in the acknowledgment section.

A. Brugués,¹ S. Ribero,^{1,2} A. Barreiro,¹ S. Bassoli,³ A.P. García,⁴ C. Longo,³ S. Segura,⁵ L. Alós,^{4,6} J. Malvehy,^{1,6,7} S. Puig,^{1,6,7} C. Carrera^{1,6,7,*}

¹Dermatology Department, Hospital Clínic & Melanoma Group IDIBAPS (Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer), Barcelona, Spain, ²Medical Sciences Department, Section of Dermatology, University of Turin, Turin, Italy, ³Dermatology Department, University of Modena and Reggio Emilia, Modena, Italy, ⁴Department of Pathology, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, Spain, ⁵Department of Dermatology, Hospital del Mar, Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, ⁶Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain, ⁷Centro Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Barcelona, Spain

*Correspondence: C. Carrera. E-mail: ccarrera@clinic.cat

References

- 1 Alarcon I, Carrera C, Palou J, Alos L, Malvehy J, Puig S. Impact of *in vivo* reflectance confocal microscopy on the number needed to treat melanoma in doubtful lesions. *Br J Dermatol* 2014; **170**: 802–808.

- 2 Scope A, Dusza SW, Pellacani G *et al.* Accuracy of tele-consultation on management decisions of lesions suspect for melanoma using reflectance confocal microscopy as a stand-alone diagnostic tool. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2019; **33**: 439–446.
- 3 Carrera C, Marghoob AA. Discriminating Nevi from melanomas. *Dermatol Clin* 2016; **34**: 395–409.
- 4 Kolm I, Di Stefani A, Hofmann-Wellenhof R *et al.* Dermoscopy patterns of halo nevi. *Arch Dermatol.* 2006; **142**: 1627–1632.
- 5 Pogorzelska-Antkowiak A, Corneli P, Agozzino M. In vivo reflectance confocal microscopy of halo nevi. *Skin Res Technol* 2021.
- 6 Brugués A, Ribero S, Martins da Silva V *et al.* Sutton Naevi as melanoma simulators: can confocal microscopy help in the diagnosis? *Acta Derm Venereol* 2020; **100**: adv00134
- 7 Segura S, Puig S, Carrera C, Palou J, Malvehy J. Development of a two-step method for the diagnosis of melanoma by reflectance confocal microscopy. *J Am Acad Dermatol* 2009; **61**: 216–229.
- 8 Larre Borges A, Zalaudek I, Longo C *et al.* Melanocytic nevi with special features: clinical-dermoscopic and reflectance confocal microscopic findings. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2014; **28**: 833–845.

DOI: 10.1111/jdv.17412

4.2.2 Carta al editor complementaria:

Challenging pigmented lesions in melanoma patients during checkpoint-inhibitors therapy

Brugués A, Ribero S, Pastorino C, Iglesias P, García A, Alós L, Malveyh J, Puig S, Carrera C.

Melanoma Research 2022 Oct 1;32(5):388-390.

Factor de Impacto: 3.199

Primer cuartil

Resumen:

El artículo describe dos casos de lesiones cutáneas pigmentadas con marcada regresión en pacientes tratados con Pembrolizumab (anti-PD1) como terapia adyuvante para el melanoma en estadio III. Estas lesiones plantean desafíos diagnósticos debido a su apariencia inflamatoria y atípica.

Casos clínicos destacados:

1. **Primer caso:** Mujer de 40 años tratada quirúrgicamente por melanoma en 2010 que sufrió posteriormente una recidiva ganglionar en 2015. Tras 14 ciclos de Pembrolizumab, desarrolló una lesión pigmentada en el antebrazo izquierdo diagnosticada como queratosis liquenoide mediante RCM e histología.
2. **Segundo caso:** Hombre de 60 años afecto de dos melanomas simultáneos en la espalda con biopsia selectiva de ganglio centinela (BSGC) en axila positivo. Durante el tratamiento con Pembrolizumab, una lesión pigmentada en su espalda mostró aumento de pigmento junto a inflamación siendo identificada como un nevus de Sutton por RCM e histología.

Hallazgos relevantes:

- La RCM es útil para caracterizar lesiones inflamatorias en pacientes con melanoma tratados con inhibidores del punto de control inmunitario (ICI), aunque la inflamación intensa puede dificultar su interpretación
- Tanto los nevus de Sutton como las queratosis liquenoides son eventos adversos inmunológicos (ir-AEs) poco comunes del tratamiento con ICI, pero deben ser

considerados en pacientes con melanoma debido a la posibilidad de simular lesiones malignas.

- Los ir-AEs, como la despigmentación tipo vitíligo, pueden asociarse a una mejor respuesta a la terapia con ICI.

Conclusión:

El desarrollo de nevus de Sutton y queratosis liquenoides debe incluirse dentro del espectro de efectos secundarios dermatológicos asociados a la terapia con ICI. Durante las terapias inmunológicas se suma la dificultad de fenómenos de inflamación y regresión en lesiones epiteliales y melanocíticas preexistentes. Para un manejo óptimo, es esencial combinar herramientas como la fotografía corporal total, la dermatoscopia y la RCM con la evaluación clínica periódica.

Letters to the Editor

Melanoma Research 2022, 32:388–392

Challenging pigmented lesions in melanoma patients during checkpoint-inhibitors therapy

Albert Brugués^a, Simone Ribero^{a,b}, Carlotta Pastorino^{a,c}, Pablo Iglesias^a, Adriana García^{d,e}, Lúcia Alós^{d,e}, Josep Malvehy^{a,e,f}, Susana Puig^{a,e,f} and Cristina Carrera^{a,e,f}, ^aDermatology Department, Hospital Clínic & Melanoma Group IDIBAPS (Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer), Barcelona, Spain, ^bMedical Sciences Department, Section of Dermatology, University of Turin, Turin, ^cDISSAL, Department of Dermatology, IRCCS-AOU S. Martino-IST, University of Genoa, Genoa, Italy, ^dPathology Department, Hospital Clínic de Barcelona, ^eUniversitat de Barcelona and ^fCentro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Raras (CIBERER), Barcelona, Spain

Correspondence to Cristina Carrera, MD, PhD, Dermatology Department, Hospital Clínic, University of Barcelona, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain Tel: +34 93 2279867; fax: +34 93 2275438; e-mail: ccarrera@clinic.cat

Received 5 May 2022 Accepted 9 May 2022

Here, we present two challenging pigmented skin lesions showing marked regression features during treatment with checkpoint inhibitors (CPI) prescribed as adjuvant therapy for stage III melanoma.

The most frequent immune-related adverse events (ir-AEs) during CPI therapy are those targeting the skin. A wide spectrum of immune-mediated dermatoses can appear, but the most common cutaneous ir-AEs reported in the literature are maculopapular rash, pruritus and vitiligo-like depigmentation [2,3].

The first case was a woman in her 40s who had been surgically treated for melanoma on her left arm in 2010 (stage IA). Melanoma relapse was confirmed in December 2015 after surgery on an axillary lymphadenopathy. At this point, pembrolizumab was started as an adjuvant therapy and she developed vitiligo-like depigmentation on sun-damaged facial areas. After 14 cycles, in November 2016, we noticed a macular barely pigmented lesion located on her left forearm (Fig. 1a): dermoscopy showed a challenging pigmented lesion with a slightly vascular pattern (Fig. 1b).

Reflectance confocal microscopy (RCM) revealed a typical honeycomb pattern at the epidermis, whereas the dermoepidermal junction (DEJ) presented architectural disarrangement. Dermal papillae were occupied by grossly arranged collagen fibers along with small bright particles, which suggested inflammatory cells. Also, numerous 'plump-bright cells' were seen in the dermis corresponding to the presence of melanophages (Fig. 1c–e). These RCM findings can be seen in marked inflamed lesions such as lichen planus-like keratosis (LPLK) or inflamed seborrheic keratoses. Histologic evaluation confirmed the diagnosis of LPLK (Fig. 1f).

The second patient was a 60-year-old man with multiple naevi who was initially diagnosed with two simultaneous melanomas both located on his back. The first one was an ulcerated melanoma (2.1-mm Breslow thickness) and the second a thin melanoma (0.5-mm Breslow). Sentinel lymph node biopsy resulted positive in the axillary region and no further metastases were discernible on body image staging; melanoma stage IIIC was established according to The American Joint Committee on Cancer 8th edition: T3b, N1a, M0. CPI with anti-PD1 (pembrolizumab) treatment was started as an adjuvant therapy, and after 6 months, a melanocytic lesion located on his back presented an increase in pigment associated with inflammatory features. Dermoscopy evaluation showed structureless and atypical pigmented areas with some dots perceptible on an erythematous background (Fig. 2a).

RCM revealed a typical honeycomb pattern at the epidermal evaluation with junctional thickenings at the dermoepidermal layer and marked infiltration of dendritic cells on the superficial dermis (Fig. 2b and c).

