



## **TESIS DOCTORAL**

# BIOPSIA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA EN MELANOMA CUTANEO: FACTORES PRONOSTICOS

Cristina Serrano Falcón

Universidad de Granada  
Departamento de Medicina  
Area de Dermatología  
-Granada-  
2010

Editor: Editorial de la Universidad de Granada  
Autor: Cristina Serrano Falcón  
D.L.: GR 1918-2011  
ISBN: 978-84-694-1157-5





UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE MEDICINA

Don Salvio Serrano Ortega, Catedrático de Dermatología Médico Quirúrgica y Venereología de la Universidad de Granada,

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral que se presenta a juicio del Tribunal por la aspirante al grado de Doctor D<sup>a</sup> CRISTINA SERRANO FALCON con el título FACTORES PRONÓSTICO DE LA BIOPSIA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA EN EL MELANOMA CUTÁNEO, ha sido realizada bajo mi dirección y supervisión, encontrando dicho trabajo adecuado para tal fin.

Granada, octubre de 2010.

Fdo. Salvio Serrano Ortega





UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE MEDICINA

Don Agustín Buendía Eisman, Profesor titular de Dermatología Médico Quirúrgica y Venereología de la Universidad de Granada,

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral que se presenta a juicio del Tribunal por la aspirante al grado de Doctor D<sup>a</sup> CRISTINA SERRANO FALCON con el título FACTORES PRONÓSTICO DE LA BIOPSIA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA EN EL MELANOMA CUTÁNEO, ha sido realizada bajo mi dirección y supervisión, encontrando dicho trabajo adecuado para tal fin.

Granada, octubre de 2010.

Fdo. Agustín Buendía Eisman





UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE MEDICINA

Doña Maria del Mar Serrano Falcón, Especialista en Anatomía Patológica y Doctora por la Universidad de Granada,

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral que se presenta a juicio del Tribunal por la aspirante al grado de Doctor D<sup>a</sup> CRISTINA SERRANO FALCON con el titulo FACTORES PRONÓSTICO DE LA BIOPSIA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA EN EL MELANOMA CUTÁNEO, ha sido realizada bajo mi dirección y supervisión, encontrando dicho trabajo adecuado para tal fin.

Granada, octubre de 2010.

Fdo. Maria del Mar Serrano Falcón







UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE MEDICINA

Doña Maria del Mar Serrano Falcón, Especialista en Anatomía Patológica y Doctora en Medicina y Cirugía por la Universidad de Granada,

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral que se presenta a juicio del Tribunal por la aspirante al grado de Doctor D<sup>a</sup> CRISTINA SERRANO FALCON con el titulo FACTORES PRONÓSTICO DE LA BIOPSIA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA EN EL MELANOMA CUTÁNEO, ha sido realizada bajo mi dirección y supervisión, encontrando dicho trabajo adecuado para tal fin.

Granada, octubre de 2010.

Fdo. Maria del Mar Serrano Falcón



## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero expresar mi agradecimiento a los directores de este trabajo, por su paciencia y su apoyo incondicional a lo largo de todo el proceso de recogida de datos, procesado y enseñanzas, tanto en la consulta, el quirófano como en el despacho.

A Maria Jesús y Aita que siempre me ayudaron con las historias clínicas y en la relación con los pacientes.

Al Prof. Juan Linares por la revisión de las biopsias de los casos incluidos en nuestro estudio.

A la Profesora Llenalia García por su ayuda inestimable en el tratamiento estadístico de los datos

A mi marido por su cariño y fidelidad, por su ayuda constante y a mis hijas Paloma y Cristina, sin cuya colaboración este trabajo se podría haber presentado hace tres años.

A los pacientes con melanoma de la Unidad de Melanomas del Hospital San Cecilio.

A todas aquellas personas que de una forma u otra me han ayudado a lo largo de mi periodo de formación.



## **INDICE**

	Página/s
<b>I.- <u>INTRODUCCIÓN</u></b>	1
I.1.- <u>Melanoma cutáneo</u>	1
11.- Epidemiología	1
1.3.- Marcadores y factores de riesgo	3
1.3.- Precusores de melanoma cutáneo	10
1.4.- Historia natural de la enfermedad	14
1.5.- Formas anatomoclínicas	26
1.6.- Diagnóstico de melanoma cutáneo	30
1.7.- Sistema de estadiaje en el melanoma cutáneo	37
1.8.- Factores de pronóstico	39
1.9.- Tratamiento y seguimiento de pacientes con MC	49
I.2 – <u>Biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC)</u>	54
2.1.- Antecedentes históricos	54
2.2.- BSGC vs disección ganglionar	55
2.3.- Selección de pacientes	56
2.4.- Contraindicaciones y situaciones especiales	58
2.5.- Evolución de la técnica	59
2.6.- Descripción de la técnica	59
2.7.- Controversias	65
I.3.- <u>Factores de riesgo para ganglio positivo</u>	68
I.4.- <u>Factores predictivos para segundo ganglio</u>	74
<b>II.- <u>OBJETIVOS</u></b>	77
<b>III.- <u>MATERIAL Y MÉTODOS</u></b>	78
1.- Diseño del estudio	78
2.- Selección de la muestra	79
3.- Recogida de datos	79
4.- Análisis estadístico de los datos	83
<b>IV.- <u>RESULTADOS</u></b>	87
1.- Análisis descriptivo de la muestra	87
1.1.- De todas las variables de la muestra	88
1.2.- De las variables y su relación el GC	91
1.3.- De los pacientes a los que se realizó disección ganglionar	100
2.- Análisis bivariante	106
2.1.- Bivariado respecto a la edad	106
2.2.- Bivariado respecto al sexo	110

3.- Modelización estadística de los datos	113
3.1.- Para GC positivo	113
3.2.- Para otros ganglios positivos	117
4.- Validación del modelo de GC+	119
V.- <b><u>DISCUSIÓN.</u></b>	123
1.- Análisis descriptivo de la muestra	123
1.1.- De todas las variables de la muestra	123
1.2.- De las variables y su relación el GC	130
1.3.- De los pacientes a los que se realizó disección ganglionar	138
2.- Análisis bivalente	141
2.1.- Bivariado respecto a la edad	147
2.2.- Bivariado respecto al sexo	147
3.- Modelización estadística de los datos	142
3.1.- Para GC positivo	142
3.2.- Para otros ganglios positivos	144
4.- Modelo de regresión logística para GC+.Nomograma y Curva ROC	146
VI.- <b><u>CONCLUSIONES</u></b>	150
VI.- <b><u>BIBLIOGRAFIA</u></b>	151

## I.- INTRODUCCIÓN.

### I.1.- MELANOMA CUTÁNEO.

El melanoma cutáneo (MC) es un tumor de origen melanocitario con un elevado potencial metastático y una incidencia y mortalidad en aumento. Su historia natural es bien conocida e incluye el crecimiento local de la neoplasia, la producción de metástasis por vía linfática y hemática que originan la diseminación de la enfermedad y la muerte del paciente. Su pronóstico está en relación directa con la precocidad del diagnóstico y la eficacia del tratamiento. En la actualidad se considera que el estado de los ganglios linfáticos es el principal factor pronóstico en el MC.(Balch CM,2004; Phan GQ,2009)

#### 1.1.-Epidemiología.

La incidencia del MC está aumentando de forma alarmante en los individuos de raza blanca en todos los Registros de Cáncer. Las cifras se duplican cada 10-20 años y con 80 casos por millón de habitantes anualmente en Europa Occidental. Ocupa el 1 y 1.8% de los todos tumores en hombres y mujeres respectivamente.

En el Volumen IX de la publicación *Cancer Incidence in five Continents*, publicado por la *International Agency for Research on Cancer* (IARC) de la OMS, que recoge datos procedentes de 300 registros de cáncer representativos sólo del 11% de la población mundial en el periodo 1998-2002 (Curado. M, 2007) se han registrado un total de 1.051.080 melanomas, 575.970 en hombres (54,80%) y 475.110 en mujeres (45,20%). En los registros españoles, de acuerdo con la misma fuente, se registraron un total de 1.577. (Tabla 1).

REGISTRO	Nº de Casos		Tasa Cruda		ASR (W)	
	Varones	Mujeres	Varones	Mujeres	Varones	Mujeres
Albacete	55	57	7.6	7.8	5.0	4.8
Asturias	152	272	5.9	9.7	3.4	5.8
País Vasco	308	447	7.5	10.5	4.9	6.6
Islas Canarias	181	242	5.0	6.6	3.9	4.8
Cuenca	31	28	6.2	5.6	3.3	2.0
Girona	114	142	8.4	10.3	5.2	6.6
Granada	112	147	5.6	7.1	4.3	4.8
Murcia	239	276	8.4	9.5	6.5	7
Navarra	143	149	10.3	10.7	6.6	7.5
Tarragona	113	146	9.6	12.2	6.4	8.7
Zaragoza	129	148	6.3	6.8	4.0	4.2
TOTAL	1,577	2054				

Tabla 1.- Incidencia del MC en los registros de cáncer españoles (Curado M, 2007). ASR (W): *Age-world-standardized incidence rate*.



En el "Proyecto Globocan 2002" de la IARC-OMS, se ofrece una incidencia mundial de MC con tasas brutas de 2,5 y ASR (W) de 2,8 en hombres y de 2,6 en mujeres. En los países desarrollados, la tasa bruta y ASR son de 11,2 y 8,3 para hombres y de 10,8 y 7,5 para mujeres. Por el contrario en los países menos desarrollados son de 0,6 y 0,7 en hombres y mujeres. En esta misma publicación encontramos cifras de mortalidad mundial por MC con una tasa bruta y ASR respectivamente de 0,7 y 0,8 para los hombres y de 0,6 y 0,6 para mujeres, cifras que son mayores en los países desarrollados (2,6 y 1,8 para hombres y de 1,9 y 1,2 para mujeres) que en los menos desarrollados (0,3 y 0,3 para hombres y mujeres) (Globocan, 2002). En España, la tasa bruta de incidencia y ASR es de 7,5 y 5,3 en varones y de 8,6 y 5,5 respectivamente en mujeres. En el mismo periodo la tasa de mortalidad por MC ajustada por edad es de 3,2 y 0,9 en hombres y mujeres respectivamente. (Globocan,2002)

En la década del 2005, la incidencia y la mortalidad aumentaron en Australia respectivamente el 22% y el 16% en hombres y el 17% y 6% en mujeres, y en el Reino Unido el aumento fue del 60% y 20% en hombres. En la población blanca de USA, en hombres y mujeres, y en mujeres del Reino Unido la incidencia aumentó en un 17%, 19% y 45% respectivamente, mientras que la mortalidad disminuyó en un 2%, 7% y 10% respectivamente. (Thompson JF,2009)

En el año 2002, en EEUU se diagnosticaron 53,000 nuevos casos de melanoma, que ocasionaron más de 7,000 muertes. Las tasas de mortalidad también crecieron con el aumento de la tasa de incidencia, aunque a menor ritmo, a la vez que la tasa global de supervivencia experimentó un aumento considerable, debido a los programas de prevención secundaria y a los avances en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad. (Geller AC, 2003).

En la actualidad el melanoma cutáneo es responsable del 1% de las muertes por cáncer. Produce unas 5000 muertes al año en la UE y se considera el cáncer cutáneo de mayor mortalidad aunque sólo representa el 4% de los mismos (Meriño R, 2001). Es posible que en los próximos años las cifras de incidencia y mortalidad se estabilicen e incluso comiencen a descender de forma global, datos ya demostrados sobre algunas poblaciones en el Reino Unido y Holanda (Marks R, 2000). En las últimas cifras de que disponemos (Curado M, 2007) encontramos la máxima incidencia en Brasil (Registro de Goiânia, capital del estado de Goiás) con un ASR de 198,1 para varones y 177,1 en mujeres. En Europa, la máxima incidencia se produce en Suiza, con un ASR de 18,5 para hombres (Registro de Ginebra) y de 19,6 para mujeres (Registro de Vaud). En España la máxima incidencia se encuentra en el Registro de Navarra con una ASR de 6,6 para varones y en el de Tarragona con un

8,7 para mujeres. En el Registro de Granada la incidencia en varones es de 4,3 y de 4,8 en mujeres, cifras más bajas que las recogidas anteriormente por Parkin (Parkin DM, 2002) con una tasa bruta de 8,11 y 4,96 en hombres y mujeres respectivamente. En general, se encuentra un aumento anual de las tasas de incidencia variables entre el 3 y 7% en la población caucásica (Diepgen TL, 2002) y si se mantienen estas cifras podemos estimar que cada 10 – 20 años se duplicaría su incidencia. (Saenz S, 2005). A la vez que aumenta la incidencia disminuye la mortalidad, se ha creído que debido al diagnóstico precoz (Garbe C, 2007) aunque cuando se han analizado los datos se ha visto que no hay variaciones significativas en la edad, sexo, localización ni espesor tumoral (Peric B, 2008).

