

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA DE POSGRADO DE ESPECIALIDADES MEDICAS**

**“APLICACIÓN DEL INFILTRADO LINFOCÍTICO INTRATUMORAL EN BASE A LOCALIZACIÓN EN PACIENTES CON MELANOMA, AÑO 2018-2023”**



**Presentado por:**

**Dra. Andrea Noemy Anaya de Barahona.**

**Para optar al Título de Especialista en:**

**ESPECIALIDAD MEDICA EN ANATOMÍA PATOLÓGICA.**

**Asesor metodológico**

**Dr. Giovanni Arnoldo Molina Paredes.**

**Ciudad Universitaria, “Dr. Fabio Castillo Figueroa” El Salvador, mayo 2025**

**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD**

**Rector**

**M.s.C. Juan José Rosa Quintanilla**

**Vicerrector Académico**

**Dra. Evelyn Beatriz Farfán**

**Vicerrector Administrativo**

**M.s.C. Roger Arias**

**Secretario General**

**Lic. Pedro Rosalío Escobar Castaneda**

## **AUTORIDADES DE LA FACULTAD**

**Decano**

**Dr. Saúl Díaz Peña**

**Vicedecano**

**Lic. Franklin Arnulfo Mendéz Durán**

**Secretario**

**Msp. Roberto Carlos Hernández Marroquín**

**Director de Escuela**

**Dr. Edward Alexander Herrera Rodríguez**

**Contenido**

1	<b>Resumen</b> .....	<b>IV</b>
2	<b>Introducción</b> .....	<b>5</b>
3	<b>Objetivo general</b> .....	<b>10</b>
4	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>10</b>
5	<b>Métodos</b> .....	<b>11</b>
6	<b>Resultados</b> .....	<b>16</b>
7	<b>Discusión</b> .....	<b>19</b>
8	<b>Financiamiento</b> .....	<b>20</b>
9	<b>Fuentes de información</b> .....	<b>21</b>
10	<b>Anexos</b> .....	<b>24</b>

## **Resumen**

El infiltrado linfocítico intratumoral es un hallazgo histológico que representa un factor pronóstico en la evolución clínica y sobrevida de los pacientes con diagnóstico de melanoma. Dentro de esta investigación se identificó el estimado de infiltrado linfocítico intratumoral en pacientes con diagnóstico histopatológico de melanoma, utilizando el Sistema de Clark, que clasifica la presencia de infiltrado linfocítico como: intenso, no intenso o ausente, mediante la evaluación de láminas teñidas con hematoxilina eosina de pacientes previamente diagnosticados con melanoma.

Dentro de los resultados se encontró que de acuerdo a la presencia de infiltrado linfocítico intramural, el 48,8% corresponde a no intenso, 12% intenso y 39,2% ausente. La edad media encontrada al aplicar estadística descriptiva es de: 63.63 años, y la moda de: 63 años y la mediana: 63 años. En relación a la edad de los participantes se encontró que el 60% corresponde al sexo femenino y el 40% al masculino. Con lo anterior se pretende unificar los hallazgos histopatológicos dentro del Departamento de Patología del Instituto Salvadoreño del Seguro Social proporcionando de esta forma información complementaria al personal para los reportes histopatológicos. Lo cual sirve en gran medida para predecir el comportamiento clínico y pronóstico de dichos pacientes, ayudando de esta forma al médico tratante a tomar mejores decisiones en el diagnóstico y tratamiento.

## Introducción

### Contexto

Descrito por primera vez por Robert Virchow en 1863, inicialmente se pensó que los leucocitos que se encuentran dentro de los tumores eran las células de origen de los cánceres que surgían en sitios de inflamación crónica(1,2).

Los primeros estudios parecían sugerir que estos leucocitos propagaban el crecimiento tumoral a través de procesos inflamatorios protumorigénicos. Sin embargo, no pasó mucho tiempo antes de que se reconociera que estas células inmunitarias a menudo se reclutaban como un mecanismo de defensa contra el tumor y que su presencia frecuentemente se correlacionaba con un pronóstico favorable en pacientes con melanoma y otros tumores sólidos, como el de ovario y el colorrectal(1,2).

En 1969, Wallace Clark aplicó el término 'linfocitos infiltrantes de tumores' (TIL por sus siglas en inglés Tumor Infiltrating Lymphocytes) para referirse a estas células inmunes desplegadas como parte de la respuesta del huésped al cáncer. Para ser considerados TIL, los linfocitos deben estar en contacto directo con células tumorales (RGP) y/o infiltran nidos tumorales. En el melanoma, Clark y Mihm informaron que los TIL se reclutaron en la fase de crecimiento radial (RGP) y condujeron a una regresión parcial del tumor primario(1,3).

De acuerdo con estos hallazgos, los estudios in vitro de Hersey demostraron actividad citolítica de estos linfocitos contra tumores autólogos en pacientes con melanoma(1,3).

Estudios adicionales que respaldan el beneficio de los TIL revelaron que su presencia en la fase de crecimiento vertical invasivo (VGP por sus siglas en inglés) de los melanomas primarios se asoció con una mayor supervivencia y una disminución del riesgo de metástasis. Además, la presencia de TIL en las lesiones metastásicas también parecían tener un beneficio similar. Los pacientes con un infiltrado de células T más intenso en las metástasis de los ganglios linfáticos mejoraron las tasas de supervivencia en comparación con aquellos con respuestas TIL menos reactivas. en la regresión tumoral en pacientes con melanoma metastásico(1,2,3).

En los últimos años, se han identificado TIL en el tumor primario, los ganglios linfáticos portadores del tumor y las metástasis viscerales de numerosos tipos de cáncer. Dada su naturaleza omnipresente en una amplia colección de cánceres junto con sus capacidades antitumorales y sus funciones potenciales como indicadores de pronóstico, que se analizarán con más detalle a continuación, los TIL han recibido una atención muy merecida entre los investigadores del cáncer como objetivos principales para la inmunoterapia contra el cáncer. Sin embargo, los TIL son un grupo heterogéneo compuesto no solo por células T efectoras, sino también por células tolerogénicas o T reguladoras (Treg), células T funcionalmente agotadas, células asesinas naturales (NK), macrófagos, células dendríticas (DC), derivados mieloides células supresoras (MDSC) y otros tipos de células inmunitarias. Por lo tanto, una mejor comprensión del fenotipo y la función de TIL

en el contexto de factores inducidos por tumores y otros dentro del microambiente tumoral (TME) es crucial para ayudar a la invención de medicamentos innovadores e identificar a los pacientes con mayor probabilidad de responder a la terapia(1).