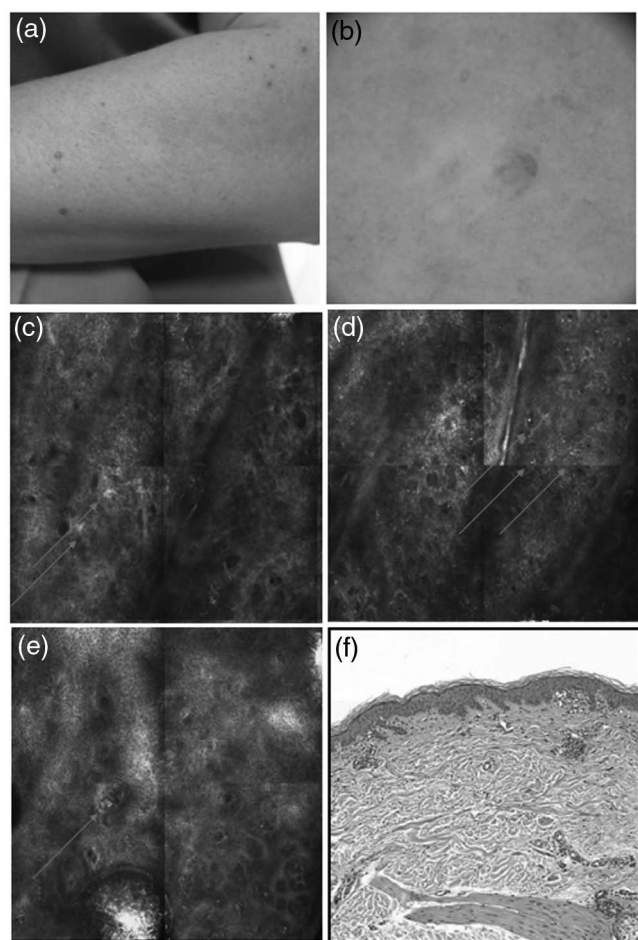
Given the fact that some of these RCM features can be seen in melanomas, in addition to this particular scenario of a multiple primary melanoma patient in his 60s, the decision to excise was made in order to distinguish between melanoma and markedly regressed nevus.

Histologic evaluation confirmed a melanocytic lesion, which was partially blurred by the presence of a dense lymphocytic infiltrate at the DEJ. Even though a slight cytological atypia was identified at the basal layer, taking into account all histological features a final diagnosis of Sutton naevus was made (Fig. 2e).

The development of vitiligo and lichenoid dermatitis have previously been described in cancer patients under CPI therapy. Reinvigoration of the immune system during this treatment is thought to be responsible for the development of such a wide spectrum of ir-AEs. Interestingly, metastatic patients who present an ir-AE are thought to have a better response to CPI therapy and, specifically, vitiligo-like depigmentation has been suggested as biomarker of favorable response. Sutton naevi and LPLK are not among the most frequently reported ir-AEs; however, they should be taken into account because melanoma patients usually present multiple naevi and other sun-induced pigmented lesions and are also at increased risk of developing second malignancies.

Little has been published regarding the usefulness of RCM in the diagnosis and monitoring of regressive skin lesions in melanoma patients under treatment with CPI. In fact, to our knowledge, there is only one case

Fig. 1



(a) Hypopigmented macular lesion appearing on an area which was previously occupied by a solar lentigo. It was located on the patient's left forearm and measured 2 cm maximum diameter. (b) Dermoscopy of the same lesion showing a well-defined white area which is clearer than its surroundings. Within this area a residual pigmentation and a slightly vascular pattern can be seen. (c) High resolution RCM image (1 mm × 1 mm) at the dermoepidermal junction showing isolated hyper-refractile cells, also known as plump cells (grey arrows). (d) High resolution RCM image (1 mm × 1 mm) at the dermoepidermal junction showing melanophages in the center of the papillae (grey arrows). (e) High resolution RCM (1 mm × 1 mm) at the upper dermis which shows melanophages in the center of the dermal papillae (grey arrows). (f) Histology (HE 40x): on epidermal evaluation hyperkeratosis and acanthosis are seen as a reaction to the interface dermatitis involving the dermoepidermal junction. In the dermis, the presence of inflammatory cells lead to a fibrosis with regression features and vascular hyperplasia. Histologic evaluation confirmed the presence of dermal melanophages and the absence of melanocytic cells as suspected. RCM, reflectance confocal microscopy.

in the literature, reported by Wolner *et al.* [4], showing a lichenoid reaction of a solar lentigo as a side effect of pembrolizumab therapy. Further, Nicolétis-Lombart *et al.* [5] reported the first case of extensive Sutton phenomenon during treatment with pembrolizumab for melanoma metastases. However, none of these reports studied the role of RCM in this patient setting.

Here, we report two dermoscopic and RCM pigmented challenging lesions that were excised and finally diagnosed as LPLK and Sutton naevus. Additionally, both lesions can be considered as unusual ir-AEs because they developed during pembrolizumab therapy. Dermoscopy and RCM can be useful complementary tools in melanoma patients not only for skin cancer diagnosis but also for treatment monitoring. Indeed, Ribero *et al.* [6] first described the usefulness of dermoscopy and RCM in evaluating the full regression of skin metastases in a melanoma patient after BRAF inhibitor therapy.

Even though dermoscopic and RCM features of LPLK have previously been described [7–9], the role of imaging techniques in monitoring skin adverse events under anti-PD1 therapy remains still unpublished. Furthermore, Sutton naevi can present a challenging appearance with atypical presentation under both dermoscopy and RCM. As it has been recently published [10], Sutton naevi can be potential melanoma simulators under RCM as they could present some melanoma features such as atypical dendritic and round pagetoid cells infiltrating the epidermis, atypical basal cells, disarranged dermoepidermal architecture and atypical nucleated cells within dermal papillae.

As is already known, RCM has a good correlation with histological evaluation [11]; however, it has its limitations as it does not allow precise evaluation of the deep dermis. Furthermore, marked inflammation can obscure correct DEJ examination leading to misinterpretation of malignant features.

In conclusion, the development of Sutton naevi and LPLK should be included in the spectrum of dermatological ir-AEs from CPI therapies, especially in melanoma patients who usually present multiple naevi and sun-damaged skin. Careful dermatological examination of metastatic patients will probably identify other similar cases.

Acknowledgements

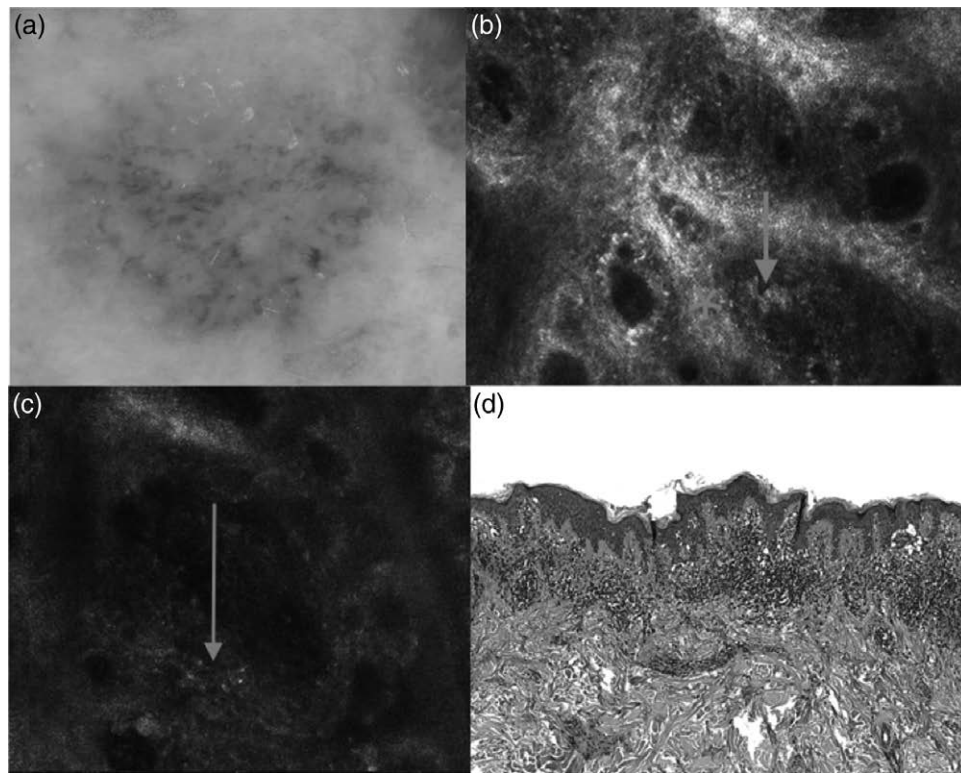
Conflicts of interest

There are no conflicts of interest.

References

- Apalla Z, Papageorgiou C, Lallas A, Delli F, Fotiadou C, Kemanetzi C, Lazaridou E. Cutaneous adverse events of immune checkpoint inhibitors: a literature review. *Dermatol Pract Concept* 2021;11:e2021155.
- de Golan E, Kwong BY, Swetter SM, Pugliese SB. Cutaneous complications of targeted melanoma therapy. *Curr Treat Options Oncol* 2016;17:57.
- Gnanendran SS, Turner LM, Miller JA, Hwang SJE, Miller AC. Cutaneous adverse events of anti-PD-1 therapy and BRAF inhibitors. *Curr Treat Options Oncol* 2020;21:29.
- Wolner ZJ, Marghoob AA, Pulitzer MP, Postow MA, Marchetti MA. A case report of disappearing pigmented skin lesions associated with pembrolizumab treatment for metastatic melanoma. *Br J Dermatol* 2018;178:265–269.

Fig. 2



(a) Dermoscopy image showing a melanocytic lesion presenting structureless and atypical pigmented areas with irregular globules arising on an erythematous background. This lesion was located on our patient's back and measured 8 mm. (b) High resolution RCM (0.5 mm × 0.5 mm) image showing junctional thickenings at the dermoepidermal layer (asterisk) and atypical cells within dermal papillae (grey arrow). (c) High resolution RCM (0.5 mm × 0.5 mm) image focused at DEJ showing a high predominance of dendritic cells infiltrating the DEJ (grey arrow). These dendritic cells are probably Langerhans inflammatory cells located inside enlarged DEJ bridges. (d) Histology (high magnification HE 100X): Compound nevus presenting a Sutton inflammatory reaction in a band-like distribution occupying the upper dermis. Also, blurring of the dermoepidermal junction and low-grade atypia are seen as a reactive response to the intense lymphocytic infiltrates. DEJ, dermoepidermal junction; RCM, reflectance confocal microscopy.