### 1.2.- Marcadores y factores de riesgo de MC.

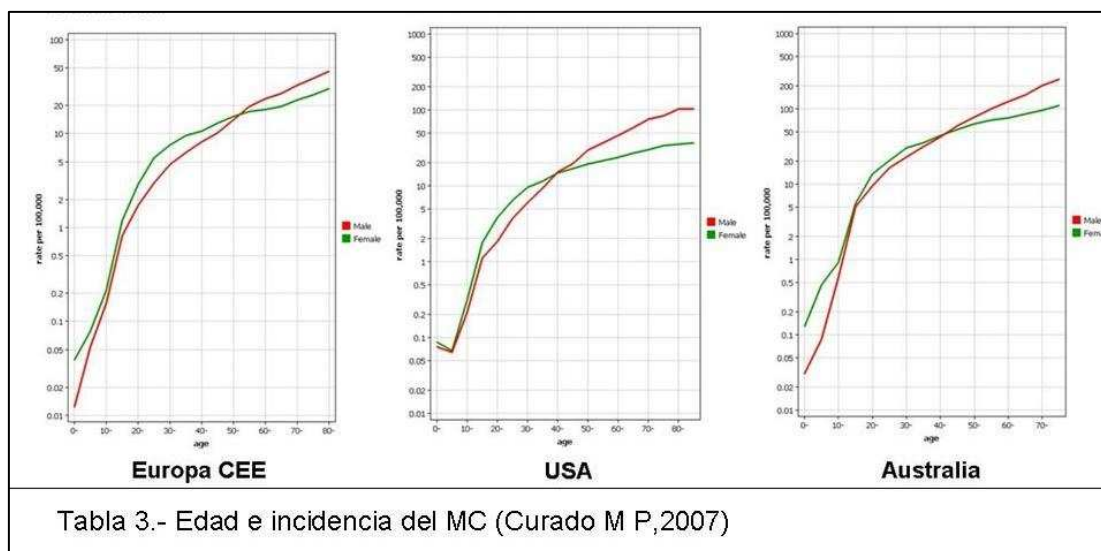
Se define como “marcador” de melanoma a una serie de signos propios del paciente o de su entorno que alertan sobre la posibilidad de que un individuo desarrolle un MC. Se cuantifica numéricamente (factor de riesgo) indicando el número de veces más o posibilidades que tiene la persona que expresa ese signo de padecer la enfermedad que otra que no lo exprese. Un “precursor” de MC es una lesión, generalmente benigna (nevus), sobre la que puede desarrollarse un melanoma. Los principales factores de riesgo se incluyen en la Tabla 2.

EVIDENCIA FUERTE	EVIDENCIA DEBIL	INCONSISTENTE
<p><b><u>Factores ambientales</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>. Exposición al sol.</li> <li>. Localización geográfica</li> </ul>	<p><b><u>Factores ambientales</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>. Bronceado UV.</li> <li>. Obesidad.</li> <li>. Empleo industrial</li> </ul>	<p><b><u>Factores ambientales</u></b></p>
<p><b><u>Factores individuales</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>. Número de nevus.</li> <li>. Nevus displásicos.</li> <li>. Historia familiar de MC.</li> <li>. Inmunosupresión.</li> <li>. Dificultad para broncearse.</li> <li>. Ojos azules o verdes.</li> <li>. Pelo rubio o rojo.</li> </ul>	<p><b><u>Factores individuales</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>. Historia de cancer cutaneo no melanoma (CCNM).</li> <li>. Nivel socioeconómico alto.</li> <li>. Pelo marrón.</li> <li>. Sexo varón.</li> <li>. Hormonas endógenas.</li> </ul>	<p><b><u>Factores individuales</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>. Embarazo</li> </ul>

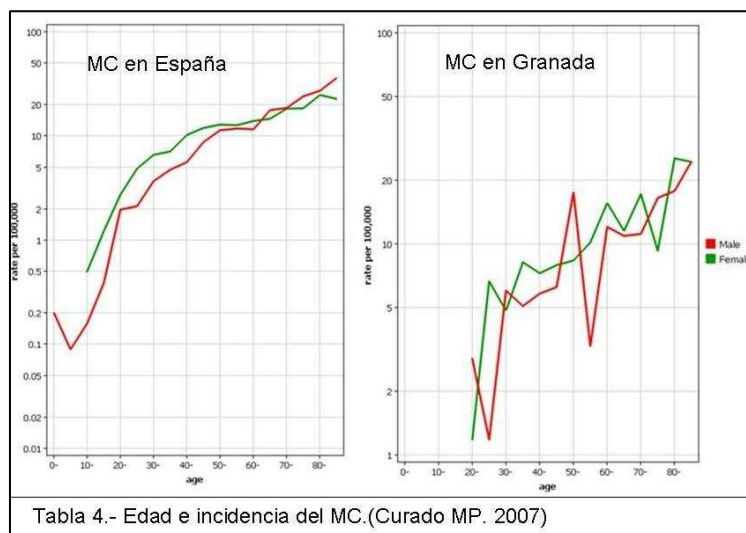
Tabla 2.- Factores de riesgo para melanoma (Markovic SN, 2007)

a) **Edad.**- El MC es raro antes de la pubertad, con una edad media al diagnóstico de 45 años y su incidencia aumenta progresivamente hasta los 85 años. Este comportamiento es similar en los registros europeos, de USA y Australia, tanto en hombres como en mujeres (Curado M P,2007) (Tabla 3).

Ries y cols. describen un aumento lineal de la incidencia desde los 15 a los 50 años y después decrece, especialmente en mujeres (Ries LA, 2000), situación que no encontramos en la bibliografía actual.



En los registros españoles se produce el mismo aumento progresivo de la incidencia a medida que aumenta la edad. En el Registro de Granada, se mantiene la misma



tendencia salvo un descenso entre los 20 y 30 años y otro entre los 50 y 60 en hombres (Curado MP, 2007) (Tabla 4).

**b) Sexo:** El MC es más frecuente en las mujeres, aunque la tendencia actual es a igualarse la incidencia entre ambos

sexos (tablas 3 y 4), aunque en las mujeres la enfermedad tiene mejor pronóstico. Es la sexta neoplasia en frecuencia en mujeres, y la más común entre mujeres de 25 y 29 años (Darayani D, 2003). La localización anatómica del tumor primario también varía en función del sexo. La zona anatómica más afectada en hombres es el tronco, concretamente la región dorsal superior, y en mujeres las extremidades inferiores, que

se relacionan a una exposición de forma intermitente a la radiación solar. Los melanomas de cabeza y cuello, que se relacionan a una exposición más prolongada a largo plazo, se diagnostican en la edad adulta en ambos sexos, con ligera inclinación por el sexo masculino (Elwood JM, 1996). Se cree que las tasas hombre/mujer se relacionan directamente con la exposición solar de forma que en los países con baja incidencia de MC y baja intensidad de radiación ultravioleta, la incidencia de MC es mayor en las mujeres y viceversa (Diepgen TL, 2002).

También se ha sugerido una relación entre factores hormonales y melanoma maligno. El hecho de que las células de melanoma presenten con frecuencia receptores estrogénicos, la hiperpigmentación que se produce durante el embarazo y con la toma de anticonceptivos orales o terapia hormonal sustitutiva, podrían explicar la mayor incidencia de MC entre las mujeres. Sin embargo no queda demostrado que estos factores aumenten de forma significativa el riesgo de la enfermedad. Se ha demostrado que los melanomas diagnosticados en el embarazo son más gruesos que los detectados en mujeres no embarazadas (Travers RL, 1995), aunque el curso de la enfermedad, el pronóstico y la tasa de supervivencia es igual en pacientes embarazadas que no embarazadas y va a depender, como en los demás casos, del espesor del tumor primario y del estado del ganglio centinela (Schwartz, 2003). Recientemente se ha comprobado el efecto negativo del embarazo sobre la paciente con MC (Miller E, 2009). El espesor medio en el grupo de casos fue de 4.28 mm y en los controles de 1.69 mm; la proporción de pacientes con ganglio centinela positivo fue mayor en las embarazadas que en los controles ( $p < 0.0001$ ), así como la mortalidad ( $p = 0.0532$ ). A pesar de todo persisten las controversias (Lens M, 2009).

De todas formas, existe un consenso general de que el embarazo no es aconsejable al menos hasta dos años después de la extirpación del tumor. Cada caso se debe individualizar en función del tipo de tumor, la edad de la paciente y el deseo de quedar embarazada (*Australian Cancer Network*, 1997). En caso de embarazo hay que instruir a la paciente en la autoexploración de la piel y regiones ganglionares. Además se debe tener en cuenta que aunque infrecuente, el MC es el tumor que con más frecuencia metastatiza a placenta y feto, por lo que se recomienda el examen histológico de la placenta y la exploración del neonato (Schwartz 2003). Aunque la mayoría de estudios no han demostrado una relación significativa entre MC y anticoncepción oral, o terapia hormonal sustitutiva, no se debe excluir, y lo mismo que decíamos para embarazo se puede afirmar del empleo de estas terapias (Holly EA, 1994; Holly EA, 1995).

c) **Clase social:** En algunos estudios se ha propuesto el lugar de residencia y la clase social como factor de riesgo. Las personas de clase social alta y las que viven en las

ciudades son las que con más frecuencia se exponen a la radiación solar de forma intermitente y se protegen menos durante el desarrollo de actividades lúdicas y deportivas, mientras que las que habitan en el campo, aunque la exposición sea mayor y más continuada, tienen la piel más engrosada y están acostumbrados a protegerse (Geller AC,1996). Se ha demostrado una influencia en la supervivencia con una correlación positiva entre el nivel socioeconómico y la precocidad del diagnóstico (Clegg LX,2009)

d) **Raza:** El riesgo de desarrollar un MC en los individuos de raza blanca es diez veces mayor que en los de raza negra, asiática o hispana, debido a las diferencias en las características fenotípicas. La piel clara, el pelo rubio o rojo, los ojos azules o verdes, y la tendencia a la quemadura solar y formación de pecas, es decir, los fototipos bajos, son marcadores de riesgo. En la raza blanca el riesgo es doce veces mayor que en la raza negra, aunque la tasa de mortalidad sea mayor en la raza negra, debido al retraso en el diagnóstico y a la mayor frecuencia de melanoma nodular y lentiginoso acral (Goldstein BG, 2001).

e) **Fototipo.** Los pacientes con fototipo I y II de Fitzpatrick tienen un riesgo tres veces mayor de padecer melanoma (Schaffer JV, 2004)

f) **Nevus melanocíticos congénitos.** Los nevus presentes al nacer se clasifican de acuerdo con su tamaño en pequeños (<15 cm), medianos (>1,5 y <20 cm) y gigantes (>20 cm). En general, aunque el riesgo existe, no está suficientemente evaluado (Paradela S, 2009).

g) **Nevus melanocíticos adquiridos.** El riesgo de desarrollar MC se ha establecido con el número, localización, tipo y tamaño de los nevus que tiene un individuo. En general el riesgo aumenta desde 1,5 en las personas con 11 a 25 nevus al doble si hay más de 25 y se multiplica por dos cada vez que aumenta el número en 25 veces (Markovic SN, 2007).

h) **Nevus displásicos.** En el síndrome del Nevus Displásico, definido en 1992 en la Conferencia de Consenso (NIH, 1992) como la presencia de MC en uno o más miembros de la familia (primero y segundo grado) y la presencia de gran número de nevus (>50) algunos con características de forma y tamaño atípicas e histología diferente a los nevus comunes, el riesgo de desarrollar un MC es 100 veces mayor y cuando se desarrolla un MC, en la mitad de los casos ocurre antes de los 50 años de edad (Tucker MA, 1993). Se estima que entre el 1,8 y 18% de la población tienen alguno de estos nevus sin carácter familiar (Nevus displásico esporádico), con mayor riesgo de padecer MC, aunque menos que cuando existen casos familiares (Arumi-Uría M,2008).

i) **Exposición solar:** La exposición solar es la principal causa de melanoma cutáneo. La radiación ultravioleta es un carcinógeno por sí misma sobre los melanocitos al inducir su proliferación tanto en sitios expuestos como no expuestos, favoreciendo su transformación clónica. Además, se comporta como promotora de lesiones melánicas previas, especialmente en nevus clínicamente atípicos, produciendo roturas cromosómicas y alterando la estructura del ADN celular. (Kovalyshyn I, 2009).

La concentración, intensidad, y cantidad de radiación solar que se recibe va a variar en función de la altitud y latitud, de las condiciones climáticas y del estado de la capa de ozono. La incidencia de MC es mayor en áreas próximas al Ecuador y en climas secos y soleados, y menor en latitudes altas. Las tasas más altas se registran desde hace años en individuos de raza blanca de Australia, Nueva Zelanda y USA, y las incidencias más bajas en la India, Japón, y la población no judía de Israel (Gonzalez Barón M, 1998). La capa de ozono protege de la radiación de longitud de onda menor de 300nm. Aunque no existen datos que confirmen una relación directa entre la disminución de la capa de ozono y aumento de melanoma, se estima que por cada 1% que disminuya la capa de ozono, aumentaría en un 1.3-1.5% la cantidad de UVB que llegaría a la superficie terrestre. Los países de Europa del Norte y del cono sur son los más afectados.

El antecedente de quemadura solar en los primeros años de vida supone una duplicación del riesgo. Las quemaduras antes de los 20 años se asocian a un mayor riesgo de melanoma y de sus lesiones precursoras, siendo la *odds ratio* (OR) de 1.4 para melanoma, nevus melanocíticos, y nevus atípicos (Kennedy C, 2003).

Debido a que las quemaduras solares se producen principalmente por la radiación UVB (280-320nm), con el consiguiente daño en el ADN, se ha prestado menor atención a la radiación UVA (320-400nm), de mayor longitud de onda y por tanto mayor penetración que los UVB, aunque su energía es menor. Normalmente sólo un 5-10% de la energía solar incidente en la superficie terrestre es UVB, y un 90-95% corresponde a UVA. Se estima que un 50% de la radiación UVA alcanzan los melanocitos, y sólo lo hace un 9% a un 14% de la radiación UVB, situación que hay que tener en cuenta máxime cuando la UVA puede proceder de otras fuentes artificiales y además atraviesa el cristal de ventana (Wang S, 2001), lo que representa un daño silente pero continuo. (Serrano Ortega S, 2002).

El desarrollo y aparición de nevus se asocia a las características fenotípicas del individuo, a la exposición al sol, así como a la historia de quemaduras solares (Rodenas JM, 1997).