#### Clasificación de los TIL en el melanoma maligno.

La evaluación del papel de los TIL en el pronóstico y la terapia del melanoma primero requirió el establecimiento de un sistema graduado que clasifica la naturaleza y el alcance de la participación de los TIL dentro de un tumor. En 1989, Clark et al. presentaron el primer sistema de clasificación completo que definía distintos patrones de infiltrado linfocítico en los melanomas (Ver fig. 1 en anexos). Clasificaron los TIL como 'ausentes' cuando no había linfocitos presentes o cuando los linfocitos no se unían a las células de melanoma. 'No intenso' describía un infiltrado focal de TIL, mientras que 'intenso' describía un infiltrado en la base VGP del tumor o una infiltración difusa de todo el VGP de la lesión de melanoma. Clemente et al. profundizaron en estas definiciones y propusieron que los dos patrones principales de un infiltrado "intenso" se denominen apropiadamente "periférico" y "difuso", respectivamente (Ver fig. 1ª en anexos). Hicieron hincapié en que el término "intenso" se aplicaba específicamente a situaciones en las que los linfocitos se interponían de forma difusa entre las células tumorales, rodeándolas y interrumpiéndolas, con evidencia de necrosis de las células de melanoma circundantes. Clemente et al. también definió un patrón 'no intenso' para incluir un infiltrado linfocítico multifocal en parches en todo el VGP y un infiltrado que ocupa de un tercio a la mitad de la base del VGP (Ver fig. 1B en anexo). Además, los patrones como una banda densa de infiltración alrededor del VGP pero no dentro del tumor, un infiltrado linfocítico perivascular o un infiltrado linfocítico confinado a áreas de fibrosis, deben recibir un grado de "ausente" (1,3,4).

Recientemente, el melanoma institute australia (MIA) propuso un nuevo sistema de calificación para TIL que consta de grado 0 a grado 3, en función de su densidad (leve, moderada o marcada) y distribución (focal, multifocal o difusa) en la dermis (tabla 1). El grado 0 describió la ausencia de TIL; el grado 1 consistió en un infiltrado focal leve o moderado o multifocal leve; el grado 2 describió un infiltrado focal marcado, un multifocal moderado o marcado o un infiltrado difuso leve; y grado 3 un infiltrado linfocitario difuso moderado o marcado (1). (Ver tabla 1 en anexos).

#### TIL como biomarcador predictivo y pronóstico.

La predicción precisa del pronóstico del paciente es primordial para seleccionar las terapias apropiadas y mejorar el manejo de los pacientes con melanoma. La evidencia para respaldar la presencia de TIL como un pronóstico positivo en pacientes con melanoma se ha ido acumulando constantemente. Muchos estudios se centraron tanto en la densidad de TIL como en su ubicación en relación con el tumor. En un estudio retrospectivo que incluyó a 669 pacientes con melanoma, Larsen y Grude observaron mejores tasas de supervivencia en pacientes con un denso infiltrado linfocitario visto en sus tumores primarios. Poco después, en 1981, Day et al. informaron que los pacientes con un infiltrado de linfocitos de moderado a marcado dentro de los melanomas cutáneos primarios tenían un pronóstico significativamente mejor que aquellos con TIL escasos o ausentes. Clark et al. más

tarde demostraron que la rapidez de la respuesta de TIL se correlacionó con una supervivencia libre de enfermedad y general prolongada solo en el contexto de la VGP pero no en la RGP. La tasa de supervivencia a 8 años fue del 88 % en pacientes con un infiltrado denso de linfocitos en sus melanomas, el 75% en pacientes con respuesta TIL no rápida y el 59% en pacientes con TIL ausente. De igual forma, Clemente et al. informaron una tasa de supervivencia a 5 años del 77 % en pacientes con melanoma con una respuesta rápida de TIL en comparación con el 53 % en aquellos con una respuesta no rápida y el 37 % en aquellos con ausencia de TIL. En ambos estudios, la respuesta de TIL fue un factor independiente indicador de pronóstico(1).

Por otro lado, algunos estudios no revelaron una asociación significativa entre los TIL y las tasas de supervivencia del melanoma. Esto puede estar relacionado con la inclusión predominante de melanomas delgados en el RGP, durante el cual hay poco apoyo para el papel de los TIL. en la predicción de los resultados, o a la posible clasificación errónea de los linfocitos que se encuentran en la vecindad del tumor como TIL. Sin embargo, hay estudios que han demostrado que los TIL también pueden ser un factor pronóstico significativo en el VGP de melanomas delgados de menos de 1 mm de espesor. En general, muchos de los estudios sobre TIL parecen respaldar su relevancia en el pronóstico del melanoma. Además, de los estudios antes mencionados sobre TIL en melanomas cutáneos primarios, Mihm et al. encontraron que un patrón enérgico de TIL en las metástasis de melanoma en los ganglios linfáticos se asoció de manera similar con una supervivencia libre de enfermedad mejorada a 5 años en comparación con un patrón de TIL no enérgico o ausente(1,4,5).

### Inmunobiología del infiltrado inflamatorio tumoral y escape inmunológico del melanoma.

La composición del TIL es heterogénea y engloba no solamente linfocitos T reguladores (Treg) sino otras muchas células como linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+, células natural Killer (NK), macrófagos, células dendríticas y células supresoras derivadas de la médula ósea, entre otras(5,6).

El conocimiento del fenotipo y función de estas células es imprescindible para el estudio del microambiente tumoral y los posibles tratamientos dirigidos a estos(5,6).

Todas las células nucleadas del organismo expresan moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad tipo I (MHC I). Estas proteínas están implicadas en la presentación de antígenos citosólicos a los linfocitos T, incluyendo a los linfocitos T citotóxicos. Cuando antígenos tumorales extraños son presentados en las MHC I, estas células pueden ser reconocidas y destruidas por los linfocitos T citotóxicos. Por el contrario las MHC tipo II son expresadas sólo en células presentadoras de antígenos (CPAs)(5,6).