- 5 Nicolétis-Lombart I, Kervarrec T, Zaragoza J, Machet MC, Samimi M. Multiple "halo nevi" occurring during pembrolizumab treatment for metastatic melanoma. *Int J Dermatol* 2019;**58**:739–741.
- 6 Ribero S, Marra E, Tomasini CF, Fierro MT, Bombonato C, Longo C. Confocal microscopy and dermoscopy for the monitoring of BRAF inhibitor therapy of melanoma skin metastases. *Br J Dermatol* 2017;**176**:1101–1102.
- 7 Zaball  s P, Blazquez S, Puig S, Salsench E, Rodero J, Vives JM, Malvehy J. Dermoscopic pattern of intermediate stage in seborrheic keratosis regressing to lichenoid keratosis: report of 24 cases. *Br J Dermatol* 2007;**157**:266–272.
- 8 Ramirez-Fort MK, Al Jalbout S, Kittler H, Pellacani G. Lichenoid keratosis: non-invasive imaging in the setting of diagnostic uncertainty. *Dermatol Pract Concept* 2013;**3**:63–65.
- 9 Bassoli S, Rabinovitz HS, Pellacani G, Porges L, Oliviero MC, Braun RP, et al. Reflectance confocal microscopy criteria of lichen planus-like keratosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2012;**26**:578–590.
- 10 Brugués A, Ribero S, Martins da Silva V, Aguilera P, Garcia AP, Al  s L, et al. Sutton naevi as melanoma simulators: can confocal microscopy help in the diagnosis? *Acta Derm Venereol* 2020;**100**:adv00134.
- 11 Ribero S, Moscarella E, Ferrara G, Piana S, Argenziano G, Longo C. Regression in cutaneous melanoma: a comprehensive review from diagnosis to prognosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2016;**30**:2030–2037.

BRCA1-associated protein 1 c.368delG mutation leads to the development of multiple BAPomas and cutaneous melanomas: a novel pathogenic variant in BRCA1-associated protein tumor predisposition syndrome

Francesco Cavallo^{a,*}, Gabriele Rocuzzo^{a,*}, Martina Merli^a, Gianluca Avallone^a, Lamberto Zocchi^a, Paola Ogliara^b, Barbara Pasini^{b,c}, Pietro Quaglino^a and Simone Ribero^a, ^aSection of Dermatology, Department of Medical Sciences, University of Turin, ^bMedical Genetics Unit at the AOU Citt   della Salute e della Scienza di Torino and ^cDepartment of Medical Sciences, University of Turin, Turin, Italy

Correspondence to Francesco Cavallo, MD, Section of Dermatology, Department of Medical Sciences, University of Turin, Via Cherasco 23, 10126, Turin, Italy
E-mail: fcavallo93@gmail.com

*Francesco Cavallo and Gabriele Rocuzzo contributed equally to the writing of this article.

Received 1 June 2022 Accepted 19 June 2022

BRCA1-associated protein (BAP1) mutated melanocytic tumors, also called BIMTs (BAP1-inactivated melanocytic

DOI: 10.1097/CMR.0000000000000834

DISCUSIÓN

5.DISCUSIÓN

5.1 DESAFÍOS EN EL DIAGNÓSTICO DE NEVUS CON INFLAMACIÓN/REGRESIÓN, NEVUS DE SUTTON Y MELANOMAS CON REGRESIÓN: AVANCES EN HERRAMIENTAS DIAGNÓSTICAS Y CONSIDERACIONES CLÍNICAS

En el día a día de las consultas de dermatología en una unidad de melanoma centrada en el estudio de pacientes complejos, habitualmente, la detección clínica y la dermatoscopia de los nevus con signos de regresión/inflamación es una de las características atípicas que suele conllevar su extirpación. Los hallazgos histopatológicos de estas lesiones interpretados por el patólogo experto permitirán diferenciarlos del melanoma.

No obstante, el estudio histopatológico de los nevus de Sutton no está tan bien caracterizado, puesto que a menudo estas lesiones presentan una clínica bien definida en pacientes jóvenes por lo que no se extirpan de forma rutinaria. De forma relevante, y tal como ha sido descrito en nuestro primer estudio⁷⁰ advertimos la importancia de que existe una variante de nevus de Sutton con presentaciones clínica y dermatoscopia atípicas, similares a melanoma. En estos casos, actualmente la exéresis es imprescindible para descartar malignidad. Es por ello que nos resultó relevante describir y entender el tipo de inflamación e inmunofenotipo de estas lesiones.

Durante el análisis histopatológico de estas lesiones, la destrucción característica de la unión dermoepidérmica (UDE), especialmente cuando el componente dérmico residual es atípico o muestra una arquitectura significativamente desestructurada, puede generar dudas diagnósticas. En estas situaciones el estudio del tipo de infiltrado mediante inmunohistoquímica (IHQ) resulta de gran utilidad. Esta particularidad es lo que justifica el interés en estudiar los nevus de Sutton (SN) y compararlos con los melanomas con regresión.

La diferenciación precisa entre nevus melanocíticos benignos, como el nevus de Sutton (SN), y melanomas, particularmente aquellos con regresión tumoral, sigue siendo un desafío en la práctica dermatológica. Esto se debe a la complejidad inherente a la variabilidad en la presentación clínica, la capacidad de las lesiones melanocíticas para

mostrar características morfológicas atípicas, y el fenómeno de la regresión, que puede alterar las características histológicas y dermatoscópicas de la lesión.

La regresión tumoral es un proceso en el cual las células tumorales son eliminadas parcial o totalmente por la acción del sistema inmunológico, siendo un fenómeno particularmente relevante en el caso de los melanomas. Este mecanismo puede dificultar su diagnóstico diferencial, ya que algunas lesiones melanocíticas benignas, como los nevus de Sutton (SN), pueden presentar inflamación o regresión, desarrollando características clínicas que se asemejan a las observadas en lesiones malignas como el melanoma. Esta superposición puede generar confusiones diagnósticas, subrayando la necesidad de herramientas avanzadas y precisas que permitan diferenciar de manera confiable entre estas entidades.

A lo largo de las últimas décadas, los avances en las técnicas de imagen no invasivas, como la dermatoscopia y la microscopía confocal de reflectancia (RCM), han proporcionado nuevas herramientas para mejorar la precisión diagnóstica. En concreto, en un estudio publicado por nuestro grupo, Yelamos y colaboradores⁷¹ se evaluó el impacto de la microscopía confocal de reflectancia (RCM) en la confianza diagnóstica y la gestión de lesiones cutáneas equívocas en la práctica diaria. Se objetivó un aumento significativo de la confianza diagnóstica después del uso de RCM generando además un cambio en la actitud terapéutica en un 33.5% de los casos. En el mismo estudio se constató un aumento de la sensibilidad para detectar malignidad del 78.2% al 85.1% y de la especificidad del 78.8% al 80% después del uso de RCM.

Tal y como se ha descrito⁷¹, la integración de RCM en la práctica diaria ayuda a mejorar la confianza diagnóstica de los profesionales y su precisión, resultando en cambios significativos en la gestión de las lesiones cutáneas equívocas, manteniendo una alta precisión diagnóstica. Estos avances en RCM han permitido no solo una mejor visualización de los patrones morfológicos y celulares de las lesiones, sino también un análisis más detallado de los mecanismos biológicos subyacentes.

Esta tesis doctoral ha buscado ampliar el conocimiento sobre las características clínicas, dermatoscópicas, RCM y moleculares de los nevus de Sutton (SN) y los melanomas con regresión, con un enfoque integral en sus métodos diagnósticos. Asimismo, busca contribuir al desarrollo y optimización de las estrategias terapéuticas disponibles, con énfasis en los avances más recientes.

5.2 EL NEVUS DE SUTTON: CARACTERIZACIÓN CLÍNICO-DERMATOSCÓPICA

La evaluación de los nevus intensamente inflamados, como el SN, representa un desafío diagnóstico, ya que pueden presentar hallazgos dermatoscópicos y confocales atípicos.

En cuanto a la dermatoscopia en nuestro estudio hemos publicado que existe un grupo de nevus de Sutton, al que nos referimos como nevus de Sutton atípicos, que pueden presentar características dermatoscópicas típicamente asociadas a malignidad (tales como vasos atípicos, ulceración o red negativa de pigmento). En lesiones melanocíticas con regresión (tanto benignas como malignas), estas características dermatoscópicas se superponen de manera significativa, lo que dificulta el diagnóstico diferencial.

Esta dificultad en el diagnóstico se suma al hecho de que son lesiones que vemos con poca frecuencia en nuestras consultas: para dar una visión general, en nuestro departamento referente en cáncer de piel, se extirpan aproximadamente 240 nevus con algún grado de displasia y 140 melanomas al año; el grupo de los SN atípicos podrían representar menos del 1.4% de los nevus benignos atípicos extirpados.

En nuestro estudio, al comparar este tipo específico de SN atípicos con el grupo de melanomas con regresión objetivamos ciertas diferencias en ambos grupos de lesiones. La presencia de velo azul-blanquecino, proyecciones, pigmentaciones irregulares y líneas blancas cortas se observaron preferentemente en las lesiones malignas.

Es importante mencionar que la presencia de un halo hipopigmentado en una lesión melanocítica no es patognomónica de nevus de Sutton; de hecho, uno de los melanomas analizados en nuestro estudio⁷⁰ presentó un halo irregular y asimétrico alrededor de la lesión. De todos modos la simetría del halo sí que podría ser un detalle a tener en cuenta ya que todas las lesiones de nuestro estudio que presentaron un halo simétrico correspondieron a nevus de Sutton.