Se han descrito cambios histológicos en los nevus después de la exposición a radiación ultravioleta con aumento de los melanocitos localizados por encima de la

capa basal y mayor expresión de HMB-45 (Tronnier M, 1995), cambios que se inducen con dosis eritema y en menor proporción con dosis más altas si se dan fraccionadas (Tronnier M, 1997), lo que reafirma la importancia de la exposición solar aguda en la génesis del MC y que las quemaduras solares frecuentes juegan un papel importante en la progresión de un nevus a MC en personas con un elevado número de nevus (Carli P, 1999).

j) **Exposición a fuentes artificiales de radiación ultravioleta.** El uso de cabinas de bronceado, más extendido entre los adolescentes y adultos jóvenes, supone una exposición adicional e innecesaria a UVA. Desde 1991 sabemos que las lámparas UVA emiten una cantidad variable de UVB debido al proceso de envejecimiento del equipo (Diffey BL, 1991). En la normativa española que regula los salones de bronceado (RD 1002/2002 BOE nº 243 de 10/10/2003), se acepta la emisión de una pequeña fracción de UVB. En un estudio realizado en la población inglesa se estima una mortalidad por melanoma de 100 muertes al año debida al uso de radiación artificial (Diffey BL, 2003). En un estudio realizado en Suiza se encuentra un aumento del riesgo (OR 1.8) para el desarrollo de MC cuando se superan las 250 sesiones anuales en cabinas de bronceado con un mayor riesgo en personas de menos de 36 años (Westerdhal J, 2003).

Se ha relacionado con el aumento de riesgo para MC los tratamientos con fotoquimioterapia PUVA (Stern RS, 2001) o KUVA (Kellina+UVA) (Carlie G, 2003), aunque no se ha encontrado asociación entre la incidencia de MC y tratamientos con UVB de banda estrecha (Hearn RMR, 2008).

k) **Inmunosupresión:** Se ha demostrado que existe mayor riesgo de MC en los pacientes inmunodeprimidos. Aunque el mecanismo exacto se desconoce se plantean varias hipótesis (Greene MH, 1981).

l) **Xeroderma pigmentoso:** En el Xeroderma pigmentoso existe una mayor disposición a padecer cáncer cutáneo no melanoma (CCNM) y melanoma como consecuencia de un defecto en la endonucleasa que repara el ADN lesionado por la RU. El riesgo de MC es 200 veces mayor que la población general. El MC desarrollado en pacientes con xeroderma está claramente asociado a la exposición solar, se desarrolla a edades muy tempranas, y la forma clínica más frecuente es el LMM (Fazaa B, 2001).

m) **Otros factores:** Aunque se han establecido relaciones con otros factores como la posible influencia de intervenciones quirúrgicas, antecedentes de ciertas enfermedades cutáneas e infecciones virales, no se han realizado estudios de casos y controles que permitan establecer de una forma clara el riesgo. El antecedente de trauma mecánico en la patogenia del melanoma es incierto. La

mayoría de autores defienden que si bien el traumatismo no es la causa directa del melanoma, sí puede ser la causa del diagnóstico (Kaskel P, 2000).

### **1.3.- Precursores de melanoma cutáneo.-**

Los “precursores” de MC son tumores benignos (nevus), sobre los que puede desarrollarse un melanoma. Los nevus se consideran tanto precursores como marcadores de riesgo (Weinstock MA, 1989). Cuando se desarrolla un MC sobre un nevus implica una serie de cambios a nivel clínico, histológico y submicroscópico y su conocimiento facilita el diagnóstico precoz del MC.

El comportamiento de los nevus como precursores de MC es un hecho frecuente en la clínica, y en estudios anatomopatológicos se ha descrito la persistencia de nevus con MC en un número variable de casos que oscila según los estudios, entre el 10 y el 50%. (Marks R, 1990; Sagebiel RW, 1993; Carli P, 1999). El riesgo de aparición de un melanoma sobre un nevus común adquirido es de un 0.5-1%, cifra muy baja pero considerable ya que el 100% de la población los presenta en mayor o menor número (Sanchez-Conejo Mir J, 2003).

Existe un paralelismo entre la distribución anatómica de los melanomas y los nevus adquiridos (Kruger SB, 1989; Rodenas J, 1997), ya que la distribución de los nevus adquiridos es la misma que la de los MC, de forma que puede predecirse el riesgo de desarrollar un melanoma en el tronco y en las piernas contando el número de nevus en esas localizaciones. Las diferencias en el patrón de localización de los nevus en ambos sexos son también similares al de los melanomas como se ha demostrado en un estudio descriptivo de nevus en escolares (Gallagher RP, 1990).

Se estima un riesgo anual de malignización de cualquier nevus del 0.0005% en menores de 40 años, y del 0.003% para los varones mayores de 60 años, cifra algo mayor debido a que el riesgo global de MC aumenta en estas edades y además, el número de nevus tiende a disminuir (Tsao H, 2003). En este mismo estudio se encuentran restos de nevus en el 28% de MC en hombres y en el 25% de los MC de las mujeres.

Aunque las características genéticas influyen en la aparición de los nevus, el principal determinante es la exposición solar, con una mayor densidad de nevus en las zonas fotoexpuestas (Wachsmuth RC, 2001).

Los melanomas desarrollados sobre nevus tienen mejor pronóstico que aquellos en los que no se encuentran restos de nevus (Carli P, 1999). En general se admite que los melanomas que se desarrollan sobre un nevus adquirido lo hacen en la juntura dermoepidérmica mientras que los que aparecen sobre nevus congénito pueden hacerlo a partir de cualquier zona del nevus, sobre todo en la parte más profunda lo



que dificulta el diagnóstico clínico y por tanto el tratamiento precoz con el consiguiente peor pronóstico (Alvarez de Mon M, 1997).

El 80% de los melanomas diagnosticados en los años 1988 y 1989 en el laboratorio de Dermatopatología de la *NY University Medical Center* se desarrollaron de novo, sin restos de nevus en la biopsia. El 20% restante se habían desarrollado sobre un nevus y en la mayoría de ellos se encuentra asociado un nevus de Clark (Ackermann AB, 1990).

Los nevus clínicamente atípicos o displásicos se consideran marcadores de riesgo y precursores directos de melanoma. El riesgo relativo varía de 2 hasta 14, según el estudio y el número de nevus. Se encuentra restos de nevus displásico en el 55.4% de MC y en el 71.4% de los MC desarrollados en pacientes con antecedentes de MC en los cinco años siguientes a la extirpación del primario (Stam-Posthuma J, 2001). La extirpación profiláctica de los nevus displásicos no elimina ni disminuye el riesgo de melanoma. Hay que extirpar aquellos nevus con algún carácter de sospecha o simplemente que no se puedan vigilar (Serrano Ortega S, 1992).

Síndrome FAMM (*Familial Atypical Mole and Melanoma Syndrome*): El riesgo de desarrollar un melanoma a lo largo de la vida es superior a 100. Se caracteriza por la presencia de más de 50 nevus, algunos con atipias y tamaño variable, antecedentes de melanoma en uno o más familiares de primero o segundo grado y algún nevus histológicamente atípico.

Los familiares de pacientes con melanoma tienen un riesgo mayor de desarrollar un MC que la población general. Suelen asociarse a múltiples nevus displásicos y melanomas primarios y fenotipo de riesgo. La edad de presentación es menor que la media, y el pronóstico parece más favorable, bien por un control más intenso, o porque se presentan con menor espesor. Aparece el melanoma familiar en un 5-10% de los casos.

Es conocido que el melanoma familiar es heterogéneo genéticamente. Los locus para el melanoma familiar se han identificado en el cromosoma 1p y 9p. Otras alteraciones genéticas se implican en la patogénesis del melanoma (De Braud F, 2003). Hay que tener en cuenta que, además de las alteraciones cromosómicas descritas, los miembros de una misma familia suelen tener unos rasgos fenotípicos similares y unos hábitos de vida comunes, con patrones de fotoexposición parecidos que aumentan la susceptibilidad.

En la prevención del MC es imprescindible el conocimiento de los nevus que clínicamente pueden ser nevus melanocíticos adquiridos, nevus clínicamente atípicos y nevus melanocíticos congénitos.

**a.- Nevus adquiridos.**

Son proliferaciones de melanocitos que aparecen en la infancia o después, y que progresan desde la situación intraepidérmica o juncional a la intraepidérmica e intradérmica (nevus compuesto) y posteriormente a la intradérmica. Histopatológicamente se distinguen varios tipos de nevus adquiridos que tienen el común denominador de formar teclas uniformes, ser simétricos, circunscritos, de límites bien definidos y que sus células maduran a medida que profundizan en la dermis. Se distinguen varios tipos anatomoclínicos:

- **Nevus juntural**: Los melanocitos proliferan y forman nidos o teclas en contacto con la juntura dermoepidérmica. Son más frecuentes en la infancia y se manifiestan como una lesión pigmentada plana, de color oscuro uniforme, tamaño diferente y con un retículo pigmentado uniforme formado por pigmento que se difumina de forma insensible en la piel de alrededor.

- **Nevus Compuesto**: Se considera una forma de transición. La progresión del tumor implica la aparición de nidos de melanocitos en la dermis papilar primero y luego con la dermis media y profunda, pero siempre mantienen el contacto con la juntura dermoepidérmica. Su aspecto es uniforme con un tamaño variable y una pigmentación regular, suelen estar algo elevados sobre todo en el centro que se ve más oscuro, rodeado de un retículo pigmentado uniforme.

- **Nevus Intradérmicos**: A medida que el nevus madura va perdiendo el contacto con la juntura dermoepidérmica y las teclas se localizan exclusivamente en la dermis. Son nevus más o menos elevados o verrugosos, con frecuencia tienen pelos y una pigmentación variable que incluso puede faltar. De acuerdo con su aspecto clínico se pueden distinguir cuatro tipos de nevus intradérmicos (Ackermann AB, 1990):

- **Nevus de Unna**. Se trata de un nevus maduro, exofítico, polipoide, verrugoso o papilomatoso, que aparece con más frecuencia en mujeres a partir de los 30 años de edad. Son del mismo color de la piel o están pigmentados y suelen medir menos de 1 cm de diámetro. Histopatológicamente se ven teclas en la dermis papilar y la dermis reticular no suele afectarse y casi nunca se ve componente juntural. Las teclas suelen disponerse formando cordones radiados en el componente papilomatoso. Las posibilidades de que sobre ellos se desarrolle un melanoma son escasas.

- **Nevus de Miescher**. Descrito por Miescher en 1935 (Miescher G, 1935). Son nevus exofíticos, hemisféricos, duros, de superficie lisa, y color ligeramente pigmentado. Son más frecuentes en las mujeres que en los hombres y el 90% se localizan en la cara, con mayor frecuencia en las mejillas (24%), la nariz (14%), barbilla (12%), frente (10%) y alrededor de la boca (8%). No suelen medir más de

medio centímetro de diámetro (Ackermann AB, 1990). La asociación con melanoma es también rara.

- Nevus de Spitz. Tumor de evolución benigna y apariencia histológica maligna. Descrito por Sophie Spitz en 1948 (Spitz S, 1948) es más un factor de confusión entre benigno-maligno que un precursor de melanoma (Spats A, 1996). Afectan por igual a ambos sexos y se localiza en las piernas, tronco, cabeza y cuello. Se trata de un nevus juntural o compuesto que se diferencia de los otros nevus adquiridos en dos hechos fundamentales, la presencia de melanocitos de gran tamaño y una gran variedad de cambios arquitecturales como la hiperqueratosis ortoqueratósica compacta con hipergranulosis, hiperplasia epidérmica irregular, fisuras entre las elongadas teclas de melanocitos y queratinocitos de alrededor y edema de la parte superior de la dermis con un moderado o denso infiltrado de linfocitos y presencia de telangiectasias. En la mayoría de los casos se encuentra “cuerpos de Kamino”. La asociación con melanomas se pone en entredicho (Ackermann AB, 1990).

- Nevus de Clark. Nevus adquirido descrito por Clark en 1978 (Clark WH, 1978) como un nevus con características clínicas e histológicas diferentes a las habituales que se presenta asociado a melanoma familiar. Posteriormente se describen distintas formas que difieren de la descripción original. El diagnóstico de sospecha se establece por la clínica ya que estos nevus son asimétricos, tienen los bordes irregulares, pigmento con varios tonos de color o eritema y su diámetro es superior a los 5-6 mm. Pueden ser de superficie levemente elevada, lisa o ligeramente mamelonada en el centro y plano en la periferia. Generalmente se localizan en el tronco. El diagnóstico se confirma por el estudio anatomopatológico que pone de manifiesto desórdenes arquitecturales con asimetría, fibroplasia subepidérmica (eosinofílica concéntrica y/o lamelar) e hiperplasia melanocítica lentiginosa con melanocitos de aspecto epitelioides o fusiformes agrupados en teclas de tamaño diferente e infiltrado linfocitario de intensidad variable. Pueden observarse o no atipias celulares que, en algunos casos, son tan alarmantes que es difícil diferenciar de un melanoma in situ (Metcalf JS, 1999).

b.- **Nevus congénitos.**

Son proliferaciones de melanocitos que aparecen ya en el momento del nacimiento. Todos los nevus congénitos (pequeños, menores de 1.5 cm, medianos, de entre 1.5 y 19.9 cm, y gigantes, mayores o iguales de 20 cm) se consideran precursores de melanoma cutáneo. Los principales indicadores de transformación maligna son el tamaño del nevus, la profundidad, la presencia de ulceración, la localización anatómica (axial), las satelitosis, y las variantes histológicas (Stephen K, 2002). De acuerdo con su tamaño se distinguen:

- Nevus congénitos pequeños. Su incidencia se establece alrededor del 1% de todos los recién nacidos de raza blanca (Paláu-Lázaro MC ,2008) y el riesgo acumulado de MC a lo largo de la vida en un individuo que supere los sesenta años oscila entre el 0.8 y 4.9 %. Cuando se considera el antecedente referido por el paciente, de nevus congénito pequeño, el riesgo de que se desarrolle un MC en el nevus es 21 y de 10 cuando sólo se tiene en cuenta la presencia de restos de nevus en el estudio histológico del MC. Su tratamiento no suele plantear problemas y debe realizarse de acuerdo con el riesgo de malignización. Algunos (Rhodes AR, 1982) recomiendan la extirpación profiláctica y otros cuestionan dicha conducta, por lo que el tratamiento debe individualizarse (Ruiz Maldonado R, 1999).

- Nevus congénitos medianos. No se ha establecido ni su incidencia ni el riesgo de malignización aunque deben ser intermedios entre los nevus pequeños y gigantes.