La activación del infiltrado inflamatorio tumoral no sólo requiere de la unión de las MHC I o II al receptor de células T (TCR) sino que también necesita de la



estimulación simultánea de una señal co-estimuladora por la interacción de la célula T con la APC que lleva a la activación completa de la célula T y la expansión clonal de LT con especificidad frente a un determinado tumor. Además, la célula T puede ser regulada de forma negativa por moléculas inhibitorias denominadas “check points” o puntos de control(5,6).

Los antígenos tumorales se clasifican en 2 grupos, por un lado los antígenos específicos de tumor (AET) que solamente se expresan en las células tumorales y por otro lado los antígenos asociados al tumor (AAT) que se expresan de forma mayoritaria en las células tumorales pero que también pueden expresarse en células normales del organismo(5,6).

Los AET son “neoantígenos” con mutaciones propias que no se encuentran en el genoma normal. Estos neoantígenos en teoría tienen una mayor inmunogenicidad porque las células T que van dirigidas a estas moléculas no se ven afectadas por la tolerancia central. Estudios recientes sugieren que los neoantígenos son los responsables de las respuestas a los nuevos tratamientos inmunológicos como los anti CTLA4 o anti PD1(5,6).

#### Inmunohistoquímica (IHQ) en el TIL

Los estudios mediante IHQ para definir y cuantificar el tipo de infiltrado inflamatorio ayudan a mostrar la respuesta del paciente en la respuesta al melanoma(7-10).

Linfocitos CD69+ 91, linfocitos B CD 20+ 92 y linfocitos citotóxicos identificados mediante granzima+ 93 han demostrado correlacionarse con un incremento en la supervivencia. Al contrario, los linfocitos T reg FOXP3 + tienen un impacto negativo en la supervivencia(7-10).

A pesar de los mecanismos de nuestro sistema inmune para protegernos del cáncer, éste es capaz de progresar y lo hace a través de múltiples mecanismos que son capaces de evitar la respuesta inmunológica, entre ellos los más estudiados hasta el momento son:

- 1.-Induciendo una disfunción a las CPA que no son capaces de presentar los AET a las células T(11).
- 2.- Inhibición de la actividad de las células NK mediante la expresión de miembro D del grupo 2 de los receptores en las células NK (NKG2D)(12).
- 3.- Secreción de moléculas de señalización inhibitorias, por ejemplo citoquinas inmunosupresoras como el factor de crecimiento transformante b (TGF-b) y la prostaglandina E2 (PGE2)(13).

4.-Las propias células del melanoma pueden actuar como CPA con la capacidad de expresar MHC II en su superficie y de esta manera provocar que los LT no respondan por ausencia de co-estimulación del TCR (13).

5.-Las células del melanoma pueden expresar co-inhibidores como PD-L1 que se une a su receptor PD -1 en la célula T y de esta manera evitar la lisis celular mediada por LT(14).

6.- Disminución de la expresión de MHC I, lo cual disminuye el reconocimiento por los LTCs y las células NK (15).

7.- El melanoma puede reclutar células del sistema inmune que inducen tolerancia como células CD4+, CD25+, cels Treguladoras Foxp3+ (16).

El melanoma es un cáncer de estirpe melanocítica agresivo y, a menudo, fatal. La importancia del melanoma radica en su potencial letal y la frecuencia con la que es diagnosticado en pacientes jóvenes, observándose un aumento exponencial en las últimas décadas. Los factores pronósticos más importantes son el espesor tumoral medido en milímetros (Breslow), la presencia de ulceración y la efectación ganglionar. No obstante, existen casos cuyo comportamiento no es posible predecir basándose en los citados elementos. Numerosas variables han sido propuestas para intentar explicar estos casos, destacando, entre ellas, la presencia de infiltrados linfocitarios intratumorales.

A medida que continúan acumulándose informes que demuestran la eficacia de la modulación de la función efectora de TIL en pacientes con cáncer en etapa avanzada, se ha vuelto esencial comprender mejor la inmunobiología de TIL para mejorar aún más el resultado clínico. En nuestra institución se diagnostican alrededor de 30 casos de melanoma al año (datos obtenidos del departamento de patología) a los cuales no se les realiza la clasificación del Sistema de Clark del infiltrado linfocítico intratecal.

Por tal razón, en la presente investigación se aplicó el sistema de clasificación de infiltrado linfocítico según Clark con el objetivo de unificar criterios en los reportes histopatológicos para aportar al clínico información relacionada con factores pronósticos en pacientes con melanoma.

Es así, que en el presente estudio se revisaron láminas de 125 pacientes con diagnóstico de melanoma y reportamos la presencia del infiltrado linfocítico intratumoral para dar información relacionada con el pronóstico de sobrevida, generando las bases de datos para futuras investigaciones que incluyan dicho tema, buscando mejorar la atención y calidad del tratamiento de los pacientes del Instituto Salvadoreño del Seguro Social.

### **Objetivo general**

- Reclassificar el diagnóstico de melanoma utilizando la clasificación de Clark en base a la localización del infiltrado linfocítico intratumoral, en pacientes del Instituto Salvadoreño del Seguro Social.

### **Objetivos específicos**

- Identificar la ubicación histopatológica del infiltrado linfocítico intratumoral según la clasificación de Clark en la lesión tumoral en pacientes previamente diagnosticados con melanoma.
- Homologar los informes histopatológicos del diagnóstico de melanoma, en el departamento de patología utilizando la Clasificación de Clark en base a la localización del infiltrado linfocítico intratumoral.
- Establecer el perfil epidemiológico según la localización del infiltrado linfocítico intratumoral más común en los pacientes con diagnóstico de melanoma.
- Correlacionar la localización del infiltrado linfocítico intratumoral y el pronóstico de los pacientes con diagnóstico de melanoma.

## Métodos

### Diseño del estudio

El estudio por realizar es una investigación cualitativa, de tipo retrospectivo de corte transversal, ya que se ejecutará en un periodo determinado de tiempo y los resultados serán registrados en el momento justo de obtención y de carácter descriptivo.