Es bien aceptado que las lesiones melanocíticas con características de regresión extensa deben considerarse sospechosas, especialmente si la regresión se observa en más del 50% de toda la lesión. Dicha regresión se puede observar tanto en los SN atípicos como en los melanomas^{48,66} y es una señal sospechosa que a menudo lleva a la extirpación de la lesión. Aunque es difícil diferenciar entre lesiones benignas y malignas utilizando solo esta

característica, en nuestro estudio pudimos encontrar algunas diferencias en cuanto a la distribución de la regresión en la lesión. De hecho, encontramos que, aunque los SN atípicos y los MM pueden ambos presentar regresión blanca y azul-gris, ninguno de los melanomas en nuestro estudio presentó regresión periférica/global azul-gris, en contraste con una parte de los SN atípicos que sí la presentaron. Esto puede estar relacionado con las diferencias encontradas en la reacción inmune subyacente desarrollada en el subconjunto de lesiones benignas inflamadas en contraste con la inflamación observada en lesiones malignas⁷².

Otro aspecto clínico a tener en cuenta cuando estudiamos lesiones con intensa inflamación es que según la literatura ⁷³, la edad de los pacientes es un marcador clínico importante a tener en cuenta. En nuestra serie de pacientes pudimos constatar que los pacientes con SN fueron significativamente más jóvenes que los pacientes con melanoma.

5.3 MICROSCOPIA DE REFLECTANCIA CONFOCAL EN EL DIAGNÓSTICO DE NEVUS DE SUTTON Y MELANOMAS

5.3.1 Nevus de Sutton como falso positivo de melanoma en RCM

El principal papel de la microscopía confocal (RCM) en pacientes con múltiples nevus es aumentar la especificidad sin perder sensibilidad para detectar melanomas tempranos, evitando así extirpaciones innecesarias⁵³.

En nuestro estudio⁷⁰, al comparar SN con melanomas con características de regresión, observamos que los hallazgos en el confocal más específicos previamente reportados para melanoma⁵³ se encontraron en ambos grupos: tanto los SN como los melanomas podían presentar células dendríticas atípicas y células redondeadas pagetoides infiltrando la epidermis, células basales atípicas, una arquitectura dermo-epidérmica desorganizada y células nucleadas atípicas dentro de las papilas dérmicas.

Con respecto a la RCM, nos dimos cuenta que al observar los mosaicos epidérmicos y dérmicos (Vivablocks), los SN pueden ser equívocos debido a una importante presencia de células pagetoides en la epidermis y un fuerte infiltrado de células ‘tipo Plump’ con partículas brillantes en la dermis. Estos hallazgos pueden estar relacionados con la presencia de células de Langerhans epidérmicas o infiltrados inflamatorios⁸, y esto generalmente lleva a los clínicos a realizar una extirpación de la lesión, ya que estas características a menudo se han reportado en melanomas. De hecho, las principales características confocales incluidas en los algoritmos de melanoma^{53,52} son la presencia de células pagetoides atípicas, papilas mal definidas y células atípicas en la unión o dérmicas: Esto demuestra claramente la importancia de estas características RCM al evaluar las lesiones y su presencia en SN y en melanomas hace muy difícil su diagnóstico diferencial.

Nuestros hallazgos concuerdan con aquellos descritos por ahora en la literatura: las características de RCM de los nevus de Sutton han sido descritas en una serie de casos por Schwarz *et al.*,⁵⁴ que describieron la evaluación confocal in vivo de 9 nevus de Sutton clínicamente diagnosticados. Encontraron que 5 de los casos (55.6%) presentaban células pagetoides epidérmicas mientras que en 7 casos (77.8%) se objetivaron células nucleadas

en las papilas dérmicas. Por último constataron la presencia de células brillantes ‘tipo Plump’ en 6 casos (66.7%).

5.3.1 Hallazgos de RCM en la unión dermoepidérmica para diferenciar SN vs Melanoma

La microscopía confocal de reflectancia (RCM) permite una visualización detallada a nivel celular de las lesiones cutáneas, facilitando el análisis de la distribución de melanocitos y la estructura de la unión dermoepidérmica (UDE). En este contexto, la UDE adquiere una relevancia particular para identificar diferencias entre el nevus de Sutton (SN) y el melanoma, hallazgos no publicados en la literatura con anterioridad.

En nuestro estudio⁷⁰, las diferencias más significativas por RCM entre los SN y los melanomas estaban relacionadas con la arquitectura de la unión dermoepidérmica. La presencia de al menos un 10% de engrosamientos en la unión, al menos un 10% de papilas mal definidas y células basales atípicas (ya sea dendríticas o redondeadas) fueron los hallazgos asociados con malignidad, mientras que la presencia de nidos estuvo más relacionada con la benignidad. No se encontraron diferencias en cuanto a las características epidérmicas de RCM evaluadas, ya que como hemos comentado con anterioridad los SN pueden presentar células intraepidérmicas pagetoides marcadas y líneas enredadas, indicativas de dendritas, similares a las que se observan en los melanomas.

Los estudios histopatológicos⁷⁴ confirmaron que las células atípicas observadas en los SN por RCM corresponden a células de Langerhans (CD1a+) y también a melanocitos atípicos dentro de las capas epidérmica y basal (Melan A+).

Estos hallazgos respaldan el valor de la RCM para identificar patrones distintivos entre SN y melanomas, aunque ciertas características no son exclusivas de una u otra entidad. A pesar de la alta resolución de la RCM, la dificultad diagnóstica persiste en lesiones inflamadas/atípicas como pudimos demostrar en nuestro estudio⁷⁵ en el que nos planteamos evaluar la precisión diagnóstica de expertos en confocal para distinguir entre nevus inflamados y melanomas. La evaluación ciega de múltiples casos con diferentes grados de inflamación en la capa dermoepidérmica llevó a una mala interpretación de las

características de malignidad, lo que resultó en que algunos de los SN se consideraran melanomas (falsos positivos) y viceversa: algunos melanomas no fueron detectados porque se diagnosticaron erróneamente como nevus inflamados. Además, el acuerdo entre expertos fue muy pobre incluso entre los más experimentados, demostrando la naturaleza desafiante de identificar correctamente tales imágenes.

Un estudio anterior ha demostrado que la edad y la presencia de múltiples nevus de Sutton en el mismo paciente son marcadores clínicos importantes que pueden ayudarnos a realizar un diagnóstico correcto⁷³. De acuerdo con nuestros hallazgos, consideramos que la evaluación de lesiones inflamadas marcadas como los nevus de Sutton mediante RCM debe considerarse poco confiable y, por lo tanto, no adecuada para la teleconsulta únicamente, ya que podría faltar información clínica relevante. En estos casos es crucial la integración de datos clínicos, dermatoscópicos y confocales para un mejor diagnóstico y decidir si extirpar o no la lesión.

5.3.1 RCM en pacientes bajo terapia sistémica contra melanoma

En el manejo del melanoma avanzado es habitual el uso de terapias inmunológicas específicas, como inhibidores de puntos de control inmunitario (anti-PD1 o anti-CTLA4), para potenciar la respuesta inmunitaria del huésped frente al tumor y mejorar así los resultados clínicos. Sin embargo, durante el tratamiento con estos inhibidores pueden aparecer lesiones cutáneas pigmentadas con características regresivas, lo que representa un desafío diagnóstico. En nuestro estudio⁷⁶ se presentan dos casos en los que la RCM ayudó en el diagnóstico de lesiones pigmentadas durante el tratamiento con Pembrolizumab (anti-PD1), que tras evaluación histológica fueron confirmadas como queratosis liquenoide (*lichen planus like keratosis*: LPLK) y nevus de Sutton (SN).

Se ha publicado poco sobre la utilidad de la microscopía confocal de reflectancia (RCM) en el diagnóstico y monitoreo de lesiones cutáneas inducidas en pacientes con melanoma bajo tratamiento con inhibidores de puntos de control inmunitario (ICI). Wolner *et al.*⁷⁷, muestran una reacción liquenoide de un lentigo solar como efecto secundario de la terapia con pembrolizumab. Nicolétis-Lombart *et al.*⁷⁸ reportaron el primer caso de un fenómeno de Sutton extenso durante el tratamiento con pembrolizumab para metástasis de melanoma. Sin embargo, ninguno de estos informes estudió el papel de la RCM en este tipo de pacientes.

Nosotros presentamos⁷⁶ dos lesiones pigmentadas desafiantes desde el punto de vista dermoscópico, con RCM se orientaron, y finalmente confirmaron histopatológicamente, como queratosis liquenoide (*lichen planus like keratosis* LPLK) y nevus de Sutton. Además, ambas lesiones pueden considerarse como efectos adversos inmunorrelacionados inusuales porque se desarrollaron durante la terapia con Pembrolizumab. El uso de técnicas de imagen para la monitorización de pacientes con melanoma que desarrollan eventos adversos cutáneos bajo terapia anti-PD1 es un campo novedoso aún no publicado en la literatura. Sin embargo, ya estaba documentado que entre las principales aplicaciones de la RCM destaca la evaluación de lesiones en pacientes con riesgo de desarrollar nuevos melanomas, cambios en lesiones preexistentes o incluso posibles metástasis. En la era de las terapias diana contra el melanoma (inhibidores de *BRAF*), gracias al estudio con confocal se pudo describir la aparición de cambios a nivel microscópico en los nevus preexistentes de los pacientes metastásicos en monoterapia con inhibidores de *BRAF*⁷⁹, siendo lesiones dermatoscópica, por confocal e histopatológicamente indistinguibles de melanomas. De igual manera, Ribero *et al.*⁸⁰ describieron por primera vez la utilidad de la dermoscopia y la RCM para evaluar la regresión completa de metástasis cutáneas en un paciente con melanoma tras la terapia con inhibidores de *BRAF*.

En conclusión, el desarrollo de nevus de Sutton y LPLK podría incluirse dentro del espectro de eventos adversos dermatológicos inmunorrelacionados de las terapias con ICI especialmente en pacientes con melanoma que suelen presentar múltiples nevus y otras lesiones fotoinducidas epiteliales.