- Nevus congénitos gigantes. Se ha establecido una incidencia de uno por cada 20.000 nacimientos (Ruiz Maldonado R, 1999). El riesgo de desarrollar un MC es motivo de controversia, posiblemente por la escasez de series amplias. Los riesgos propuestos oscilan entre el 2 y 31% y se producen con mayor frecuencia en los primeros años de la vida (Clemente Ruiz de Almirón A, 2009), sobre todo en la zona paravertebral. Cualquier decisión terapéutica debe individualizarse (Ruiz Maldonado R, 1999).

### **c) Otras formas anatomoclínicas.**

Existen otros nevus que pueden ser precursores de MC.

- Nevus azul. Los nevus azules constituyen un cúmulo de melanocitos en la dermis, sin afectación epidérmica, producido por una detención anormal en la dermis durante el periodo embrionario de los melanocitos en su proceso de migración desde la cresta neural a la juntura dermoepidérmica. Se presenta como un nódulo de superficie uniforme y lisa, color azul metálico o negro azulado, generalmente de diámetro menor a 1 cm y bordes bien definidos. Suele aparecer en nalgas, región sacra, dorso de manos y pies. Su malignización es posible (Serrano S, 1986) comportándose como un melanoma de gran agresividad, lo que no hay que confundir con las “metástasis benignas” que producen alrededor del 5% los nevus azules celulares en los ganglios linfáticos regionales (Golddenhersh MA, 1988).

- Nevus spilus o nevus sobre nevus. Se trata de una mancha café con leche en la que hay un aumento numérico de melanocitos a lo largo de la juntura dermoepidérmica sobre la que se desarrollan pequeños nevus que le confieren un aspecto moteado. Es posible que sobre él se desarrolle un MC con una elevada agresividad (Armijo M, 1998).

#### **1.4.-Historia natural de la enfermedad.**

El melanoma representa un problema de salud importante. Su incidencia va en aumento, su mortalidad también y el consumo de recursos para su tratamiento es elevado (Almazán Fernández F, 2009). Además, es un tumor extremadamente vulnerable con índices de curación próximos al 100% cuando se diagnostica y trata precozmente.

En el proceso de carcinogénesis influyen tanto factores endógenos como exógenos que interactúan entre sí. La exposición solar como principal factor de riesgo es en la mayoría de los casos, el agente iniciador y promotor más importante. La radiación ultravioleta actúa sobre una piel con características heredadas (fototipo) con melanocitos normales y melanocitos alterados genéticamente (nevus comunes y nevus displásicos), iniciando un proceso de transformación, promoción, selección, y progresión que conlleva a la aparición del melanoma. Desde la primera descripción de etapas realizada por el grupo de trabajo de Clark (Clark WH, 1984) el melanoma se considera al inicio como una lesión in situ, limitada a la epidermis y sin capacidad de producir metástasis. En la fase de crecimiento radial el tumor va invadiendo las distintas capas de la epidermis, llegando a dermis con un potencial bajo de metástasis, y finalmente existe un crecimiento vertical, donde el melanoma se hace invasor con mayor riesgo de diseminación metastásica y un mal pronóstico. Esta secuencia histológica se relaciona a cambios a nivel genético y molecular. Se pasa de una estabilidad genética y ausencia de proliferación celular, a un daño reparable con una proliferación celular controlada y limitada, y por último a la inestabilidad genética con una proliferación incontrolada que se correlaciona con la evolución clínica de la enfermedad. Sin embargo, existe una gran heterogeneidad entre melanomas clínica e histológicamente similares. Podría explicarse por las diferencias genéticas e influencia molecular e inmunológica que interactúan en la patogenia del MC.

En la historia natural de la enfermedad distinguimos tres periodos: periodo de inducción, periodo de progresión, y diseminación de la enfermedad.

##### **a) Primer periodo: Período de inducción.**

En este periodo ocurre la transformación del melanocito normal en célula neoplásica. Se han demostrado cambios en los cromosomas 1, 6, 7, 9 y 12 relacionados con la patogenia de la enfermedad. En el 83, 66 y 61 % de los melanomas se encuentran reordenamientos en los cromosomas 1, 6 y 7

respectivamente, y en el cromosoma 9 en la mitad de los melanomas y en algunos nevos displásicos (Alvarez de Mon M, 1997).

El primer vínculo genético en casos de melanoma familiar se estableció en el cromosoma 1 (1p36), basándose en la existencia de nevos displásicos como fenotipo marcador de riesgo para melanoma, aunque actualmente está en desuso por la falta de especificidad en el diagnóstico de nevos displásico (Piepkorn M. 2000).

Al inicio se demostró como única alteración la pérdida o reordenamiento del cromosoma 9, existiendo en un 85% de los casos pérdidas hemicigóticas y homocigóticas en el 10%. En el cromosoma 9 (locus 9p21) se identifica un gen supresor de melanoma llamado gen supresor múltiple de tumores (MTS1 ó CDKN2), que codifica dos proteínas, la p16 y la p14ARF. La P16 es una proteína reguladora del ciclo celular que inhibe la actividad de la CDK4 y CDK6 (cyclin D1-cyclin-dependent kinase 4 and 6). La p14 actúa por la vía de p53 induciendo la muerte o apoptosis celular. La frecuencia de mutaciones en el gen CDKN2 varía en función del área geográfica, pero existe una relación directa con el número de melanomas en una misma familia. Se ha identificado en un 20% de familias con tres o más miembros afectados por la enfermedad y en un 10% de pacientes con melanomas múltiples que no tenían historia familiar (Goldstein AM, 2001).

En el estudio de Vozza y cols, se demuestra que la mayor alteración genética de entre las estudiadas se encuentra a nivel del cromosoma 9p21, con delección homocigótica del CDKN2A/p16 y CDKN2B/p15. Otros genes inhibidores ciclina dependientes como el p21 y p27, no se modificarían en las distintas líneas celulares (Vozza A, 2003).

Las alteraciones a nivel del cromosoma 6 provocan la pérdida o inactivación del gen supresor localizado en 6q22-6q27, que estaría relacionado con el crecimiento tumoral del melanocito, invasión vascular, y diseminación tumoral. Así mismo parece estar implicado el cromosoma 6p21.2, donde se localiza el gen WAF1, que actúa de forma similar al CDKN2 (Gonzalez Barón M, 1998).

En el cromosoma 12 (12q13) se ha identificado un nuevo gen de melanoma, el CDK4, con muy poca frecuencia de aparición, que parece actuar como oncogen con resistencia a la inhibición fisiológica de p16 (Goldstein AM, 2001).

Genes supresores y oncogenes. El melanoma cutáneo es genéticamente heterogéneo. Las alteraciones genéticas en el melanoma se desarrollan en función de dos tipos de genes definidos como genes supresores de tumor, que regulan a la baja, y oncogenes con una regulación al alza. Mutaciones o delecciones en éstos suponen una desregulación en el crecimiento celular con una tendencia a la malignidad.

- Oncogenes Ras. Los oncogenes Ras fueron los primeros que se implicaron en la fisiopatología del cáncer humano (Barbacid M, 1987). Esta familia de oncogenes se localizan en distintos cromosomas y se denominan H-ras, K-ras y N-ras porque se encontraron en los genomas de los virus de ratas *Harvey*, *Kirsten* y en Neuroblastomas respectivamente. Las mutaciones que se producen en la familia de oncogenes Ras, que codifican la proteína p21 Ras, se han implicado en la etiología del melanoma. Mutaciones puntuales en los codones 12, 13 y 61 convierten a la proteína Ras normal en una forma oncogénica (Bos J, 1988). Éstas aparecen en un momento concreto de la progresión del melanoma primario y no existen en las lesiones precursoras ni en los primeros estadios del tumor, no siendo necesarias para la iniciación del melanoma. Así mismo, no se requiere su sobreexpresión para la formación de metástasis o aumento de la proliferación celular. Sin embargo, la mayoría de las mutaciones aparecen en tumores que inician el crecimiento vertical con un comportamiento más agresivo. En el 24% de las líneas celulares estudiadas se encontraron mutaciones en el codon 61 de los genes Ras y sólo se encontraron en el 5 a 6% de los melanomas primarios o metastásicos, pero no se vieron ni en nevus pigmento celulares ni en los displásicos, lo que sugiere por una parte, una acción importante de la radiación ultravioleta en algunos melanomas y, el hecho de no encontrarse en lesiones precursoras sugiere que la mutación genética se produce en el momento de la iniciación (Sáez-Castresana J, 1998). En otros estudios se encuentran porcentajes similares lo que sugiere que estos genes están implicados en la etiología de algunos MC pero no en todos los casos. Las mutaciones en los genes de la familia Ras no se encuentra en los melanomas in situ y ya aparecen en melanomas con niveles II y III de Clark, por lo que participarían en la fase de progresión de la enfermedad, asociados al crecimiento vertical (Ball NJ, 1994; Heidorn SJ, 2010).

El papel que juega la radiación ultravioleta en el origen de la mutación de los genes Ras se confirma por el hecho de que en MC localizados en zonas habitualmente expuestas se encuentran mutaciones en el 56% de los tumores y sólo en un el 21% de los MC que se localizan en zonas no expuestas (Ball NJ, 1994), situación que se confirma en un trabajo posterior en el que se encuentran mutaciones en N-ras en el 26% de los MC localizados en zonas expuestas y en 0% de otras localizaciones, y eran más frecuentes en pacientes australianos (24%) que en los europeos del norte de Europa (12%) (Van Elsas A, 1996).

- Genes supresores. En el ciclo celular existen reguladores positivos y negativos que controlan la proliferación celular. Son complejos proteicos de ciclinas y cinasas

dependientes de ciclina (CDK), las D1, D2, D3, y las CDK4 y CDK6 que controlan la fase G1 del ciclo celular. Cualquier alteración en éstos favorece la génesis tumoral. Estos complejos son inhibidos por otras proteínas de bajo peso molecular como la p16, p15, y p18 que al sufrir deleciones o mutaciones, llevan a un crecimiento descontrolado comportándose como genes de supresión tumoral

- p16.- El gen p16 está situado en el cromosoma 9p21 y regula negativamente al complejo ciclina D/CDK4 inhibiendo su función, por inhibición de la fosforilación de la proteína del riboblastoma (RB). La supresión del gen p16 se debe a que la RB hipofosforilada es activo, se une al factor de transcripción E2F, impidiendo que éste ejerza su función en el ciclo celular, mientras que RB hiperfosforilado por la acción del complejo es inactiva liberándose de E2F que actúa libremente activando otros genes de la división celular (Piepkorn, 2000). La pérdida de expresión del p16 no es necesaria para la iniciación del tumor y está más relacionada a la capacidad invasiva y metastatizante del tumor (Li N, 2002).

- p53.- El gen p53 es el gen supresor que se muta con mayor frecuencia en el cáncer humano. Está situado en el cromosoma 17p, contiene 11 exones, del 5 al 8 son los que mutan con mayor frecuencia. Existen estudios que intentan demostrar mutaciones en p53 que influyan en la progresión tumoral de melanoma, mostrando una escasa probabilidad. Respecto a la expresión de p53 existen datos contradictorios, aunque la mayoría de los estudios coinciden que es mayor en lesiones avanzadas de espesor mayor de 1.5.mm , recidivas o metástasis, con función similar al antígeno Ki67, otros muestran resultados similares entre lesiones primarias y metastásicas, e incluso a favor de las primeras. Puede ser debido a las diferentes técnicas de inmunohistoquímica utilizadas y al material de estudio (Li N,2002). La p53 se expresa en la mayoría de melanomas, aunque sólo se encuentra mutada en el 15% de melanomas y se asocia con invasión tumoral y mal pronóstico. Además, podría ser un índice de quimiorresistencia. In Vitro se ha demostrado que junto a p53, actúa sobrerregulando a p21 un nuevo gen supresor de tumores, el p33-ING1, que se involucra en la apoptosis, reparación del ADN, y respuesta a tratamiento (Campos EI, 2002). La pérdida de la heterogeneidad de la p53 podría ser una de las causas de la falta de expresión de esta proteína que invalidaría los resultados de muchos de los estudios realizados (Ruiz Villaverde R, 2003; Serrano Falcon MªM, 2001).

- NF1.- El gen de la susceptibilidad a la neurofibromatosis tipo I (NF1) descubierto en 1987, se ha implicado como gen supresor en gran cantidad de tumores de forma independiente al padecimiento de la neurofibromatosis. Está localizado en el



cromosoma 17 y codifica una proteína, la neurofibromina, que comparte homología con el dominio catalítico de la proteína Ras activadora de GTPasa (ras GAP). El dominio GAP de la neurofibromina ejerce una regulación negativa sobre Ras y si no existe, Ras queda en estado GTP permanente estimulando la proliferación celular de forma descontrolada. Se ha encontrado mutación a este nivel en la neurofibromatosis y de forma esporádica en el adenocarcinoma de colón, síndrome mielodisplásico, astrocitoma anaplásico, neuroblastoma y en el melanoma. Respecto a la inactivación del NF1 en la génesis y progresión del melanoma, los resultados son contradictorios, ni se excluye ni se afirma como gen supresor.

- Otros genes: Se ha descrito la posible participación de otros genes de carácter supresor. La pérdida o inactivación del gen supresor localizado en 6q22-6q27 se relaciona con la invasión vascular. Las mutaciones en el gen WAF1 localizado en 6p21.2, tiene una función similar a la CDKN2 y el NM23 cuya expresión está disminuida en células metastásicas. Los genes relacionados con la apoptosis celular parecen jugar un factor importante en la patogenia del MC y se ha visto que un aumento de la expresión de Bcl2 posibilita la supervivencia de las células con ADN alterado (Sáez Castresana J, 1989).