**La investigación presenta dos variables, la variable independiente y la variable dependiente.**

VARIABLE INDEPENDIENTE	VARIABLE DEPENDIENTE
Sistema de clasificación de Clark	Pacientes con diagnóstico de melanoma maligno.

Los datos de los registros a estudiar se obtuvieron a partir del sistema digital “SysPatología”; para la obtención de la láminas a evaluar, se solicitó al personal de archivo del Departamento de Patología el préstamo de aquellas identificadas con los números de registro previamente identificados.

### Contexto

Los pacientes que se incluyeron en el estudio fueron los pacientes con diagnóstico histopatológico de melanoma cutáneo entre los años 2018 al 2023, afiliados al Seguro Salvadoreño del Seguro Social. El reclutamiento se realizó en los meses de septiembre a noviembre 2023.

### Procedimiento para garantizar los aspectos éticos en las investigaciones con sujetos humanos

- El presente estudio se cataloga como estudio sin riesgo de causar alteraciones físicas o psicológicas a los sujetos incluidos en la investigación, ya que se limita a obtener la información de manera estrictamente documental a partir de las láminas de muestras de pacientes con diagnóstico de melanoma, aclarando que dicha información será de carácter anónima, confidencial y estricto a los objetivos expresados previamente, con abstención de recopilar cualquier tipo de información personal, por lo cual se aclara que no será necesario elaborar ni utilizar hojas de consentimiento escrito.
- Los datos obtenidos serán utilizados exclusivamente por las investigadoras, además se codificará la información para resguardar aspectos como la identidad del paciente entre otros. Siguiendo los principios éticos que son beneficencia, consideramos que la institución y el derechohabiente se benefician de los resultados ya que según estos se podrá homgenizar los

resultados histopatológicos, no maleficencia porque nuestro estudio no implica el estudio directo del paciente en el que se pudiera generar una intromisión en su tratamiento de base; autonomía, pues no se publicaran datos personales de cada sujeto de estudio sino que se trabajara con registros; y justicia porque se basa en la concepción ética de dar a cada paciente el tratamiento indicado por igual de acuerdo a la necesidad del mismo.

## **Participantes**

### **Criterios de inclusión**

Pacientes con diagnóstico histopatológico de melanoma cutáneo entre los años 2018 y 2021, afiliados al Seguro Salvadoreño del Seguro Social.

Pacientes con diagnóstico de melanoma con fase de crecimiento vertical.

Disponibilidad de la la información histopatológica.

### **Criterios de exclusión**

Pacientes con diagnóstico de melanoma extracutáneo.

Pacientes con diagnóstico de melanoma con fase de crecimiento horizontal.

Pacientes con metástasis de melanoma de los cuales no se dispone el sitio primario.

### **Proceso de recolección de datos**

Búsqueda en sistema “SysPatologia” de casos diagnosticados como

Melanoma maligno.

- Filtración de casos de acuerdo a su grado
- Solicitud de láminas de casos identificados en archivo del Departamento de Patología
- Conteo sistematizado de presencia o ausencia del infiltrado linfocítico intratumoral.
- Cumplimentado del instrumento de recolección de datos en tabla de digital de registro

### **Instrumentos utilizados**

- Sistema “SysPatologia”
- Microscopio
- Tabla digital de registro

### Métodos de control de calidad de los datos

Confirmación de la presencia o ausencia del infiltrado linfocítico intratumoral por parte del médico patólogo que asesora de la investigación, posterior a la entrega de resultados iniciales por la médico residente.

### Descripción y operativización de variables

Para la recolección de la información se diseñará un instrumento de recolección de datos donde se incluirán las variables seleccionadas en dependencia con los objetivos de la investigación.

VARIABLE	TIPO DE VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DEFINICIÓN DE CATEGORÍAS DE LA ESCALA
<b>VARIABLES PARA DAR CUMPLIMIENTO AL OBJETIVO GENERAL.</b>			
Edad	Cuantitativa	-Mayores de 18 años.	Variable definida teniendo en cuenta la edad biológica al momento del ingreso establecida en años..
Sexo	Cualitativa	- Masculino - Femenino	Variable definida teniendo en cuenta el sexo biológico al ingreso del paciente.
Número de Biopsia	Cuantitativa De intervalo discreta	B-año-Número Correlativo	Variable definida teniendo en cuenta el año y el número correlativo al ingreso al Departamento de Patología
Número de afiliación	Cuantitativa De intervalo discreta	Número correlativo al ingreso al Instituto Salvadoreño del Seguro Social*	Variable definida teniendo en cuenta el número correlativo al ingreso al Instituto Salvadoreño del Seguro Social.
Diagnóstico histopatológico de paciente	Cualitativa Nominal	-Melanoma nodular -Melanoma maligno	-Melanoma nodular: subtipo agresivo de neoplasia maligna de los melanocitos con fase de crecimiento vertical. -Melanoma maligno: tumor maligno que surge de los melanocitos en la piel o mucosas de numerosos órganos internos.
Presencia de infiltrado linfocítico	Cualitativa Nominal	Ausente Intenso No intenso	-Ausente: cuando no hay linfocitos presentes o cuando los linfocitos presentes no

intratumoral (TIL)			están unidos directamente a las células malignas. -Intenso: infiltrado linfocítico intratumoral en toda la base del tumor o una infiltración difusa en la lesión tumoral. -No intenso: es un infiltrado linfocítico intratumoral focal.
--------------------	--	--	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

### Definición operacional.

- Presencia de infiltrado linfocítico intratumoral (TIL)

Es la presencia de linfocitos T o B dentro del tumor o alrededor del mismo, independientemente del número o densidad de estos.

-Ausente: cuando no hay linfocitos presentes o cuando los linfocitos presentes no están unidos directamente a las células malignas.

-Intenso: infiltrado linfocítico intratumoral en toda la base del tumor o una infiltración difusa en la lesión tumoral.

-No intenso: es un infiltrado linfocítico intratumoral focal.