5.4 NEVUS DE SUTTON Y MELANOMAS CON REGRESIÓN: PERFIL INMUNOPATOLÓGICO DISTINTIVO

El melanoma maligno y los nevos de Sutton representan dos extremos en el espectro de las lesiones melanocíticas inflamatorias. Mientras que los nevos de Sutton son lesiones benignas asociadas a una respuesta inmunitaria local activa y regulada, los melanomas con regresión son tumores malignos que presentan un microambiente inmunológico más complejo y menos eficiente⁶⁴. La capacidad de diferenciar estas dos entidades, especialmente en lesiones con características clínicas y morfológicas similares, tiene una importancia crítica en la práctica clínica y patológica, ya que afecta tanto al pronóstico como a las decisiones terapéuticas.

La regresión tumoral en los SN y en los melanomas se refiere a la desaparición parcial de las células melanocíticas a través de una respuesta inmunitaria mediada principalmente por linfocitos T. Este fenómeno puede encontrarse en melanomas desde sus etapas tempranas (melanomas delgados) y también en los SN. Como ya hemos comentado puede ser un factor confuso en el diagnóstico, ya que las características clínico-dermatoscópicas y de microscopía confocal pueden parecerse en ambas lesiones. Es debido a esto que el diagnóstico de los SN y los melanomas con regresión no debe basarse únicamente en observaciones clínicas/dermatoscópicas/RCM: las herramientas diagnósticas avanzadas, como las pruebas inmunohistoquímicas para definir el perfil inmunofenotípico, son útiles para obtener una evaluación precisa de la lesión.

Nuestro estudio titulado *“Immunophenotypic profile of inflammatory cells in melanomas with regression and halo nevi: possible keys to distinguish intensely inflamed tumours”* aborda esta problemática desde una perspectiva inmunológica, utilizando técnicas inmunohistoquímicas para caracterizar las diferencias en el infiltrado inflamatorio de ambas lesiones. Este enfoque no solo proporciona herramientas para mejorar el diagnóstico diferencial, sino que también revela información fundamental sobre los mecanismos inmunológicos que subyacen a estas condiciones, lo cual podría tener implicaciones terapéuticas significativas.

La inmunofenotipificación de las células inflamatorias que acompañan a la regresión en el melanoma y en los nevus de Sutton ha sido poco estudiada. En 2015, un estudio de Botella *et al.* encontró una mayor reacción citotóxica en los nevus de Sutton en comparación con los melanomas con regresión, validando nuestro estudio, que mostró una mayor proporción de CD8/CD3 en el grupo de nevus de Sutton⁶³. Resultados similares se encontraron en una serie de lesiones melanocíticas de tipo Spitzoide, cuando estas se agruparon en tumores benignos/de bajo grado y tumores malignos/de alto grado⁶⁹. Sin embargo, el estudio de Botella *et al.* también observó un infiltrado más denso de células marcadas con PD1 en los nevus de Sutton, pero no encontró diferencias significativas en la expresión de FOXP3. Por el contrario, nuestro estudio sí encontró diferencias significativas, con mayor presencia de CD25, PD1 y FOXP3 en el grupo de Sutton en comparación con los melanomas⁶³.

La evidencia combinada de un infiltrado predominantemente CD8/CD3 junto una mayor positividad de PD1, FOXP3 y CD25 apunta hacia un ambiente inmunológico citotóxico más activo en los nevus de Sutton el cual ayuda a una mejor regulación de la respuesta inmunitaria.

Ribero *et al.* sugirieron que en los melanomas, ciertos clones neoplásicos pueden evadir la respuesta inmunitaria, llevando a un crecimiento descontrolado⁶⁵. En este escenario nuestro estudio podría aportar información relevante; la ineficacia de la respuesta citotóxica en los melanomas podría estar relacionada con una disminución de CD8, así como con una reducción en el entorno inmunológico regulador marcado por PD1, CD25 y FOXP3.

En los melanomas, la presencia de células FOXP3+ se ha asociado con una reducción tanto de la respuesta inmunitaria innata como de la adquirida contra el tumor, empleando un mecanismo típicamente involucrado en proteger al cuerpo contra la autoinmunidad^{81,82,83}. Cuando evaluamos la proporción FOXP3/CD4 en nuestro estudio, notamos niveles más altos de expresión en los nevus de Sutton y niveles más bajos en los melanomas con regresión. Esta discrepancia sugiere un estado distinto de tolerancia inmunológica entre los nevus de Sutton y los melanomas con regresión, lo que potencialmente puede servir como un indicador temprano de desactivación del sistema inmunitario en melanomas. Esta observación se alinea con la evidencia que indica que, en el melanoma metastásico, las células inmunitarias FOXP3+ que infiltran el tumor

podrían servir como un biomarcador predictivo potencial para la respuesta al tratamiento y la supervivencia general. Balatoni et al. demostraron que la densidad de células FOXP3+ que infiltran metástasis en los ganglios linfáticos fue el predictor más fuerte de respuesta al tratamiento con ipilimumab⁸⁴.

Nuestro estudio aborda dos entidades que son difíciles de diferenciar en la práctica diaria: los nevus de Sutton y el melanoma maligno con regresión. Los fenómenos inflamatorios observados en los nevus de Sutton podrían inducir atipia reactiva, lo cual complica su diferenciación, especialmente para los patólogos expertos⁸⁵. En este contexto aportamos información valiosa en el estudio del perfil inmunitario de los tumores melanocíticos que podría ser útil en casos con características morfológicas superpuestas, que dificultan la distinción entre melanoma con regresión y nevus de Sutton. Sin embargo, los resultados actuales no permiten extrapolar la utilidad del inmunofenotipo de la inflamación para diferenciar melanoma de lesiones melanocíticas con regresión.

Comprender la composición del infiltrado inmunitario en casos donde los melanomas desaparecen total o parcialmente es crucial en una era de tratamientos diseñados para mejorar la respuesta inmunitaria contra este tumor. Basándonos en nuestros hallazgos, recomendamos realizar estudios adicionales para profundizar en la comprensión del inmunofenotipo de los nevus de Sutton y los mecanismos subyacentes a la regresión histológica en melanomas, contribuyendo a avances en el conocimiento clínico y patológico.

5.5 LIMITACIONES Y FORTALEZAS DE LA TESIS DOCTORAL:

Los estudios publicados por nuestro grupo^{70,75,76}, presentan limitaciones en cuanto al tamaño muestral, lo que afecta su solidez y falta de reproducibilidad. En particular, el grupo de nevus de Sutton es pequeño, ya que su diagnóstico suele basarse en la clínica y dermatoscopia, sin necesidad de extirpación quirúrgica. En el análisis inmunohistoquímico solo se incluyeron casos de nevus de Sutton con características atípicas que requirieron biopsia, lo que impide poder extrapolar nuestros hallazgos a todos los nevus tipo Sutton, pero sí los hace representativos en cuanto al tipo de nevus que se extirpa por dudas diagnósticas en la práctica clínica habitual.

Otra limitación en la descripción del RCM de los SN podría ser de la propia técnica, ya que no permite una clara visualización de los planos más profundos, o sesgos de recogida de datos inmunohistoquímicos que a veces pueden incluir cierta subjetividad.

A pesar de sus limitaciones, dichos estudios proporcionan un marco conceptual que podría revolucionar la forma en que diagnosticamos y tratamos estas condiciones en el futuro. El diagnóstico diferencial entre nevus de Sutton y melanomas con regresión sigue siendo un desafío significativo, pero las herramientas diagnósticas avanzadas, como la dermatoscopia, la RCM y el análisis inmunológico junto con los hallazgos reportados en nuestros estudios, pueden mejorar la precisión y la eficiencia del diagnóstico. Dada la complejidad de este tipo de lesiones se recomienda una estrategia diagnóstica multimodal para mejorar la precisión diagnóstica. Como se detalla en nuestros artículos publicados^{70,75,76}, la dermatoscopia ofrece una visión general de los patrones de pigmentación, mientras que la RCM permite una evaluación más pormenorizada de la arquitectura y morfología celular, y el análisis inmunológico aporta información crítica sobre la respuesta inmune subyacente en la lesión.

5.6 PERSPECTIVAS FUTURAS

Nuestros estudios abren posibles líneas de investigación futuras, entre ellas:

Exploración molecular del microambiente tumoral: Utilizando tecnologías avanzadas como la secuenciación de ARN (RNA-seq)⁸⁶ o la proteómica^{87,88}, se podría obtener una visión más completa de los mecanismos inmunológicos que regulan la regresión y la inflamación en estas lesiones. Los estudios de expresión single-cell permitirían también entender el comportamiento y expresión individual de las células del tumor y del microambiente.

Terapias dirigidas: Aunque los nevus de Sutton son lesiones benignas, el entendimiento de su microambiente inmunológico podría proporcionar información valiosa para desarrollar estrategias terapéuticas basadas en la estimulación eficiente del sistema inmunitario. El desarrollo de terapias basadas en la modulación del microambiente inmunológico, como el uso de anticuerpos dirigidos a estimular la respuesta antitumoral de los linfocitos T citotóxicos⁸⁹, supondrá una mejora de los resultados en pacientes con melanoma. Recientes hallazgos prometedores de Cho et al. sugieren que un compuesto llamado Celastrol exhibe una eficacia significativa para inhibir el crecimiento tumoral en melanoma⁸¹. Este efecto se logra bloqueando la unión entre IL-2 y CD25, mejorando así la actividad antitumoral de las células T. Esto podría ser muy prometedor, especialmente en combinación con otras terapias dirigidas para melanomas avanzados^{90,91}. También son enfoques emergentes en la inmunoterapia del melanoma aquellos anticuerpos bispecíficos diseñados para dirigir las células T citotóxicas hacia las células tumorales que expresan PRAME (Preferentially Expressed Antigen in Melanoma)⁹². Su sobreexpresión aberrante en varios tipos de cáncer, especialmente en el melanoma cutáneo, se asocia con fenotipos tumorales más agresivos, lo que lo posiciona como un marcador tanto diagnóstico como pronóstico. Un ejemplo de ello sería Tebentafusp, tratamiento aprobado para pacientes adultos que son positivos para HLA-A*02:01 y que padecen melanoma uveal no resecable o metastásico. Consiste en una molécula biespecífica del receptor de células T dirigida a la glicoproteína 100 y al CD3. Esta unión activa las células T policlonales para liberar citocinas inflamatorias y proteínas citolíticas, resultando en la lisis directa de las células tumorales^{93,94,95}.