La radiación solar se comporta como iniciador y promotor del melanoma cutáneo. Se ha demostrado la influencia de la radiación solar sobre los genes Ras. La radiación ultravioleta muta el gen N-ras preferentemente en el codón 61, de forma más frecuente en las zonas expuestas a la luz (56%) que en las no expuestas o de exposición intermitente (21%) (Ball NJ, 1994). Parece que p53, al igual que ocurre con la familia de genes Ras, también sufre mutaciones inducidas por la radiación solar, siendo más frecuentes las transiciones de C a T en lugares de dipirimidinas. Aunque no se ha demostrado para el melanoma cutáneo, si lo ha sido en carcinomas basocelulares y espinocelulares. Más clara es la implicación de la luz solar en las alteraciones del gen p16, encontrándose transiciones de C a T, y en menor número de casos dobles mutaciones (CC a TT), típicas de las producidas por la luz ultravioleta.

#### b) Segundo periodo: Periodo de progresión.

El crecimiento del melanocito depende de una serie de señales que modulan la transcripción de diferentes genes y su propia actividad metabólica.

- Invasión local. Las células invasoras de MC necesitan progresar a través de la dermis, por lo que precisan de una variedad de moléculas de adhesión, factores de motilidad y receptores. Las moléculas de adhesión CAM (*Celular Adhesion Molecule*) juegan un papel primordial en la unión de la célula tumoral a la matriz extracelular.

Destacan tres familias; la familia de las inmunoglobulinas ICAM (Intercelular Adhesion Molecule), la VCAM (Vascular Cell Adhesion Molecule) y la Mel-CAM (Melanoma Cell Adhesion Molecule), la familia de las integrinas y las cadherinas y por último, las selectinas que intervienen en la interacción entre linfocitos y neutrófilos con las células endoteliales de los vasos y el CD44.

La molécula de adhesión intercelular (ICAM1) se ha asociado a melanoma. Su expresión es más fuerte y más frecuente en tumores melanocíticos malignos que benignos y tiene una relación directa con el espesor del tumor. La Mel-CAM, de la familia de las inmunoglobulinas, se expresa en todos los melanomas primarios y metastáticos y su expresión se relaciona con el espesor del tumor y el potencial metastático de la enfermedad, aunque no es específica de melanoma (Graus A, 1997).

La familia de las Cadherinas constituye un grupo amplio de moléculas de adhesión calcio dependiente de las cuales la E-Cadherina es la más estudiada en relación al MC. Interviene en la interacción de los melanocitos epidérmicos con los queratinocitos vecinos. Se expresa en nevocitos y melanocitos normales y se pierde en células de melanoma invasor o metastático. No hay estudios hasta ahora enfocados a su valor pronóstico (Silye R, 1998).

Las Integrinas son glicoproteínas transmembrana formadas por dos subunidades, alfa y beta, unidas por un enlace no covalente que actúan en la interacción célula-célula y célula-matriz extracelular. La expresión de  $\beta 1$  y  $\beta 3$  integrinas se ha relacionado a la progresión del MC y la aparición de metástasis de tal forma que se encuentra ausente o baja en la fase de crecimiento radial y aumenta en la fase de crecimiento vertical y en melanomas metastáticos. También se ha observado un incremento con el espesor del tumor, y con la recidiva de la enfermedad (Hieken TJ, 1999).

Para que se cumpla el último paso de la invasión, la migración celular, es preciso que las células tumorales atraviesen la membrana basal y el estroma estimuladas por factores quimiotácticos producidos por células normales y tumorales y por componentes de la matriz como laminina, fibronectina y colágeno IV. En la piel normal se producen una serie de factores solubles que impiden o dificultan la invasión local del tumor en los estadios iniciales. Los fibroblastos producen una sustancia capaz de inhibir el crecimiento local del tumor cuando su tamaño es muy pequeño, pero no después. Igual ocurre con otras citocinas como la IL-6, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TNF-  $\alpha$  y  $\beta$ , pero los melanocitos de melanomas invasivos ya no responden a estos estímulos inhibitorios. En la proteólisis de la membrana basal están implicadas varias

proteinasas que se producen por la interacción de las células tumorales con la matriz extracelular. Hay dos familias de proteinasas, unas dependientes del sistema plasmina activador del plasminógeno y las metaloproteinas (MMP) de las que se distinguen varios tipos como las colagenasas intersticiales, las estromelinas y la colagenasa tipo IV, en íntima relación con la invasión vascular.

- Factores de crecimiento. Se trata de un grupo de citocinas cuya función común es estimular el crecimiento celular. Entre ellas están el factor de crecimiento básico de fibroblastos (bFGF), el más importante, el de hepatocitos, y el de insulina, que al inhibirse o al suprimir su traducción limitan el crecimiento del melanoma. La citocina denominada estimuladora del crecimiento del melanoma o MGSA/GRO, tiene actividad promotora y su sobreexpresión se asocia a la transformación tumoral. La IL-8 se comporta de la misma forma. Otras como el factor de crecimiento alfa y el factor de crecimiento epidérmico, también poseen efecto inductor de la proliferación de melanocitos transformados, además de verse implicados en la inducción de la neoangiogénesis. El factor de crecimiento de plaquetas y la IL-1 son otras citocinas con actividad autocrina en el melanoma. Con efecto supresor, con actividad inhibidora del crecimiento, se han descrito la IL-6 y el factor de crecimiento de colonias granulocito-macrofago (Alvarez-Mon M, 1997).

En las transformaciones genéticas que experimenta la célula tumoral se producen anomalías en los mecanismos enzimáticos que regulan estos procesos metabólicos, produciéndose una síntesis anómala y espontánea de algunos factores de crecimiento que se encargan de estimular a la propia célula y perpetuar sus anomalías y su crecimiento.

El factor básico de crecimiento de fibroblastos (bFGF) es un factor esencial para el crecimiento de las células de MC desde el principio de la transformación tumoral. Es el factor que se expresa de forma más uniforme en las células del melanoma y no lo hace en los melanocitos normales. Si se inhibe, se detiene la proliferación de células tumorales tanto in vivo como in vitro. Además, tiene un efecto mitogénico sobre otras células como queratinocitos, fibroblastos, y células endoteliales. Se ha relacionado con el crecimiento del tumor en la fase vertical. No hay diferencias en cuanto a su expresión en función del espesor tumoral ni en las recidivas tumorales (Redondo P, 2003)

El factor de crecimiento de plaquetas (PDGF) es una citocina con actividad autocrina en el MC ya que sus células producen PDGF y expresan el receptor (Westermarck B, 1986).

El factor de crecimiento TGF- $\alpha$  es un factor de crecimiento con una elevada homología con el EGF y comparte el mismo receptor. Su receptor se expresa en el 60% de las líneas celulares de melanoma, tanto in vitro como in vivo. Se ha demostrado que los niveles de TGF- $\alpha$  en orina disminuyen cuando se extirpa un melanoma (Westermarck B, 1986) y está relacionado con síndromes paraneoplásicos asociados a melanoma.

El factor de crecimiento TGF- $\beta$  es un factor de crecimiento negativo para los melanocitos, y puede tener un efecto supresor en el desarrollo del MC. Las células de MC no son sensibles a los efectos inhibitorios del TGF- $\beta$  que se produce en un 60% de los melanomas. Todos los melanocitos, los normales y los tumorales, expresan su receptor. Aunque tanto el TGF- $\beta$ 1 como TGF- $\beta$ 3 se expresan en células melánicas tumorales y no tumorales, se ha visto que TGF- $\beta$ 2 sólo se sintetiza por las células de MC, por lo que cobra interés en la invasión tumoral y desarrollo de metástasis. Puede además existir una correlación del TGF $\beta$  con el VEGF (factor de crecimiento vasculo endotelial) y con el bFGF, de tal forma que actúa con actividad paracrina ayudando a la regulación de la melanogénesis y de la angiogénesis por la promoción de estos dos últimos factores (Redondo P, 2003).

Se han detectado niveles aumentados de otras citocinas en el suero de pacientes con melanoma, como son las interleuquinas (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10), receptor soluble de la IL-2, y moléculas de adhesión celular. Su papel en la patogenia del melanoma es aún desconocido. No son específicos de melanoma y no se consideran por su baja sensibilidad y especificidad, como verdaderos marcadores de MC.

La Interleucina 1 (IL1) la producen en las células de Langerhans, queratinocitos, fibroblastos y monocitos. Las células de MC producen una IL1 $\alpha$ -like en algunos tumores primitivos y en muchos metastásicos (Bennicelli JL, 1989).

La Interleucina 10 (IL10), aunque se ha considerado como un factor de crecimiento para MC, su papel en la progresión tumoral se relaciona más con la inmunosupresión sobre células T. Cuando se expresa, las células dendríticas se convierten en anérgicas, disminuyendo la respuesta inmune normal del huésped al tumor. Se ha encontrado elevada en estadios avanzados de MC, pero no todas las metástasis de MC producen y segregan IL-10. (Redondo P, 2003).

- Factores angiogénicos.- En la progresión de la enfermedad se produce un crecimiento del número de células tumorales que precisan mantener su viabilidad y nutrición adecuada. Cuando un tumor mide menos de 2 mm de diámetro las células tumorales se nutren por difusión, pero para alcanzar mayores dimensiones es preciso un adecuado aporte de nutrientes que se consigue con la formación de nuevos vasos,

consecuencia de la respuesta a factores de crecimiento angiogénicos que producen las células tumorales y las del estroma. Los factores angiogénicos más comunes son el aFGF y bFGF (factor de crecimiento de los fibroblastos ácido y básico respectivamente), el VEGF (factor de crecimiento del endotelio vascular), VPF (factor de permeabilidad vascular), PDECGF (factor endotelial dependiente de plaquetas), los factores de transformación a y b (TGFa y TGFb), la angiogenina, angiofibrina y el TNF- $\alpha$ .

Puede suceder que el aporte vascular no sea suficiente para mantener la viabilidad de las células tumorales, bien porque el crecimiento del tumor haya sido muy grande y rápido o porque no se hayan formado todos los vasos necesarios. En esta situación se produciría en mayor o menor grado, una hipoxia que las células de MC resisten perfectamente al reducir su consumo energético. El aumento de la red de vasos linfáticos (linfangiogénesis) es de gran importancia en la aparición de metástasis ganglionares. Se ha demostrado una tupida red linfática peritumoral que contrasta con la pobreza de linfáticos neoformados en el seno del tumor (De Waal RM, 1997).

El VEGF es un factor mitogénico potente para las células del MC y el mayor regulador de la angiogénesis, promueve el crecimiento del tumor y a la vez estimula su vascularización. Se ha asociado, al igual que el bFGF, con el crecimiento en la fase vertical del MC. A diferencia del bFGF, el VEGF sí ha mostrado diferencias en función del espesor tumoral haciéndose positivo en los MC con espesor de Breslow mayor a 1.5 mm y en MC metastáticos. El origen tumoral de esta citocina se ha demostrado en otros cánceres (pulmón, estómago, tiroides y ovario). De todas formas aún faltan estudios más amplios para considerarlo un factor útil en el pronóstico del MC (Redondo P, 2003).

### c) Tercer periodo: Diseminación de la enfermedad.

La aparición de metástasis está en función de la interacción de factores propios de las células tumorales con otros del huésped. Pueden producirse por vía linfática y sanguínea. La secuencia es progresiva. Después de la primera transformación maligna de un melanocito se forman distintas poblaciones celulares que dan lugar al tumor primitivo. Cuando aumenta la masa tumoral se produce mayor vascularización sanguínea y linfática, que clínicamente se traduce en una hipertermia local. Después algunas células empiezan a invadir el estroma y como consecuencia de la secreción de proteinasas, se produce la infiltración de la pared vascular de los pequeños vasos linfáticos y venas neoformadas muy finas y poco resistentes. Los receptores para la matriz extracelular del grupo de las moléculas de adhesión, sobre todo las integrinas, regularán no sólo el paso de las células tumorales a través del intersticio sino también

la interacción con la membrana basal del vaso. Con la invasión vascular se ponen en la circulación células tumorales que por una u otra vía, producen pequeños émbolos que si logran sobrevivir, se detendrán en la luz de algún capilar desde donde después de romper su pared, se desarrollarían en el parénquima de cualquier órgano donde originarían las metástasis. Si las condiciones son favorables, el proceso continúa y a partir de estas metástasis pueden iniciarse nuevos procesos metastáticos que terminarían generalizando la enfermedad (Carrillo E, 2006).

**Respuesta inmune del huésped frente a melanoma.** La transformación neoplásica de la célula tumoral implica la aparición de estructuras proteicas extrañas para el organismo con capacidad antigénica que son la base de la respuesta inmune del huésped frente al tumor.

Para que la respuesta inmune sea eficaz es preciso que existan antígenos, que éstos sean presentados adecuadamente a los linfocitos T, y que se genere una respuesta citotóxica eficaz.

**Antígenos tumorales.**- No se ha encontrado un modelo específico de inmunoreactividad en los MC primitivos frente a los antígenos de diferenciación asociados a la transformación maligna de la célula (Pierard-Franchimont C, 1998)

Se distinguen varios tipos:

**Antígenos de diferenciación,** que normalmente no se encuentran en las células de las que deriva el tumor y sólo se presentan en determinadas fases de la diferenciación celular.

**Antígenos asociados a tumor (TSA)** que se originan directamente en la célula tumoral como consecuencia de los cambios en sus proteínas durante el proceso de diferenciación neoplásica. Estos TSA constituyen la mayoría de los antígenos y se expresan en las células tumorales y en otras células normales. Pueden ser los antígenos oncofetales o de diferenciación (Melan-A/Mart-1, tirosinasa, gp100/pMel 17), los antígenos derivados de la sobreexpresión de moléculas en células tumorales (gangliósidos GM1, GM3, y GD2 que se expresan en tumores de origen neuroectodérmico y mucinas MUC-18 en melanomas metastáticos), los antígenos silentes (MAGE-1 y MAGE-3) frente a los que se genera una respuesta citotóxica de linfocitos T y por último, los antígenos secundarios a la glicosilación aberrante de proteínas y lípidos en las células tumorales (antígeno sanguíneo de tipo A en tumores gastrointestinales) (Benacerraf B, 1986).