### Sesgo

Durante la investigación se trato de evitar posibles sesgos como:

1. Sesgo de autoselección: no aplica para el presente estudio ya que los pacientes fueron seleccionados de acuerdo al cumplimiento de los criterios de inclusión y exclusión.
2. Sesgo de selección: el sesgo se disminuyó al involucrar al 100% de los pacientes durante el período estudiado.
3. Sesgo de desabilidad social: no aplica para el presente estudio ya que la información fue obtenida del sistema interno de patología (SysPatología).
4. Sesgo de información: este sesgo ha sido evitado al utilizar únicamente los criterios de inclusión y exclusión establecidos en la investigación.
5. Sesgos de confirmación: este tipo de sesgo se ha tratado de evitar al involucrar al 100% de los casos encontrados en los años establecidos por la investigación.

### Tamaño muestral

#### Universo

150 pacientes con diagnóstico de melanoma maligno y nodular.

#### Muestra

La muestra se redujo a 125 pacientes al aplicar los criterios de inclusión y exclusión.

**Unidad de análisis**

Láminas de hematoxilina y eosina de pacientes con diagnóstico histopatológico de melanoma.

**VARIABLES CUANTITATIVAS**

La Variable cuantitativa edad (fue la variable cuantitativa utilizada) se definió de esa forma ya que la población que atiende el ISSS corresponde a mayores de 18 años.

**Estadísticos**

Los pacientes que se incluyeron en el estudio fueron los pacientes con diagnóstico histopatológico de melanoma cutáneo entre los años 2018 y 2021, se revisó el sistema SysPatologia encontrando 150 registros con el diagnóstico de melanoma nodular (18) y melanoma maligno (132). Al aplicar los criterios de inclusión y exclusión se obtuvo una muestra de 125 pacientes (melanoma nodular 12% y melanoma maligno 88%).

Para la captura de datos se utilizó google forms y para el procesamiento Excel.

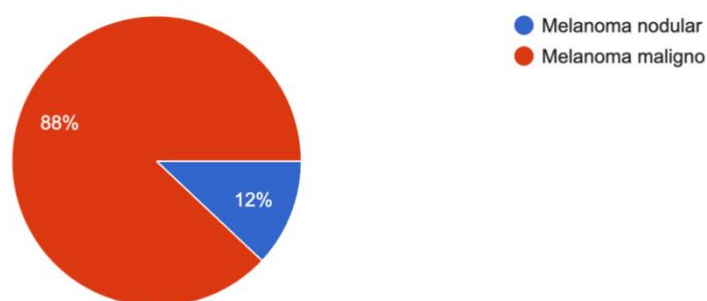


## Resultados

### Participantes

Al revisar el sistema SysPatología se encontraron 150 registros con el diagnóstico de melanoma nodular (18) y melanoma maligno (132). Al aplicar los criterios de inclusión y exclusión se obtuvo una muestra de 125 pacientes (melanoma nodular 12% y melanoma maligno 88%). Ver figura 1.

Gráfica 1. Diagnóstico histopatológico



### Datos descriptivos

En cuanto a los descriptivos, se encontró que la mayoría de pacientes del estudio están en la década de los 61 a 70 años. Ver tabla 1.

La edad media encontrado al aplicar estadística descriptiva es de: 63.63 años, y la moda de: 63 años y la mediana: 63 años. Coincidencia las tres medidas de tendencia central (distribución simétrica)

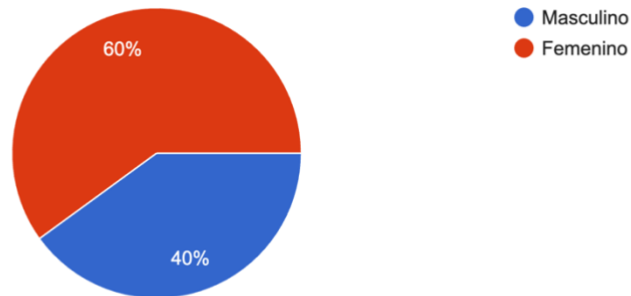
Ver tabla 1.

Tabla 1. Distribución por edades

EDADES	FRECUENCIA
18-30	1
31-40	4
41-50	24
51-60	25
61-70	32
71-80	21
Mayor de 80	18

En relación a la edad de los participantes se encontró que el 60% corresponde al sexo femenino y el 40% al masculino. Ver gráfica 2.

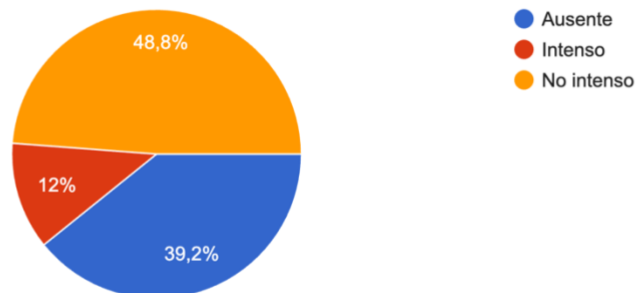
Gráfica 2. Sexo



### Datos de variable de resultado

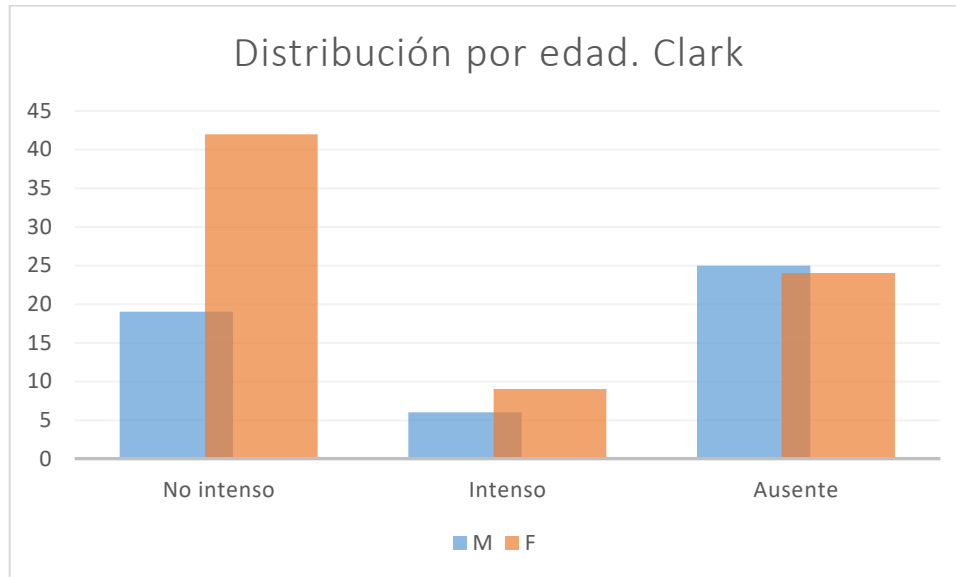
Se encontró que de acuerdo a la presencia de infiltrado linfocítico intramural, el 48,8% corresponde a no intenso, 12% intenso y 39,2% ausente. Ver gráfico 3.