Validación clínica y diagnóstico diferencial mejorado: La inclusión de marcadores inmunohistoquímicos como CD3, CD4, CD8, FOXP3, CD25 y PD1 en el análisis rutinario de lesiones melanocíticas podría ayudar a la diferenciación entre nevus de Sutton y melanomas con regresión. El estudio del perfil inmunológico de los tumores melanocíticos podría ser útil en casos donde las características morfológicas se superponen, lo que dificulta la distinción entre melanoma con regresión y nevus de Sutton.

Sin embargo, nuestros resultados no permiten extrapolar la utilidad del inmunofenotipo de la inflamación para diferenciar el melanoma de las lesiones melanocíticas con regresión. Es esencial validar y reproducir estos hallazgos también en nevus con atipia y regresión, sin ser clásico Sutton, y ampliar estudios prospectivos multicéntricos que evalúen la utilidad de los marcadores inmunológicos en el diagnóstico diferencial.

Nuevas técnicas de imagen: En los últimos años, ha surgido una tendencia hacia el uso de técnicas de imagen multimodal, que combinan la dermatoscopia, la microscopía confocal (RCM) o la tomografía de coherencia óptica (OCT)⁹⁶. En concreto el Line-field confocal optical coherence tomography (LC-OCT)^{97,98,99,100,101} es una técnica de imagen avanzada que combina la tomografía de coherencia óptica (OCT) con la microscopía confocal (RCM) para obtener una visión más completa de las lesiones melanocíticas ya que proporciona imágenes de alta resolución en 3D con resolución celular cercana al RCM pero con profundidad hasta dermis reticular. La integración de estas técnicas de imagen multimodal, junto con la inteligencia artificial (IA) promete mejorar la precisión del diagnóstico. El desarrollo de algoritmos de IA para analizar imágenes dermatoscópicas y confocales representa una oportunidad para abordar las dificultades diagnósticas asociadas con las lesiones melanocíticas atípicas. Estos algoritmos necesitarán entrenarse para identificar patrones de regresión o inflamación.

CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

1. El nevus de Sutton puede presentar características dermatoscópicas y de microscopía confocal que son similares a las de un melanoma incipiente.
2. La precisión diagnóstica de la microscopía confocal de reflectancia en lesiones melanocíticas inflamadas es limitada, incluso en manos expertas, por lo que debe considerarse un posible falso positivo.
3. La combinación de la presentación clínica, dermatoscopia y microscopía confocal es fundamental para una evaluación y diagnóstico precisos del nevus de Sutton.
4. La identificación dermatoscópica de un halo blanco simétrico y un patrón de regresión periférico o global respalda el diagnóstico de nevus de Sutton.
5. El análisis de la unión dermoepidérmica mediante microscopía confocal es crucial en el diagnóstico diferencial entre nevus de Sutton y melanoma. La presencia de más del 10% de engrosamientos de la unión dermoepidérmica, más del 10% de papilas mal definidas y células basales atípicas (dendríticas o redondeadas) es sugestiva de melanoma.
6. Existen diferencias cuantitativas y cualitativas en la respuesta inmunológica entre los nevus de Sutton y los melanomas con regresión. Los nevus de Sutton se caracterizan por un infiltrado citotóxico denso y una marcada positividad de los mecanismos inmunoreguladores.

BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Steffen C, Thomas D. The man behind the eponyms: Richard L Sutton: periadenitis mucosa necrotica recurrens (Sutton's ulcer) and leukoderma acquisitum centrifugum-Sutton's (halo) nevus. *Am J Dermatopathol*. 2003 Aug;25(4):349-54.
2. Kolm I, Di Stefani A, Hofmann-Wellenhof R, Fink-Puches R, Wolf IH, Richtig E, et al. Dermoscopy patterns of halo nevi. *Arch Dermatol*. 2006;142(12):1627-32.
3. Brooks C, Scope A, Braun RP, Marghoob AA. Dermoscopy of nevi and melanoma in childhood. *Expert Rev Dermatol*. 2011 Feb 1;6(1):19-34.
4. Calderón-Castrat X, Conde-Ferreirós A, Yuste-Chaves M, Santos-Briz A. La bandera roja: fenómeno de Meyerson en el melanoma maligno. *Actas Dermo-Sifiliográficas*. 2021 Mar 1;112(3):259-60.
5. Elenitsas R, Halpern AC. Eczematous halo reaction in atypical nevi. *J Am Acad Dermatol*. 1996 Feb;34(2 Pt 2):357-61.
6. Oliveira A, Arzberger E, Massone C, Fink-Puches R, Zalaudek I, Hofmann-Wellenhof R. Dermoscopy, reflectance confocal microscopy and immunohistochemical analysis in melanocytic lesions with Meyerson's phenomenon. *Dermatol Basel Switz*. 2014;229(4):297-305.
7. Fernández-Sartorio C, Alós L, García-Herrera A, Ferrando J, Carrera C. Multiple primary melanoma with the Meyerson phenomenon in a young patient. *Melanoma Res*. 2019 Jun;29(3):325-7.
8. Carrera C, Marghoob AA. Discriminating Nevi from Melanomas. *Dermatol Clin*. 2016 Oct;34(4):395-409.
9. Carrera C, Puig-Butill JA, Aguilera P, Ogbah Z, Palou J, Lecha M, et al. Impact of Sunscreens on Preventing UVR-Induced Effects in Nevi: In Vivo Study Comparing Protection Using a Physical Barrier vs Sunscreen. *JAMA Dermatol*. 2013 Jul 1;149(7):803.
10. Moreno S, Maiques O, Gatiús S, Veà A, Barrera J, Barcelo C, et al. Descriptive study of naevus involution in a series of 74 patients with atypical naevus syndrome under SIAscopy digital follow-up. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*. 2020 Jun;34(6):1210-7.
11. Schiferle EB, Cheon SY, Ham S, Son HG, Messerschmidt JL, Lawrence DP, et al. Rejection of benign melanocytic nevi by nevus-resident CD4⁺ T cells. *Sci Adv*. 2021 Jun;7(26):eabg4498.
12. Chen FW, Tseng D, Reddy S, Daud AI, Swetter SM. Involution of eruptive melanocytic nevi on combination BRAF and MEK inhibitor therapy. *JAMA Dermatol*. 2014 Nov;150(11):1209-12.

13. Farinazzo E, Zelin E, Agozzino M, Papa G, Pizzichetta MA, di Meo N, et al. Regression of nevi, vitiligo-like depigmentation and halo phenomenon may indicate response to immunotherapy and targeted therapy in melanoma. *Melanoma Res.* 2021 Dec 1;31(6):582–5.
14. D’Orazio J, Jarrett S, Amaro-Ortiz A, Scott T. UV radiation and the skin. *Int J Mol Sci.* 2013 Jun 7;14(6):12222–48.
15. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Picconi O, Boyle P, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. 2005 Jan;41(1):45–60.
16. Lauters R, Brown AD, Harrington KCA. Melanoma: Diagnosis and Treatment. *Am Fam Physician.* 2024 Oct;110(4):367–77.
17. Read J, Wadt KAW, Hayward NK. Melanoma genetics. *J Med Genet.* 2016 Jan;53(1):1–14.
18. Podlipnik S, Potrony M, Puig S. Genetic markers for characterization and prediction of prognosis of melanoma subtypes: a 2021 update. *Ital J Dermatol Venereol.* 2021 Jun;156(3):322–30.
19. Melanoma of the Skin - Cancer Stat Facts [Internet]. SEER. [cited 2024 Nov 23]. Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/melan.html>
20. Huang J, Chan SC, Ko S, Lok V, Zhang L, Lin X, et al. Global Incidence, Mortality, Risk Factors and Trends of Melanoma: A Systematic Analysis of Registries. *Am J Clin Dermatol.* 2023 Nov;24(6):965–75.
21. Waseh S, Lee JB. Advances in melanoma: epidemiology, diagnosis, and prognosis. *Front Med.* 2023;10:1268479.
22. Curti BD, Faries MB. Recent Advances in the Treatment of Melanoma. *N Engl J Med.* 2021 Jun 10;384(23):2229–40.
23. Podlipnik S, Carrera C, Boada A, Richarz N, Marcoval J, Ferreres JR, et al. Incidence of Melanoma in Catalonia, Spain, Is Rapidly Increasing in the Elderly Population. A Multicentric Cohort Study. *J Clin Med.* 2020 Oct 23;9(11):3396.
24. Marcos-Gragera R, Vilar-Coromina N, Galceran J, Borràs J, Clèries R, Ribes J, et al. Rising trends in incidence of cutaneous malignant melanoma and their future projections in Catalonia, Spain: increasing impact or future epidemic? *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV.* 2010 Sep;24(9):1083–8.
25. Swetter SM, Tsao H, Bichakjian CK, Curiel-Lewandrowski C, Elder DE, Gershenwald JE, et al. Guidelines of care for the management of primary cutaneous melanoma. *J Am Acad Dermatol.* 2019 Jan;80(1):208–50.
26. Scolyer RA, Judge MJ, Evans A, Frishberg DP, Prieto VG, Thompson JF, et al.

Data set for pathology reporting of cutaneous invasive melanoma: recommendations from the international collaboration on cancer reporting (ICCR). *Am J Surg Pathol*. 2013 Dec;37(12):1797–814.

27. Isaksson K, Mikiver R, Eriksson H, Lapins J, Nielsen K, Ingvar C, et al. Survival in 31 670 patients with thin melanomas: a Swedish population-based study. *Br J Dermatol*. 2021 Jan;184(1):60–7.