**Antígenos específicos de tumor** o antígenos asociados a melanoma (MAA) se pueden clasificar en tres grupos: Antígenos específicos de un determinado melanoma, antígenos que se encuentran en melanomas de distintos individuos pero no en otros, y

los antígenos no específicos de melanoma que se pueden presentar en otros tumores de células neuroectodérmicas (neuroblastoma, gliomas, etc), antígenos oncofetales ( $\alpha$ -fetoproteína y antígeno carcinoembrionario) y antígenos del sistema HLA (Houghton AN, 1992).

En general, los antígenos que se observan en las células de melanoma se agrupan en cuatro tipos. Los que no se expresan por los melanocitos normales, los que se expresan sólo por los melanocitos fetales y de recién nacidos pero no por los de los adultos, los que sólo se expresan en los adultos pero no en los demás, y los que se expresan en todos los melanocitos. Los antígenos que no se expresan en los melanocitos se detectan sólo en MC muy indiferenciados; los que sólo se expresan en melanocitos de fetos y recién nacidos marcarían células tumorales en un estadio intermedio de diferenciación y los que se expresan sólo en los melanocitos adultos marcarían estados finales de la diferenciación. Esta diferenciación es la responsable de la heterogeneidad característica de los melanomas, más intensa cuanto más avanzada esté la enfermedad (Houghton AN, 1987).

Antígenos de histocompatibilidad. El sistema HLA está formado por un grupo de genes localizados en el brazo corto del cromosoma 6. Se clasifican en tres grupos:

Los HLA de Clase I (A, B y C) intervienen en la fase de reconocimiento y contacto entre el linfocito y la célula diana en la respuesta citotóxica y se expresan en la mayoría de las células y en los melanocitos normales. Las moléculas de clase I son marcadores de lo propio para los linfocitos T citotóxicos que sólo podrán ejercer la respuesta citotóxica en aquellas células que expresen estas moléculas.

- Las moléculas HLA de Clase II (DP, DQ y DR) intervienen en la comunicación entre células del sistema inmune. Las expresan los linfocitos B, linfocitos Th activados y las células presentadoras de antígenos. En condiciones normales los melanocitos no las expresan (Holzmann B, 1987). Son necesarias para la presentación de antígenos a los linfocitos Th. Si no se realiza la presentación de forma adecuada se altera la respuesta inmune en su primer paso. La pérdida de expresión de moléculas de Clase I conlleva la neoexpresión de moléculas de Clase II, que las hace insensibles al ataque de los linfocitos T citotóxicos, por lo que este desequilibrio se relaciona con la progresión de la enfermedad (López Nevot MA, 1986; García Lora E, 1989) .

- Las moléculas HLA de Clase III incluyen los componentes del complemento C2, C4 y Bf y participan en la lisis celular y en la inflamación.

Nuestro grupo de trabajo demostró que la progresión del MC está asociada a cambios en la expresión de antígenos HLA de Clase I y II estableciendo una relación con parámetros clínicos (termografía), histológicos ( Nivel de Clark, espesor de Breslow e intensidad del infiltrado) y evolutivos (Estadio evolutivo), y que la disminución de

moléculas de clase I refleja la incapacidad de las células citotóxicas para reconocer y destruir las células tumorales que se traduciría en un mayor crecimiento de éstas y aparición de metástasis. Con la expresión de moléculas de clase II se estimula linfocitos supresores, creándose una inmunotolerancia que favorecería la diseminación de la enfermedad (Lopez Nevot MA, 1986; García Lora E, 1989).

Respuesta inmune. El objetivo principal de la respuesta inmune es la destrucción de la célula tumoral y/o su anulación funcional. Una vez presentado el antígeno se generan dos tipos de respuesta de acuerdo con los linfocitos efectores: respuesta mediada por linfocitos B y respuesta mediada por linfocitos T y células NK. La acción de los anticuerpos en la destrucción de la célula tumoral parece ser indirecta uniéndose a la célula para facilitar su opsonización y fagocitosis por parte de los macrófagos o mediante citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos. La respuesta de los linfocitos T está mediada por los linfocitos citotóxicos. Los linfocitos Th1 (CD4), restringidos por el HLA de clase II, regulan los linfocitos citotóxicos, NK y macrófagos por la secreción de IL-2 e INF- $\gamma$  que estimulan a los linfocitos citotóxicos (CTL) ó CD8, que lisan directamente la célula neoplásica mediante un reconocimiento específico de la célula tumoral restringido por moléculas HLA de clase I. La lisis celular inducida por células NK y macrófagos no está restringida por moléculas del sistema HLA.

En los fenómenos de regresión del MC están implicadas las citocinas producidas por los CD4-Th1 y no las que producen los Th2 (Lowes MA, 1997).

La respuesta inmune tiene lugar tanto en el propio tumor como en sangre periférica para destruir las células circulantes de MC que originarían nuevas metástasis. En sangre periférica la inmunovigilancia está a cargo fundamentalmente de monocitos y células NK, pero no de los linfocitos T (Itoh K, 1992).

Escape inmunológico: El crecimiento del tumor en presencia de un sistema inmune normal se explica porque el propio tumor produce sustancias capaces de bloquear la respuesta citotóxica o bien porque a lo largo del crecimiento del tumor, se destruyen grupos celulares sensibles y resisten otros grupos de células poco o nada inmunogénicas. Todo ello produce un “escape tumoral” con progresión de la enfermedad y muerte del paciente.



### **1.5.- Formas anatomoclínicas.**

En la Unidad de Melanomas del Hospital Universitario San Cecilio de Granada el 17,4% fueron LMM, el 54,8% MES, el 20,5% MN y el 7,3% MLA (Martín Casañez E, 1997), con una incidencia de metástasis menor para el LMM mientras que el MES, el MN y el MLA tienen una tasa de metástasis 2.9, 4.1 y 4.6 veces superior al LMM. Estas cifras coinciden con las de De Braud, siendo la forma más frecuente el MES (65%), seguido del MN (25%), MLA (5%) y el menos frecuente el LMM (De Braud, 2003).

Melanoma de Extensión Superficial (MES): Es la forma anatomoclínica más frecuente de MC en individuos de raza blanca, con una localización preferente en los miembros inferiores de las mujeres y en la espalda de los hombres. Tiene un patrón de crecimiento bifásico, radial u horizontal al inicio (intraepidérmico), seguido de una fase de crecimiento vertical que corresponde a la invasión secuencial de dermis e hipodermis. Su historia natural es lenta, con un promedio de 1 a 5 años. Clínicamente es muy polimorfo, puede aparecer como un tumor pigmentado, policromo, que al principio es plano, de bordes irregulares y asimétrico, y posteriormente se eleva, incluso con la aparición de un nódulo en cualquier sitio de su superficie, de color azulado negruzco, negro, marrón gris o amelanótico, que pronto tiende a ulcerarse con una secreción serohemorrágica. La aparición de metástasis por vía linfática y/o hemática es frecuente (De Braud F, 2003).

El cuadro anatomopatológico se caracteriza por cúmulos de melanocitos atípicos relativamente uniformes, de citoplasma grande con abundancia de pigmento fino y polvoriento. Es poco frecuente el pleomorfismo celular, más característico del LMM. En fases más avanzadas es muy frecuente la agrupación de melanocitos en tecas que a diferencia del LMM, se encuentran en todas las capas de la piel. Se pueden diferenciar células con aspecto pagetoide, más frecuente en las zonas hiperpigmentadas algo elevadas, que obliga a técnicas especiales para diferenciarlo de la enfermedad de Paget. En otros casos se plantea el diagnóstico diferencial con el nevus de Spitz, siendo característico de las células de MC los cúmulos de cromatina y una membrana nuclear irregularmente engrosada (Alvarez de Mon, 1997).

Léntigo Maligno Melanoma (LMM): Representa el 15% de todos los tumores de cabeza y cuello. Se localiza casi de forma exclusiva en la piel fotoexpuesta de la cabeza y cuello en personas de edad avanzada. Su crecimiento también es bifásico, con una evolución algo más lenta, entre 5 y 50 años. En una proporción variable entre el 5% y 50% de los casos se desarrolla sobre una lesión precursora (Lentigo Maligno, melanosis precancerosa de Dubreuilh o peca maligna de Hutchinson) (Weinstock MA,

1989). Lo más frecuente es que se presenten como tumores planos con varios tonos de negro y grises, de contorno geográfico y tamaño variable sobre los que se desarrolla un nódulo de pocos milímetros que corresponde a la segunda fase de crecimiento. Cuando es palpable nos indica MC invasor con plena capacidad metastásica (Kelly JW, 1992; Porras BH, 1997)

En el LMM, los melanocitos se distribuyen de forma numerosa a lo largo del estrato basal en las áreas pigmentadas de tono claro. Cuando domina el negro, las células forman una lámina a nivel de la unión dermoepidérmica. Los melanocitos atípicos se continúan por el folículo pilosebáceo y llegan a extenderse por el acrosiringio de las glándulas sudoríparas, motivo de recidiva local tras la extirpación insuficiente del tumor. En la dermis se encuentran linfocitos y macrófagos cargados de melanina. Siempre existe pigmento abundante. Con el paso del tiempo se forman nidos de melanocitos (fase de invasión vertical) que corresponden a los nódulos en la superficie del tumor (Serrano Falcón M<sup>a</sup>M, 2001).

Melanoma Lentiginoso Acral (MLA): Su frecuencia es muy variable en función de las razas, poco frecuente en nuestro medio y muy frecuente en individuos de raza negra (60-72%). Aunque su crecimiento también es bifásico, la fase de crecimiento radial es de duración generalmente corta e inadvertida lo que conlleva a un retraso del diagnóstico, la mayoría cuando ya el tumor es invasivo. El mal pronóstico del MLA se debe más a este hecho que a diferencias en el comportamiento biológico del tumor.

Se localiza con mayor frecuencia en la piel de las palmas de las manos y las plantas de los pies y en el aparato ungueal. No todos los MC de esta localización corresponden a MLA, sólo un 68% corresponden a un MLA (Hayes IM, 1995).

Melanoma Nodular (MN): Tumor con patrón de crecimiento monofásico, invasor desde el principio, sin fase de crecimiento radial. Es la forma anatomoclínica más agresiva con una evolución media de 6 a 18 meses. Se localiza principalmente en tronco, cabeza y cuello, y se manifiesta como un tumor de aspecto globuloso, nodular y a veces pediculado, pigmentado, aunque en un 5% de los casos es del color de la piel normal (MN amelanótico), situación que dificulta el diagnóstico. El diagnóstico diferencial hay que establecerlo con el granuloma piógeno, hemangioma, poroma ecrico y nevus azul entre otros.

El MN se origina en la unión dermoepidérmica y se extiende hacia dermis, como un tumor invasivo de aspecto cupuliforme, con células atípicas de diferente morfología, fusiformes o epitelioides entremezcladas.

En ocasiones el crecimiento nodular, tanto en el MN como en los nódulos de los SSM

y LMM, toma una morfología polipoide, con escasa invasión en profundidad pero con un gran volumen tumoral. Son los llamados melanomas polipoides en los que el nivel de invasión suele ser bajo pero el espesor es muy alto (Alvarez de Mon, 1998).

Otras formas de melanoma. Las presentaciones clínicas de los melanomas son muy variadas y a veces se diferencian claramente de las formas clásicas descritas, tanto en su aspecto como en su comportamiento biológico (Barnhill RL, 2009).

Melanomas Nevoides: Adquieren una arquitectura muy parecida a los nevus con una diferenciación muy complicada ya que no se han establecido aún criterios de consenso (Barnhill RL, 2009). La mayoría de los casos se han descrito en mujeres con predilección por las piernas y tronco. En la mayoría de las ocasiones no cumplen los criterios de melanoma. Suelen medir menos de 5 a 7 mm de diámetro, pueden no ser asimétricos, carecer de crecimiento pagetoide e incluso puede observarse una maduración de las células en profundidad. Son criterios de sospecha, la presencia de mitosis en el componente dérmico, las anomalías nucleares y el angiotropismo. El pronóstico y tratamiento es igual que los demás melanomas.

Melanoma spitzoide, de apariencia clínica similar al nevus de Spitz con una histología donde es característica la formación de nidos de melanocitos con atipias nucleares que a diferencia del nevus de Spitz, no maduran en profundidad, y la presencia de figuras mitóticas en la base del tumor. La mayoría de diagnósticos se han establecido de forma retrospectiva en aquellos casos que se diagnosticaron de “nevus de Spitz” y posteriormente hicieron metástasis.

En general los nevus de Spitz suelen ser menores de 5 mm de diámetro, con bordes bien definidos, simétricos, de color rosado aunque en el 10 % pueden ser pigmentados, y afectan a individuos de menos de 20 años y se localiza en la cara y extremidades. Cuando estos parámetros no ocurren hay que pensar en un “melanoma spitzoide” con unos signos de sospecha en la biopsia bastante bien definidos: Diámetro mayor de 1 cm, invasión en profundidad hasta la grasa, asimetría, presencia de ulceración, crecimiento pagetoide, cuerpos de Kamino, ausencia de maduración, número de mitosis, entre otros signos que se pueden presentar tanto en melanomas como en nevus de Spitz (Barnhill RL, 2009). En estos casos de tumores Spitzoides dudosos, la realización de la biopsia selectiva del ganglio centinela puede aportar más información diagnóstica (Murali R, 2008).

Melanoma Desmoplásico: Son tumores raros, con un comportamiento muy agresivo, y una tasa alta de recidiva local. La mayoría se localizan en la piel de la cabeza y el cuello expuesta al sol, en personas de edad avanzada. Se observan como un tumor

pigmentado de tonalidades diferentes, con aspecto morfeiforme debido al componente fibroblástico. La palpación es firme, similar al tejido fibroso y cicatricial (Porras BH, 1997). En general, estos tumores suelen desarrollarse asociados a Léntigo Maligno, sobre piel fotodañada o sobre cicatrices de quemaduras (Lee JY, 1992).

Desde el punto de vista histológico aparece como un nódulo fibroso de tejido colágeno denso que reemplaza la dermis reticular, y entre éste células de melanoma hipercromáticas y fusiformes dispersas, melanófagos y más o menos mucina. Es característica la infiltración del endoneuro y perineuro de los nervios cutáneos.