Gráfico 3. Presencia de infiltrado linfocítico intramural .



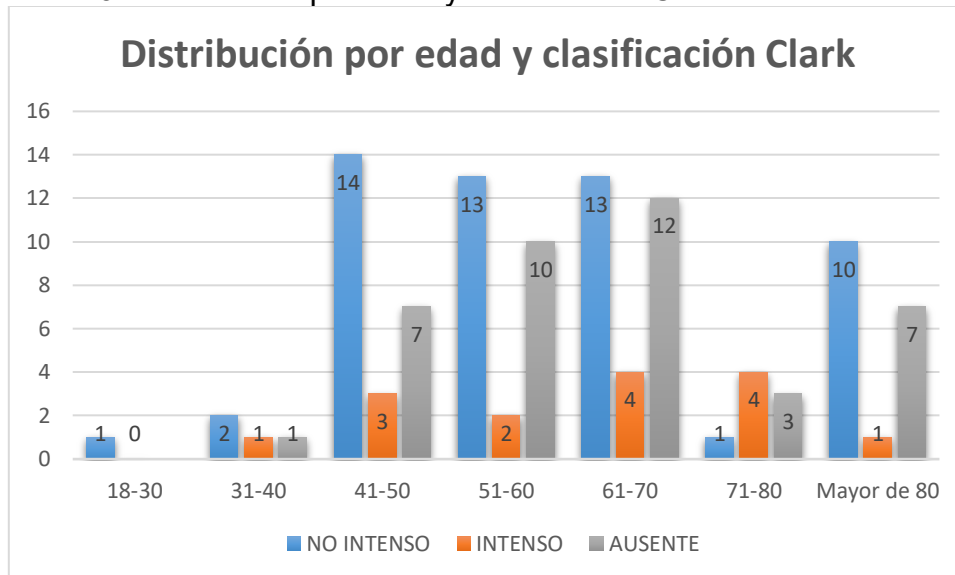
Se encontraron 15 diagnosticados como melanoma nodular, de los cuales al aplicar la clasificación de Clark, fueron clasificados como: No intenso 9, Intenso 3 y Ausente 3. De los clasificados como melanoma maligno, que fueron 110, 52 fueron clasificados como No intensos, 12 Intenso y 46 Ausente.

Tabla 2. Distribución por edad, según clasificación Clark



Se puede observar en la tabla que la distribución por edad en el caso de los clasificados de no intensos e intensos, predomina el sexo femenino con 42 y 9 casos respectivamente. En el caso de los clasificados como ausentes la proporción es muy similar con 25 masculinos y 24 femeninos.

Tabla 3. Distribución por edad y clasificación Clark



## Discusión

Se encontró que de los 125 pacientes que cumplían los criterios de inclusión, 12% correspondían a melanoma nodular y 88% a melanoma maligno. Al utilizar la clasificación de Clark se encontraron que de los 15 pacientes diagnosticados como melanoma nodular, fueron subclasificados como: No intenso (9), Intenso (3) y Ausente (3). De los clasificados como melanoma maligno, que fueron 110 pacientes, 52 fueron clasificados como No intensos, 12 Intenso y 46 Ausente. Lo anterior servirá de base para próximos estudios que correlacionan evolución clínica y pronóstico del paciente con el TILS.

Al aplicar la clasificación de Clark de igual forma se logró ubicar el infiltrado linfocítico tumoral lo cual permitió subclasificarlo como intenso, no intenso y ausente, recordando que:

- Intenso el infiltrado linfocítico se infiltra de forma difusa en todo el componente invasivo del tumor.
- No intenso, cuando los patrones de infiltrado linfocítico son multifocales o segmentarios.
- Ausente cuando el infiltrado linfocítico está alrededor de los nidos tumorales sin contacto células tumorales o en áreas de fibrosos o perivasculares.

Como se puede observar en el gráfico 3, se encontró que de acuerdo a la presencia de infiltrado linfocítico intramural, el 48,8% corresponde a no intenso, 12% intenso y 39,2% ausente.

Investigadores como Day et al. Informaron que los pacientes con un infiltrado linfocítico intenso en melanomas cutáneos primarios tienen un pronóstico significativamente mejor que aquellos con un TIL escaso o ausente. Demostraron además que la intensidad de la respuesta de los TILS se correlacionó con una supervivencia libre de enfermedad. La tasa de supervivencia a 8 años fue del 88% en pacientes con un infiltrado intenso, un 75% en pacientes con respuesta no intensa y un 59% en pacientes con TIL ausente. De igual forma Clemente et al. Informaron una tasa de supervivencia a 5 años del 77% en pacientes con melanoma que tenían una respuesta intensa de los TILS, un 53% con una respuesta no intensa y un 37% en aquellos con ausencia de TILS.

Nuestro estudio reveló que el 48,8% de los pacientes exhibieron un infiltrado linfocitario tumoral (TIL) no intenso. Este hallazgo sugiere que los pacientes con TIL no intenso pueden experimentar un pronóstico favorable en comparación con aquellos con TIL ausente o intenso, lo que resalta la importancia del TIL no intenso como un factor predictivo de un mejor resultado clínico.