28. Keung EZ, Gershenwald JE. The eighth edition American Joint Committee on Cancer (AJCC) melanoma staging system: implications for melanoma treatment and care. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2018 Aug;18(8):775–84.

29. Gershenwald JE, Scolyer RA, Hess KR, Sondak VK, Long GV, Ross MI, et al. Melanoma staging: Evidence-based changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin*. 2017 Nov;67(6):472–92.

30. Cañueto J, Román-Curto C. Los nuevos sistemas de estadificación del AJCC incorporan novedades en el cáncer cutáneo. *Actas Dermo-Sifiliográficas*. 2017 Nov 1;108(9):818–26.

31. Long GV, Swetter SM, Menzies AM, Gershenwald JE, Scolyer RA. Cutaneous melanoma. *Lancet Lond Engl*. 2023 Aug 5;402(10400):485–502.

32. Boussiotis VA. Molecular and Biochemical Aspects of the PD-1 Checkpoint Pathway. *N Engl J Med*. 2016 Nov 3;375(18):1767–78.

33. Carlino MS, Larkin J, Long GV. Immune checkpoint inhibitors in melanoma. *Lancet Lond Engl*. 2021 Sep 11;398(10304):1002–14.

34. Rager T, Eckburg A, Patel M, Qiu R, Gantiwala S, Dovalovsky K, et al. Treatment of Metastatic Melanoma with a Combination of Immunotherapies and Molecularly Targeted Therapies. *Cancers*. 2022 Aug 3;14(15):3779.

35. Li Y, Ju M, Miao Y, Zhao L, Xing L, Wei M. Advancement of anti-LAG-3 in cancer therapy. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 2023 Nov;37(11):e23236.

36. Willsmore ZN, Coumbe BGT, Crescioli S, Reci S, Gupta A, Harris RJ, et al. Combined anti-PD-1 and anti-CTLA-4 checkpoint blockade: Treatment of melanoma and immune mechanisms of action. *Eur J Immunol*. 2021 Mar;51(3):544–56.

37. van Akkooi ACJ, Hieken TJ, Burton EM, Ariyan C, Ascierto PA, Asero SVMA, et al. Correction to: Neoadjuvant Systemic Therapy (NAST) in Patients with Melanoma: Surgical Considerations by the International Neoadjuvant Melanoma Consortium (INMC). *Ann Surg Oncol*. 2022 Aug;29(8):5241–2.

38. Patel SP, Othus M, Chen Y, Wright GP, Yost KJ, Hyngstrom JR, et al. Neoadjuvant-Adjuvant or Adjuvant-Only Pembrolizumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med*. 2023 Mar 2;388(9):813–23.

39. Petrova V, Arkhypov I, Weber R, Groth C, Altevogt P, Utikal J, et al. Modern Aspects of Immunotherapy with Checkpoint Inhibitors in Melanoma. *Int J Mol Sci*. 2020 Mar 30;21(7):2367.
40. Malvehy J, Braun RP, Puig S, Marghoob AA, Kopf AW. *Handbook of Dermoscopy*. CRC Press; 2006. 106 p.
41. Yélamos O, Braun RP, Liopyris K, Wolner ZJ, Kerl K, Gerami P, et al. Usefulness of dermoscopy to improve the clinical and histopathologic diagnosis of skin cancers. *J Am Acad Dermatol*. 2019 Feb;80(2):365–77.
42. Dinnes J, Deeks JJ, Chuchu N, Ferrante di Ruffano L, Matin RN, Thomson DR, et al. Dermoscopy, with and without visual inspection, for diagnosing melanoma in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018 Dec 4;12(12):CD011902.
43. Vestergaard ME, Macaskill P, Holt PE, Menzies SW. Dermoscopy compared with naked eye examination for the diagnosis of primary melanoma: a meta-analysis of studies performed in a clinical setting. *Br J Dermatol*. 2008 Sep;159(3):669–76.
44. Williams NM, Rojas KD, Reynolds JM, Kwon D, Shum-Tien J, Jaimes N. Assessment of Diagnostic Accuracy of Dermoscopic Structures and Patterns Used in Melanoma Detection: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Dermatol*. 2021 Sep 1;157(9):1078–88.
45. Argenziano G, Catricalà C, Ardigo M, Buccini P, De Simone P, Eibenschutz L, et al. Seven-point checklist of dermoscopy revisited. *Br J Dermatol*. 2011 Apr;164(4):785–90.
46. Haenssle HA, Korpas B, Hansen-Hagge C, Buhl T, Kaune KM, Rosenberger A, et al. Seven-point checklist for dermatoscopy: performance during 10 years of prospective surveillance of patients at increased melanoma risk. *J Am Acad Dermatol*. 2010 May;62(5):785–93.
47. Carrera C, Marchetti MA, Dusza SW, Argenziano G, Braun RP, Halpern AC, et al. Validity and Reliability of Dermoscopic Criteria Used to Differentiate Nevi From Melanoma: A Web-Based International Dermoscopy Society Study. *JAMA Dermatol*. 2016 Jul 1;152(7):798–806.
48. Zalaudek I, Argenziano G, Ferrara G, Soyer HP, Corona R, Sera F, et al. Clinically equivocal melanocytic skin lesions with features of regression: a dermoscopic-pathological study. *Br J Dermatol*. 2004 Jan;150(1):64–71.
49. Lovatto L, Carrera C, Salerni G, Alós L, Malvehy J, Puig S. *In vivo* reflectance confocal microscopy of equivocal melanocytic lesions detected by digital dermoscopy follow-up. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015 Oct;29(10):1918–25.
50. Pellacani G, Longo C, Malvehy J, Puig S, Carrera C, Segura S, et al. *In vivo* confocal microscopic and histopathologic correlations of dermoscopic features in 202 melanocytic lesions. *Arch Dermatol*. 2008;144(12):1597–608.

51. Grant-Kels JM, Pellacani G, Longo C. Confocal Microscopy, An Issue of Dermatologic Clinics, E-Book. Elsevier Health Sciences; 2016. 251 p.
52. Pellacani G, Guitera P, Longo C, Avramidis M, Seidenari S, Menzies S. The impact of in vivo reflectance confocal microscopy for the diagnostic accuracy of melanoma and equivocal melanocytic lesions. *J Invest Dermatol.* 2007;127(12):2759–65.
53. Segura S, Puig S, Carrera C, Palou J, Malvehy J. Development of a two-step method for the diagnosis of melanoma by reflectance confocal microscopy. *J Am Acad Dermatol.* 2009 Aug;61(2):216–29.
54. Schwartz RJ, Vera K, Navarrete N, Lobos P. In Vivo Reflectance Confocal Microscopy of Halo Nevus. *J Cutan Med Surg.* 2013 Jan 1;17(1):33–8.
55. Salerni G, Carrera C, Lovatto L, Puig-Butille JA, Badenas C, Plana E, et al. Benefits of total body photography and digital dermatoscopy (“two-step method of digital follow-up”) in the early diagnosis of melanoma in patients at high risk for melanoma. *J Am Acad Dermatol.* 2012 Jul;67(1):e17-27.
56. Salerni G, Carrera C, Lovatto L, Martí-Laborda RM, Isern G, Palou J, et al. Characterization of 1152 lesions excised over 10 years using total-body photography and digital dermatoscopy in the surveillance of patients at high risk for melanoma. *J Am Acad Dermatol.* 2012 Nov;67(5):836–45.
57. Nazzaro G, Maronese CA, Casazza G, Giacalone S, Spigariolo CB, Roccuzzo G, et al. Dermoscopic predictors of melanoma in small diameter melanocytic lesions (mini-melanoma): a retrospective multicentric study of 269 cases. *Int J Dermatol.* 2023 Aug;62(8):1040–9.
58. Brenn T. Pitfalls in the evaluation of melanocytic lesions: Challenging benign melanocytic proliferations. *Histopathology.* 2012 Apr;60(5):690–705.
59. Volpe VO, Klufas DM, Hegde U, Grant-Kels JM. The new paradigm of systemic therapies for metastatic melanoma. *J Am Acad Dermatol.* 2017 Aug;77(2):356–68.
60. Cavallo F, Roccuzzo G, Avallone G, Conforti C, Zalaudek I, Giordano S, et al. Extensive “halo naevi” phenomenon and regression of melanin during nivolumab treatment in metastatic melanoma: A predictor of a better outcome? *Dermatol Ther.* 2022 Jul;35(7):e15559.
61. El Sharouni MA, Aivazian K, Witkamp AJ, Sigurdsson V, van Gils CH, Scolyer RA, et al. Association of Histologic Regression With a Favorable Outcome in Patients With Stage 1 and Stage 2 Cutaneous Melanoma. *JAMA Dermatol.* 2021 Feb 1;157(2):166–73.
62. Requena C, Botella-Estrada R, Traves V, Nagore E, Almenar S, Guillén C. [Problems in defining melanoma regression and prognostic implication]. *Actas Dermosifiliogr.* 2009 Nov;100(9):759–66.