Melanoma con desviación mínima: Se describe como un tumor de crecimiento nodular sin la agresividad de las células atípicas encontradas en los melanomas convencionales. La historia natural de este melanoma es más benigna y se asocia a una baja potencialidad metastásica (Mihm MC, 1990; Porras BH, 1997).

Nevus Azul Maligno: El Nevus Azul Maligno es una forma rara de melanoma que probablemente proviene de células de nevus azules. Estas lesiones frecuentemente se desarrollan en la dermis y la grasa subcutánea, no estando implicada la epidermis en un principio. Son más frecuentes en el cuero cabelludo y se presentan como nódulos azulados profundos de un diámetro mayor a un centímetro. En la historia clínica es importante reconocer restos de nevus azul para el diagnóstico. El riesgo de recidiva y metástasis es alto (Serrano S, 1986; Barnhill RL, 2009).

Melanoma de las mucosas: Se incluyen aquellos melanomas primitivos localizados en las mucosas de cabeza y cuello (orofaringe, nasal, senos paranasales), que representan más de la mitad de los casos, mucosa genital y anorectal. Su incidencia es baja, variable entre el 0.1 y el 8%, predominan en el sexo masculino con una edad media de 56 años. Presentan mayor agresividad y peor pronóstico que los cutáneos, presumiblemente por un diagnóstico más tardío. Sin embargo, la afectación ganglionar es menor pero cuando ocurre, por la gran vascularización de las mucosas, la diseminación hematológica y aparición de metástasis viscerales es la norma (Hicks MJ, 2000).

## 1.6.- Diagnóstico del melanoma cutáneo.-

El diagnóstico de MC se sospecha por la clínica y se confirma por el estudio anatomopatológico. Distintos procedimientos aparecidos en los últimos años, especialmente la dermoscopia, aumentan la sensibilidad y especificidad del diagnóstico clínico pero sin sustituir en ningún caso, al estudio anatomopatológico.

### a) **Diagnóstico precoz (Screening).**

El diagnóstico precoz del MC es la mejor oportunidad que ofrece la medicina actual para la curación de la enfermedad. En el estadio I la tasa de supervivencia a los 10 años es de un 80-90%, en el estadio II del 50-60%, en el estadio III menor del 50% a los 5 años, y del 30% a los 10 años, y en el estadio IV, el pronóstico ya es muy precario con tasas de supervivencia menores al 20% a los 5 años.

En los casos en los que se puede realizar el tratamiento correcto del tumor primario la supervivencia a los cinco años, en los países de Europa occidental, es del 80%. En los MC de menos de 1 mm de espesor, la supervivencia a los 10 años es del 85 a 95%, pero cuando el espesor está entre 1 y 2 mm se reduce al 60-80%, y al 50-60% cuando el espesor varía entre 2 y 4 mm, descendiendo hasta el 30-50% cuando es mayor de cuatro milímetros, dependiendo de si hay o no ulceración (Balch CM, 2001a). Cuando se produce recidiva local, satelitosis o metástasis en tránsito se reduce la supervivencia a los cinco años en un 20% y cuando se afectan los ganglios linfáticos regionales se reduce la supervivencia a los cinco años entre un 30 y 50% dependiendo de que la afectación sea micro o macroscópica( Cascinelli N,1984; Coit DG, 1991).

Si importante es el diagnóstico del MC en fases tempranas, más aún es identificar a aquellos grupos de riesgo para MC. Se pueden clasificar en dos grupos en función del riesgo:

- Pacientes con riesgo moderado. Son aquellos que tienen antecedentes personales de MC y múltiples nevus algunos de los cuales presentan atipias. Se aconseja auto exploración y control dermatológico.
- Pacientes con alto riesgo. Los individuos con nevus congénito gigante, y aquellos con tres o más miembros de la familia con MC. Deben ser controlados por un especialista.

### b) **Diagnóstico clínico.**

Se basa en la historia clínica y exploración detallada del tumor pigmentado sospechoso. La historia clínica debe incluir como mínimo, los antecedentes familiares y personales, fototipo, datos relacionados a la mayor o menor exposición solar, la

localización, el tamaño, la descripción morfológica, síntomas y cambios experimentados en el tumor.

#### b.1.-Observación clínica.

Para establecer la sospecha de MC diferenciamos una serie de caracteres que establecen la posible naturaleza “benigna o maligna” del tumor (Rhodes AR, 1987). Habitualmente empleamos los siete puntos de Glasgow, y el ABCD clínico.

Siete puntos de Glasgow. Constituyen una serie de criterios mayores (cambios en el tamaño, en la forma, y en el color) y menores (presencia de inflamación, sangrado o costras, síntomas como dolor, picor, escozor..., y tamaño > 7mm) de gran utilidad para la derivación del paciente al especialista (Mackie RM,1990).

ABCD Clínico. Los melanomas suelen ser asimétricos, de bordes irregulares, policromos, con varios tonos de color sobre todo de negro, gris azulado y rojo y, el diámetro suele ser mayor de seis milímetros. Para recordar estos signos se emplea el acróstico ABCD de Asimetría, Bordes, Color y Diámetro (McCarthy JT. 1995). Como diferencia, los nevus suelen ser simétricos, de bordes regulares, monocromos, y de menor tamaño. Para aumentar la sensibilidad del algoritmo, más tarde se introdujo al acróstico la letra E de Evolución, refiriéndose a los cambios en el tumor (Thomas L, 1998; Hazen BP,1999). Estos algoritmos son buenos criterios de derivación del paciente al especialista.

#### b.2.-Dermoscopia o Microscopia de epiluminiscencia

Conocida también como microscopía de superficie, dermoscopía, o microscopía de luz incidente, es una técnica no invasiva que consiste en el examen microscópico in vivo de los tumores pigmentados mediante la aplicación de un fluido (aceite, agua, gel de ultrasonido) sobre el tumor que elimina la superficie de reflexión y hace translúcida la capa córnea. De esta forma se contrarresta las limitaciones del ojo humano y es posible ver estructuras más allá de la epidermis (Serrano S, 1989; Argenziano G, 1998; Argenziano G, 2001).

El uso de la dermatoscopia está justificado porque aumenta la sensibilidad y especificidad del diagnóstico clínico entre un 20 a 30% según los algoritmos empleados (Argenziano G, 2003). La confirmación diagnóstica siempre se hará con el estudio anatomopatológico considerado como “patrón oro” en el diagnóstico de MC. Existe correlación entre los parámetros clínicos, dermatoscópicos e histopatológicos, lo que nos permite un análisis distinto y complementario de los tumores cutáneos.

El método de dermatoscopia más aceptado y utilizado es el “método en dos etapas”: En la primera etapa se diferencia entre tumor melánico o no melánico, y en la segunda se diferencia entre tumor benigno o maligno, ya restringida a los tumores melanocíticos (Fernández Pugnaire MA, 1995a; Fernández Pugnaire MA,1995b).

Primera etapa. Los criterios específicos de lesión melanocítica son:

- Presencia de retículo pigmentado: Red de líneas marrones sobre un fondo marrón difuso. Histológicamente corresponde al depósito de pigmento de melanina en la unión dermoepidérmica. El dibujo se debe al depósito en papilas y procesos interpapilares. Tiene algunas excepciones ya que puede presentarse en queratosis seborreicas, pocos carcinomas basocelulares y en la periferia de algunos histiocitomas.

- Estrías o ramificaciones lineales en los bordes: Estructuras lineales regulares o irregulares, más o menos convergentes, más evidentes en la periferia del tumor. Corresponden a agregados de células paralelas a la superficie cutánea en la zona de crecimiento radial.

- Presencia de puntos o glóbulos de distintas tonalidades según la profundidad del agregado de melanocitos en nidos o tecas.

Si están presentes estas características definimos el tumor como melanocítico y continuamos con el segundo paso. Si no están presentes existe la posibilidad de que estemos ante un tumor de origen no melánico, y tendremos que valorar otros criterios específicos de tumores no melánicos (carcinoma basocelular, queratosis seborreica, dermatofibroma, tatuajes, etc), y su ausencia debe plantear de nuevo el diagnóstico de tumor melanocítico.

Segunda etapa: Consiste en decidir sobre la naturaleza benigna o maligna del tumor. Para ello podemos aplicar el análisis de patrones y algunas de las características típicas de melanoma que aunque es acertado, nos da una visión muy general. Para aumentar la sensibilidad y especificidad en el diagnóstico se dispone de diferentes algoritmos:

1.-ABCD de Stolz: Es el primer procedimiento alternativo al análisis de patrones que se describió. Se evalúan 4 puntos: asimetría, bordes, color, y las estructuras dermatoscópicas.

Asimetría. Se divide el tumor en dos ejes de 90° y se valora la simetría en el color, la forma y las estructuras internas en uno o en los dos ejes, asignando de 0 a 2 puntos.

Bordes. Se divide el tumor en 8 sectores y se concede 1 punto por cada segmento en que el borde termine de forma abrupta, no difusa, no gradual.

Color: Se diferencian 6 colores y por cada color que esté presente se suma 1 punto.

Criterios Dermoscópicos. Se valora la presencia o ausencia de parámetros dermatoscópicos específicos de tumor melánico maligno (Presencia de retículo pigmentado, veteados o bifurcaciones, 3 o más glóbulos pardos, 3 o más puntos negros y, áreas desestructuradas en más del 10% de la superficie del tumor). Por cada signo presente se suma 0.5 puntos (Nachbar F, 1994; Stolz W, 1994).

Se aplica en cada paso un factor de corrección y finalmente se calcula el Índice dermatoscópico total que orienta hacia tumor benigno (0- 4,75), sospechoso (4,75 - 5,45) o maligno (mayor de 5,46).

En 1999, el sistema clásico de ABCD de Stolz se modifica por Kittler y cols, incluyendo la E como acrónimo de “*enlargement*”, de crecimiento y cambios en el tamaño, color, forma, ulceración, sangrado, etc, que aumenta la precisión diagnóstica en un 3.2% (Kittler H,1999).

Más recientemente se ha diseñado un nuevo ABC más sencillo y más práctico de aplicar, con una sensibilidad, especificidad y diagnóstico de certeza superiores al ABCD clásico. Como novedad separa la asimetría en la silueta y en el interior de la lesión, y valora los cambios en los últimos 3 meses (Blum A, 2003).

2.- Método de Menzies: Define once criterios y valora la presencia o ausencia de éstos. Tiene la ventaja de que al no existir gradaciones, sólo si es positivo o negativo, las diferencias inter e intra observador son mínimas.

Para considerar el tumor como melanoma no deben existir criterios negativos, y al menos 1 de los positivos tiene que estar presente (Menzies SW,1996).

3.- Regla de los siete puntos: Se puntúa la presencia de siete criterios dermoscópicos con más asociación a MC. Si la suma total es mayor de 3 se considera melanoma:

- Retículo pigmentado atípico: mallas irregulares y líneas gruesas (2 puntos).
- Velo blanco azulado: áreas sin estructura de pigmento azul, cubierto por una película blanquecina (2 puntos).
- Patrón vascular atípico (2 puntos).
- Proyecciones irregulares (1 punto).
- Distribución del pigmento irregular (1 punto).
- Puntos y globos irregulares (1 punto).
- Signos de regresión: Son la despigmentación blanca pseudocicatrizal y puntos azules en pimienta que histológicamente corresponden a fibrosis y melanofagia respectivamente (1 punto).

El perfil dermoscópico de un tumor benigno sería aquel con aspecto uniforme, simétrico, bordes regulares y difusos, color uniforme, sin pseudópodos ni proyecciones radiales, elevados con una superficie lisa con pelos, ausencia de retículo pigmentado irregular, puntos negros distribuidos en el centro, ausencia de regresión y ausencia de capilares. Sin embargo, sugieren malignidad el aspecto polimorfo con múltiples tonos, la asimetría y los bordes irregulares y cortados a pico con pseudópodos y proyecciones radiales. El retículo pigmentado es irregular y se observan puntos negros que predominan en periferia, hay áreas de despigmentación que no se



dispone alrededor de los folículos pilosebáceos y zonas de regresión (Serrano Ortega S, 2006).

**b.3.-Otras técnicas:**

Teletermografía. Es la representación gráfica de la energía infrarroja que emite el cuerpo humano, y se ha utilizado durante años en el diagnóstico de MC al ser estos tumores exotérmicos, con una actividad metabólica elevada, mayor vascularización y síntesis de melanina, que produce a nivel local un aumento de temperatura. El grado de hipertermia es proporcional al nivel de invasión y espesor del tumor por lo que su valor es pronóstico. Sin embargo, debido a la gran cantidad de falsos negativos y positivos hoy no se emplea en el diagnóstico del MC (Serrano Ortega S, 1987).

Biopsia cutánea superficial. Sólo ofrece información de la superficie cutánea y las capas superficiales de la epidermis, por lo que el diagnóstico es de aproximación (Pierard GE, 1989). Es útil para diferenciar entre angioqueratomas y melanoma, entre nevus y melanomas, y entre pigmento hemosiderínico y melanina.

**c) Diagnóstico histológico.**

c.1.- Estudio histológico básico.- Se considera el patrón oro en el diagnóstico del MC.

La escisión o biopsia escisional (extirpación biopsia) sirve para confirmar el diagnóstico y obtener criterios de histopronóstico, especialmente el espesor de Breslow que nos permitirá planificar el tratamiento posterior. Se debe hacer con unos márgenes laterales de 2-5 mm y hasta tejido subcutáneo en profundidad.

La Biopsia incisional (extirpación incompleta del tumor mediante escisión tangencial o biopsia punch) sólo nos confirma el diagnóstico clínico. La escisión tangencial sólo facilita el diagnóstico de MC, y además altera el estudio histológico posterior al impedir calcular el espesor (McKenna DB, 2004).

Para diferenciar entre melanoma y nevus existen una serie de criterios histológicos que se clasifican en estructurales, citomorfológicos, y otros (Nestle FO,2003).