Como se puede observar en el gráfico 2, en relación a la edad de los participantes se encontró que el 60% corresponde al sexo femenino y el 40% al masculino del total de pacientes. En cuanto a la clasificación de Clark:

A diferencia de lo reportado en la literatura internacional donde se correlaciona la ausencia de TILS y el sexo masculino con mayor probabilidad de desarrollar metástasis, según el American Joint Committee on Cancer (AJCC), en nuestro predomina el sexo femenino, lo cual demuestra según este estudio una clara ventaja en la supervivencia por lo que se ha hipotetizado que sea un factor estrogénico protector, a diferencia del sexo masculino. Es decir, con el género se muestra un

beneficio en la supervivencia a los 5 y 10 años entre un 10 y 20% más para las mujeres que para los hombres en la mayoría de los estudios.(17)

Tabla 3. Distribución por edad y clasificación Clark.

De acuerdo a la clasificación de Clark se puede observar que la mayor proporción de pacientes está concentrado entre los 41 años hasta los 70 años, predominando la clasificación de No intenso, seguido por Intenso y Ausente. A pesar del hallazgo de nuestra investigación, no encontramos estudios internacionales que demuestren factor de riesgo aumentado a un intervalo de edad específico.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el estudio se ha tomado la decisión en el departamento de patología de incorporar en el reporte de los estudios histopatológicos de los melanomas cutáneos, la clasificación de Clark de acuerdo al siguiente esquema: Ver Gráfico 4 en Anexos.

Lo anterior significa un cambio substancial en los reportes patológicos que permitirán un reporte completo del diagnóstico y la base para futuras investigaciones.

### **Limitaciones**

La ausencia de material histopatológico ya que muchas de ellas se encontraban descartadas del año 2018.

### **Financiamiento**

No aplica al presente estudio.

### **Fuentes de información.**

1. Lee N, et al., Tumour-infiltrating lymphocytes in melanoma prognosis and cancer immunotherapy, Pathology (2015), [http:// dx.doi.org/10.1016/j.pathol.2015.12.006](http://dx.doi.org/10.1016/j.pathol.2015.12.006)

2. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. Nature. 2008 Jul 24; 454(7203):436-44 disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22210179/>

3. Clark WH Jr, Elder DE, Guerry D 4th, Braitman LE, Trock BJ, Schultz D, Synnestvedt M, Halpern AC. Model predicting survival in stage I melanoma based on tumor progression. J Natl Cancer Inst. 1989 Dec 20; 81(24):1893-904 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2593166/>

4. Mihm MC Jr, Clemente CG, Cascinelli N. Tumor infiltrating lymphocytes in lymph node melanoma metastases: a histopathologic prognostic indicator and an expression of local immune response. Lab Invest. 1996 Jan; 74(1):43-7 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8569196/>

5. Pandolfi F, Boyle LA, Trentin L, Kurnick JT, Isselbacher KJ, Gattoni- Celli S. Expression of HLA-A2 antigen in human melanoma cell lines and its role in T-cell recognition. Cancer Res. 1991 Jun 15; 51(12):3164-70 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1904004/>

6. Mapara MY, Sykes M. Tolerance and cancer: mechanisms of tumor evasion and strategies for breaking tolerance. J Clin Oncol 2004 Mar 15; 22(6):1136-51 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15020616/>

7. Hillen F, Baeten CI, van de Winkel A, Creytens D, van der Schaft DW, Winnepeninckx V, Griffioen AW. Leukocyte infiltration and tumor cell plasticity are parameters of aggressiveness in primary cutaneous melanoma. Cancer Immunol Immunother. 2008 Jan; 57(1):97-106 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17602225/>

8. Martinez-Rodriguez M, Thompson AK, Monteagudo C. A significant percentage of CD20- positive TILs correlates with poor prognosis in patients with primary

cutaneous malignant melanoma. *Histopathology*. 2014 Nov; 65(5):726-8  
Disponibile en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24750176/>

9. Van Houdt IS, Sluijter BJ, Moesbergen LM, Vos WM, de Gruijl TD, Molenkamp BG, van den Eertwegh AJ, Hooijberg E, van Leeuwen PA, Meijer CJ, Oudejans JJ. Favorable outcome in clinically stage II melanoma patients is associated with the presence of activated tumor infiltrating T-lymphocytes and preserved MHC class I antigen expression. *Int J Cancer*. 2008 Aug 1; 123(3):609-15 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4747372/>

10. Miracco C, Mourmouras V, Biagioli M, Rubegni P, Mannucci S, Monciatti I, Cosci E, Tosi P, Luzi P. Utility of tumour-infiltrating CD25+FOXP3+ regulatory T cell evaluation in predicting local recurrence in vertical growth phase cutaneous melanoma. *Oncol Rep*. 2007 Nov; 18(5):1115-22 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17914561/>

11. Maeurer MJ, Gollin SM, Martin D, Swaney W, Bryant J, Castelli C, Robbins P, Parmiani G, Storkus WJ, Lotze MT. Tumor escape from immune recognition: lethal recurrent melanoma in a patient associated with downregulation of the peptide transporter protein TAP-1 and loss of expression of the immunodominant MART-1/Melan-A antigen. *J Clin Invest*. 1996 Oct 1; 98(7):1633-41 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8833913/>

12. Solana R, Casado JG, Delgado E, DelaRosa O, Marín J, Durán E, Pawelec G, Tarazona R. Lymphocyte activation in response to melanoma: interaction of NK-associated receptors and their ligands. *Cancer Immunol Immunother*. 2007 Jan; 56(1):101-9 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16485126/>

13. Gorelik L, Flavell RA. Immune-mediated eradication of tumors through the blockade of transforming growth factor-beta signaling in T cells. *Nat Med*. 2001 Oct; 7(10):1118-22 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11590434/>

14. Hirano F, Kaneko K, Tamura H, Dong H, Wang S, Ichikawa M, Rietz C, Flies DB, Lau JS, Zhu G, Tamada K, Chen L. Blockade of B7-H1 and PD-1 by monoclonal antibodies potentiates cancer therapeutic immunity. *Cancer Res*. 2005 Feb 1; 65(3):1089-96 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6816392/>

15. Becker JC, Brabletz T, Czerny C, Termeer C, Bröcker EB. Tumor escape mechanisms from immunosurveillance: induction of unresponsiveness in a specific MHC-restricted CD4+ human T cell clone by the autologous MHC class II+

melanoma. Int Immunol. 1993 Dec; 5(12):1501-8 Disponible en:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7906140/>