63. Botella-Estrada R, Kutzner H. Study of the immunophenotype of the inflammatory cells in melanomas with regression and halo nevi. *Am J Dermatopathol*. 2015 May;37(5):376–80.
64. Osella-Abate S, Conti L, Annaratone L, Senetta R, Bertero L, Licciardello M, et al. Phenotypic characterisation of immune cells associated with histological regression in cutaneous melanoma. *Pathology (Phila)*. 2019 Aug;51(5):487–93.
65. Ribero S, Osella-Abate S, Sanlorenzo M, Savoia P, Astrua C, Cavaliere G, et al. Favourable prognostic role of regression of primary melanoma in AJCC stage I-II patients. *Br J Dermatol*. 2013 Dec;169(6):1240–5.
66. Ribero S, Moscarella E, Ferrara G, Piana S, Argenziano G, Longo C. Regression in cutaneous melanoma: a comprehensive review from diagnosis to prognosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016 Dec;30(12):2030–7.
67. Maibach F, Sadozai H, Seyed Jafari SM, Hunger RE, Schenk M. Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Their Prognostic Value in Cutaneous Melanoma. *Front Immunol*. 2020 Sep 10;11:2105.
68. Nedelcu RI, Zurac SA, Brînzea A, Cioplea MD, Turcu G, Popescu R, et al. Morphological features of melanocytic tumors with depigmented halo: review of the literature and personal results. *Romanian J Morphol Embryol Rev Roum Morphol Embryol*. 2015;56(2 Suppl):659–63.
69. Moysset I, Fuster-Anglada C, Castillo P, Teixido C, Garcia-Herrera A, Marginet M, et al. Immunophenotype of tumor-infiltrating lymphocytes in atypical Spitzoid tumors according to the risk of progression. *Ann Diagn Pathol*. 2022 Oct;60:151985.
70. Brugués A, Ribero S, Martins da Silva V, Aguilera P, Garcia AP, Alós L, et al. Sutton Naevi as Melanoma Simulators: Can Confocal Microscopy Help in the Diagnosis? *Acta Derm Venereol*. 2020 May 11;100(10):adv00134.
71. Yélamos O, Manubens E, Jain M, Chavez-Bourgeois M, Pulijal SV, Dusza SW, et al. Improvement of diagnostic confidence and management of equivocal skin lesions by integration of reflectance confocal microscopy in daily practice: Prospective study in 2 referral skin cancer centers. *J Am Acad Dermatol*. 2020 Oct;83(4):1057–63.
72. Speeckaert R, van Geel N, Vermaelen KV, Lambert J, Van Gele M, Speeckaert MM, et al. Immune reactions in benign and malignant melanocytic lesions: lessons for immunotherapy: Immune reactions in melanocytic lesions. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2011 Apr;24(2):334–44.
73. Larre Borges A, Zalaudek I, Longo C, Dufrechou L, Argenziano G, Lallas A, et al. Melanocytic nevi with special features: clinical-dermoscopic and reflectance confocal microscopic-findings. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2014 Jul;28(7):833–45.
74. Brugués A, Ribero S, Martins da Silva V, Aguilera P, Garcia AP, Alós L, et al. Sutton Naevi as Melanoma Simulators: Can Confocal Microscopy Help in the

Diagnosis? *Acta Derm Venereol.* 2020 May 11;100(10)

75. Brugués A, Ribero S, Barreiro A, Bassoli S, García AP, Longo C, et al. Sutton's naevi as a pitfall for reflectance confocal microscopy: marked inflamed naevi could not be suitable for teleconfocal examination. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV.* 2021 Oct;35(10):e688–90.

76. Brugués A, Ribero S, Pastorino C, Iglesias P, García A, Alós L, et al. Challenging pigmented lesions in melanoma patients during checkpoint-inhibitors therapy. *Melanoma Res.* 2022 Oct 1;32(5):388–90.

77. Wolner ZJ, Marghoob AA, Pulitzer MP, Postow MA, Marchetti MA. A case report of disappearing pigmented skin lesions associated with pembrolizumab treatment for metastatic melanoma. *Br J Dermatol.* 2018 Jan;178(1):265–9.

78. Nicolétis-Lombart I, Kervarrec T, Zaragoza J, Machet MC, Samimi M. Multiple “halo nevi” occurring during pembrolizumab treatment for metastatic melanoma. *Int J Dermatol.* 2019 Jun;58(6):739–41.

79. Debarbieux S, Dalle S, Depaepe L, Poulalhon N, Balme B, Thomas L. Second primary melanomas treated with BRAF blockers: study by reflectance confocal microscopy. *Br J Dermatol.* 2013 Jun;168(6):1230–5.

80. Ribero S, Marra E, Tomasini CF, Fierro MT, Bombonato C, Longo C. Confocal microscopy and dermoscopy for the monitoring of BRAF inhibitor therapy of melanoma skin metastases. *Br J Dermatol.* 2017 Apr;176(4):1101–1102.

81. Cho O, Lee JW, Jeong YJ, Kim LK, Jung BK, Heo TH. Celastrol, which targets IL-2/CD25 binding inhibition, induces T cell-mediated antitumor activity in melanoma. *Eur J Pharmacol.* 2024 Jan 5;962:176239.

82. Mourmouras V, Fimiani M, Rubegni P, Epistolato MC, Malagnino V, Cardone C, et al. Evaluation of tumour-infiltrating CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells in human cutaneous benign and atypical naevi, melanomas and melanoma metastases. *Br J Dermatol.* 2007 Sep;157(3):531–9.

83. Franco-Molina MA, Miranda-Hernández DF, Mendoza-Gamboa E, Zapata-Benavides P, Coronado-Cerda EE, Sierra-Rivera CA, et al. Silencing of Foxp3 delays the growth of murine melanomas and modifies the tumor immunosuppressive environment. *OncoTargets Ther.* 2016;9:243–53.

84. Balatoni T, Mohos A, Papp E, Sebestyén T, Liskay G, Oláh J, et al. Tumor-infiltrating immune cells as potential biomarkers predicting response to treatment and survival in patients with metastatic melanoma receiving ipilimumab therapy. *Cancer Immunol Immunother CII.* 2018 Jan;67(1):141–51.

85. Nedelcu R, Dobre A, Brinzea A, Hulea I, Andrei R, Zurac S, et al. Current Challenges in Deciphering Sutton Nevi-Literature Review and Personal Experience. *J Pers Med.* 2021 Sep 9;11(9):904.

86. Kunz M, Löffler-Wirth H, Dannemann M, Willscher E, Doose G, Kelso J, et al. RNA-seq analysis identifies different transcriptomic types and developmental trajectories of primary melanomas. *Oncogene*. 2018 Nov;37(47):6136–51.
87. Konstantakou EG, Velentzas AD, Anagnostopoulos AK, Litou ZI, Konstandi OA, Giannopoulou AF, et al. Deep-proteome mapping of WM-266-4 human metastatic melanoma cells: From oncogenic addiction to druggable targets. *PloS One*. 2017;12(2):e0171512.
88. Naimy S, Sølberg JBK, Kuczek DE, Løvendorf MB, Bzorek M, Litman T, et al. Comparative Quantitative Proteomic Analysis of Melanoma Subtypes, Nevus-Associated Melanoma, and Corresponding Nevi. *J Invest Dermatol*. 2024 Jul;144(7):1608-1621.e4.
89. Melero I, Hirschhorn-Cymerman D, Morales-Kastresana A, Sanmamed MF, Wolchok JD. Agonist antibodies to TNFR molecules that costimulate T and NK cells. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2013 Mar 1;19(5):1044–53.
90. Roccuzzo G, Bongiovanni E, Tonella L, Pala V, Marchisio S, Ricci A, et al. Emerging prognostic biomarkers in advanced cutaneous melanoma: a literature update. *Expert Rev Mol Diagn*. 2024;24(1–2):49–66.
91. Roccuzzo G, Sarda C, Pala V, Ribero S, Quaglino P. Prognostic biomarkers in melanoma: a 2023 update from clinical trials in different therapeutic scenarios. *Expert Rev Mol Diagn*. 2024 May;24(5):379–92.
92. Reschke R, Enk AH, Hassel JC. T Cell-Engaging Bispecific Antibodies Targeting gp100 and PRAME: Expanding Application from Uveal Melanoma to Cutaneous Melanoma. *Pharmaceutics*. 2024 Aug 6;16(8):1046.
93. Dhillon S. Tebentafusp: First Approval. *Drugs*. 2022 Apr;82(6):703–10.
94. Hassel JC, Piperno-Neumann S, Rutkowski P, Baurain JF, Schlaak M, Butler MO, et al. Three-Year Overall Survival with Tebentafusp in Metastatic Uveal Melanoma. *N Engl J Med*. 2023 Dec 14;389(24):2256–66.
95. Nathan P, Hassel JC, Rutkowski P, Baurain JF, Butler MO, Schlaak M, et al. Overall Survival Benefit with Tebentafusp in Metastatic Uveal Melanoma. *N Engl J Med*. 2021 Sep 23;385(13):1196–206.
96. Gambichler T, Regeniter P, Bechara FG, Orlikov A, Vasa R, Moussa G, et al. Characterization of benign and malignant melanocytic skin lesions using optical coherence tomography in vivo. *J Am Acad Dermatol*. 2007 Oct;57(4):629–37.
97. Dubois A, Xue W, Levecq O, Bulkin P, Coutrot AL, Ogien J. Mirau-based line-field confocal optical coherence tomography. *Opt Express*. 2020 Mar 16;28(6):7918–27.
98. Harris U, Rajadhyaksha M, Jain M. Combining Reflectance Confocal Microscopy with Optical Coherence Tomography for Noninvasive Diagnosis of Skin

Cancers via Image Acquisition. *J Vis Exp JoVE*. 2022 Aug 18;(186).

99. Schuh S, Ruini C, Perwein MKE, Daxenberger F, Gust C, Sattler EC, et al. Line-Field Confocal Optical Coherence Tomography: A New Tool for the Differentiation between Nevi and Melanomas? *Cancers*. 2022 Feb 23;14(5):1140.

100. Perez-Anker J, Soglia S, Lenoir C, Albero R, Alos L, García A, et al. Criteria for melanocytic lesions in LC-OCT. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*. 2024 Oct;38(10):2005–16.

101. Perez-Anker J, Puig S, Alos L, García A, Alejo B, Cinotti E, et al. Morphological evaluation of melanocytic lesions with three-dimensional line-field confocal optical coherence tomography: correlation with histopathology and reflectance confocal microscopy. A pilot study. *Clin Exp Dermatol*. 2022 Dec;47(12):2222–33.