16. Jandus C, Bioley G, Speiser DE, Romero P. Selective accumulation of differentiated FOXP3(+) CD4 (+) T cells in metastatic tumor lesions from melanoma patients compared to peripheral blood. Cancer Immunol Immunother. 2008 Dec; 57(12):1795-805

Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18414854/>

17. Tejera-Vaquerizo A, Solís-García E, Ríos-Martín JJ, Moreno-Ramírez D. Factores pronósticos en el melanoma cutáneo primario no incluidos en la clasificación de la American Joint Committee on Cancer (AJCC). Actas Dermosifiliogr [Internet]. 2011;102(4):255–63. Disponible en:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ad.2011.01.001>

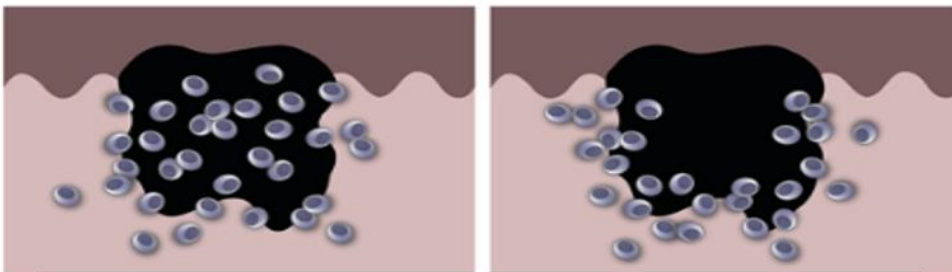


## Anexos

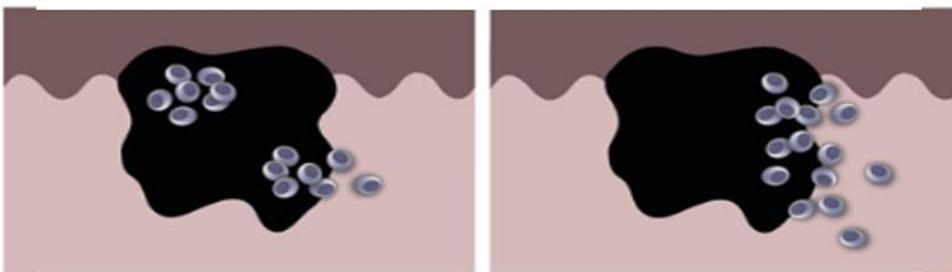
### Anexo 1.

Esquema del infiltrado linfocítico intratumoral de melanocitos, según el Sistema de Clasificación de Clark. (Tomado de: Lee N, et al., Tumour-infiltrating lymphocytes in melanoma prognosis and cancer immunotherapy, Pathology, 2015)

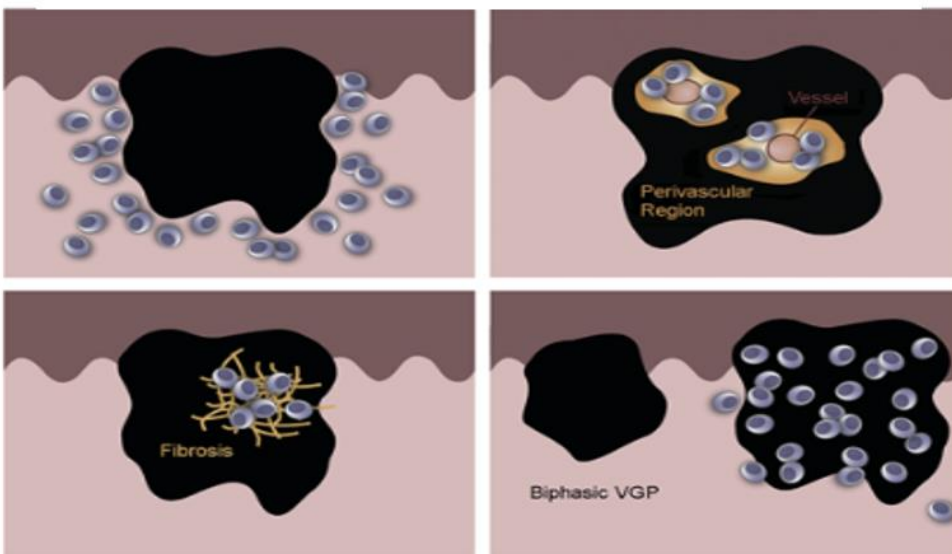
#### A Patron intenso de infiltrado linfocítico



#### B Patron no intenso de infiltrado linfocítico



#### C Patron ausente de infiltrado linfocítico



Fase de crecimiento vertical Melanoma



### Anexo 2

Tabla 1. Comparación del Sistema de Clasificación de Clark y del Instituto Australiano de melanoma. (Tomado de: Lee N, et al., Tumour-infiltrating lymphocytes in melanoma prognosis and cancer immunotherapy, Pathology, 2015)

Compromiso de TIL	Sistema Clark	Sistema del Instituto Australiano del melanoma
TIL ausente	Ausente	0
Áreas focales de infiltración tumoral (único, multifocal, o segmental)	No Intenso	1 (o 2, si hay marcación focal o multifocal moderado o marcado infiltrado)
La base completa del turmo	Intenso	1-3 (dependiendo de la distribución e intensidad de los TIL)
Difusión permanente del crecimiento vertical del melanoma	Intenso	2-3 (dependiendo de la intensidad del infiltrado TIL)

### Anexo 3

**Aplicación del Infiltrado Linfocítico Intratumoral en base a localización en pacientes con melanoma.**

B I U ↻

base de datos

---

**Edad \***

Texto de respuesta corta

---

**Sexo \***

Masculino

Femenino

---

**Número de biopsia \***

Texto de respuesta larga

---

**Número de afiliación \***

Texto de respuesta corta

---

**Diagnóstico histopatológico \***

Melanoma nodular

Melanoma maligno

---

**Presencia de infiltrado linfocítico intratumoral \***

Ausente

Intenso

No intenso

#### Gráfico 4

Infiltrado linfocítico intratumoral (aplicable únicamente a tumores invasivos)

- + \_\_\_ ausente
- + \_\_\_ Presente, no intenso
- + \_\_\_ Presente, intenso
- + \_\_\_ No se puede determinar