- Criterios estructurales: Asimetría, pobre delimitación del componente melanocítico intraepidérmico, la pérdida de la silueta del tumor, nidos de melanocitos de distinto tamaño y forma, algunos confluyentes entre sí, migración de melanocitos aislados hacia dermis y extensión a epitelios anexiales.

- Criterios citomorfológicos: Presencia de melanocitos atípicos con núcleos pleomórficos de un diámetro mayor superior a 10 micrones, nucleolos prominentes, figuras mitóticas y necrosis de melanocitos.

- Otros criterios: Signos de regresión, elastosis actínica, distribución de la melanina no uniforme, y células plasmáticas en la base del tumor.

El informe de la biopsia debe incluir, al menos el espesor de Breslow, presencia de ulceración, mitosis por mm<sup>2</sup>, estado de los márgenes en superficie y profundidad, presencia de satelitosis y niveles de Clark para los tumores igual o menores de 1 mm (Coit DG, 2009) y, de acuerdo con la Guideline de la AAD, una información adicional que debe incluir la localización del tumor, regresión, TIL, fase de crecimiento vertical, invasión angiolinfática, neurotropismo y forma anatomoclínica (Sober A, 2001).

c.2.-Estudio inmunohistoquímico.- No son técnicas de rutina y su uso se limita a los casos dudosos. Existen una amplia variedad de anticuerpos monoclonales que reaccionan con antígenos específicos de MC. Los más utilizados son el S-100, HMB-45, y MART-1.

- Proteína S-100. Es una proteína termolábil, calcio dependiente, que es expresada por las células melánicas. Consta de dos subunidades,  $\alpha$  y  $\beta$ . Su utilidad en el MC es doble. Por una parte sirve para identificar las células del tumor en cortes en parafina y por otra parte su determinación sérica tiene valor pronóstico. La subunidad  $\beta$  es la que se usa en la demostración sérica de la proteína S-100. Su determinación se lleva a cabo por radioinmunometría o luminoinmunometría, con mayor sensibilidad. El grado de vascularización del tumor influye para que los niveles de S-100 sean detectables en sangre periférica, no así la proliferación linfática. Igual ocurre con MIA.

- Melan-A. Es el segundo marcador en orden a sensibilidad después de la proteína S-100. Tiñe de forma difusa la mayoría de las lesiones benignas y malignas. Su importancia sólo es sobre algunos melanomas metastásicos y desmoplásicos con una tinción positiva en parches. El anticuerpo MELAN-A es más sensible que el HMB-45 pero menos que la proteína S-100.

- HMB-45. Es menos sensible que los anteriores ya que es levemente positivo en las células inmaduras de los nevus y con resultados muy variables en melanomas primitivos y metastásicos

- RT-PCR Tirosinasa. La tirosinasa es una enzima que participa en la biosíntesis de melanina, y algunos autores la han utilizado para detectar células tumorales en sangre periférica, con resultados variables del 0 al 100% (Palmieri G, 1999; Aránega A, 2001).

#### d) Diagnóstico de extensión.

La historia natural de la enfermedad no siempre queda limitada a piel, por lo que son necesarios estudios adicionales, que por el orden lógico de progresión se dirigen a la detección precoz de satelitosis, metástasis en tránsito, metástasis ganglionares y metástasis viscerales.

Afectación ganglionar.- El factor pronóstico más importante en los pacientes con MC

es la afectación ganglionar. Para el estadiaje completo de la enfermedad se precisa la extirpación de las adenopatías y su estudio histológico para confirmar o descartar la presencia o ausencia de células tumorales. Hasta la introducción de la biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC) (Morton, 1992) en los casos de riesgo, se realizaba la disección ganglionar completa con fines profilácticos o terapéuticos ante la presencia de ganglios palpables sospechosos. Más tarde se demostró que el vaciamiento ganglionar sólo aumentaba la supervivencia en los pacientes que tenían los ganglios invadidos mientras que a los demás no les reporta ningún beneficio en términos de supervivencia teniendo que soportar una morbilidad asociada del 75%-80% (Haro V, 1993; McMasters KM, 1999).

La BSGC en el MC es una técnica sencilla, poco invasiva y con muy baja morbilidad que permite detectar la presencia de micrometástasis dentro de un ganglio de aspecto clínico normal. Sólo si el ganglio centinela es positivo se procede al vaciamiento ganglionar completo, ya que el 16% de estos pacientes tendrán invadido algún otro ganglio de la cadena de drenaje (Reeves ME, 2003). Se basa en la premisa que la diseminación linfática del melanoma sigue un curso ordenado y secuencial de forma que el estado del primer ganglio del grupo linfático donde drena el tumor, el ganglio centinela, puede predecir la presencia o ausencia de metástasis de melanoma en ese grupo ganglionar.

El beneficio de la BSGC en la identificación de micrometástasis es superior que el obtenido con otras técnicas de imagen como la ecografía, ecografía doppler, TAC, RMN, o el PET. La ecografía convencional tiene una sensibilidad baja (39%) con una alta proporción de falsos negativos (61%), sin embargo en el 10% de los casos la ecografía combinada con una punción aspiración (PAAF) puede obviar la BSGC (Rossi CR, 2003). La PET es más útil en el estadiaje y posterior seguimiento de pacientes con MC que las técnicas convencionales como el TAC o la RMN, sin embargo su sensibilidad es baja comparada con la BSGC (0-22% vs 94.4-100% en estadios I y II) y no es capaz de detectar metástasis microscópicas (Longo MI, 2003; Acland KM, 1999). La ecografía doppler, con o sin contraste, tiene beneficio sobre la ecografía convencional por su capacidad de distinguir entre ganglios inflamatorios y tumorales en función del patrón de vascularización que se presente, sin embargo no supera a la BSGC en el diagnóstico precoz de invasión ganglionar (Schmid MH, 2002).

Afectación visceral. Metástasis a distancia.- La exploración clínica y anamnesis por órganos y aparatos en los controles rutinarios nos orientan hacia donde debe ir dirigida la prueba de imagen, ya que hacer éstas de forma rutinaria, en ausencia de

clínica, tiene escaso valor y aumenta el gasto. Como norma general toda persona diagnosticada de MC primario necesita:

- Inspección de toda la superficie corporal buscando recidivas locales o el desarrollo de un segundo melanoma, y palpación de forma ordenada de todas las áreas ganglionares, empezando por la más próxima al tumor y una exploración abdominal.
- Pruebas de laboratorio: Hemograma y bioquímica elemental que incluya LDH.
- Estudios de imagen de rutina: Radiografía de tórax y ecografía abdominal, para la detección precoz de metástasis pulmonares, las más precoces y frecuentes en el MC, y metástasis hepáticas. El TAC tiene mayor sensibilidad y especificidad en el diagnóstico, pero no queda justificado su uso de rutina en ausencia de síntomas clínicos.

### 1.7.- Sistema de estadiaje en el melanoma cutáneo.

La clasificación inicial del MC dividía a los pacientes en tres grupos según la extensión de la enfermedad, localizada (estadio I), con metástasis regionales (estadio II), y metástasis a distancia (estadio III). Esta clasificación sencilla tenía el inconveniente que la mayoría de los pacientes se clasificaban en el estadio I y no todos tenían el mismo pronóstico (De Braud F, 2003). En el año 1999 se formó el comité para MC dentro de la AJCC (*American Joint Committee on Cancer*) en el que se incluyen distintos factores clínicos e histológicos que reflejan la biología de la enfermedad, y con ello se hace una división más exacta de los pacientes. Esta versión se actualizó posteriormente y es la que seguimos. (Balch C, 2001b; Balch C, 2003; Balch C, 2004; Greene F, 2002). Recientemente se ha modificado la anterior clasificación (Balch C, 2009a).

El principal criterio para definir pT es el espesor del tumor (mm) y la presencia o

ausencia de ulceración. El espesor de Breslow se relaciona con un riesgo mayor de recidiva local, metástasis y con la supervivencia del paciente. La ulceración se relaciona con tumores más profundos, con mayor

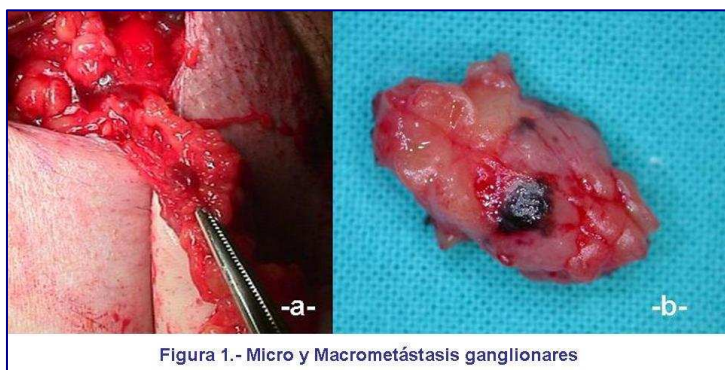


Figura 1.- Micro y Macrometástasis ganglionares

índice mitótico y con pronóstico similar al de tumores con un pT del nivel inmediatamente superior. El nivel de Clark, que en anteriores clasificaciones sólo se

considera en los tumores de menos de 1 mm, desaparece en la actual clasificación y se sustituye por el número de mitosis por mm<sup>3</sup> (Balch C, 2009a).

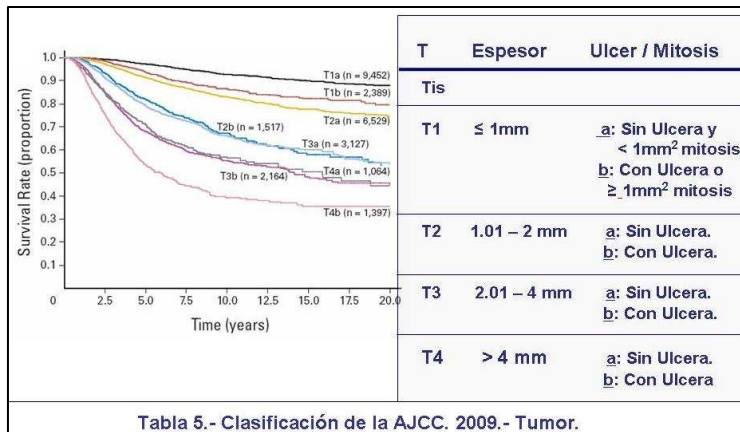


Tabla 5.- Clasificación de la AJCC. 2009.- Tumor.

detectadas en el examen clínico, pero sí por el histológico, mientras que las macrometástasis son evidentes clínicamente y se confirman con el examen histológico (Figura 1). La supervivencia es significativamente menor en aquellos pacientes que presentan

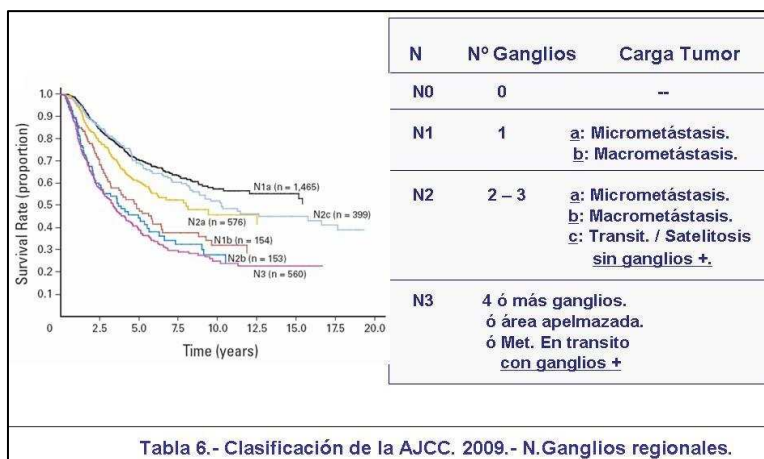


Tabla 6.- Clasificación de la AJCC. 2009.- N.Ganglios regionales.

macrometástasis comparado con aquellos con micrometástasis (Balch C, 2003; Balch C, 2004; Balch C, 2009b).

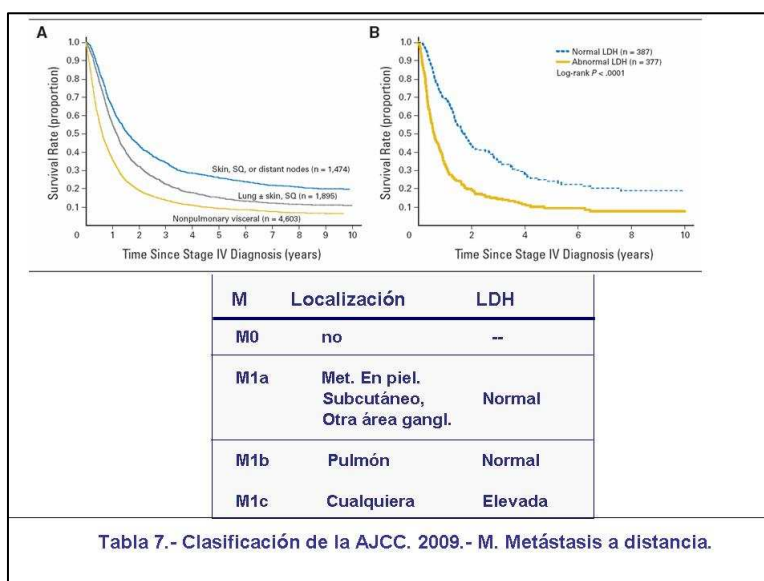


Tabla 7.- Clasificación de la AJCC. 2009.- M. Metástasis a distancia.

La presencia de afectación ganglionar se define por N. Se consideran el número de ganglios y la carga tumoral. Se consideran micrometástasis las no detectadas en el examen clínico, pero sí por el histológico, mientras que las macrometástasis son evidentes clínicamente y se confirman con el examen histológico (Figura 1). La supervivencia es significativamente menor en aquellos pacientes que presentan

macrometástasis comparado con aquellos con micrometástasis (Balch C, 2003; Balch C, 2004; Balch C, 2009b). En pacientes con metástasis a distancia, M, se considera su localización y los niveles de LDH. A medida que avanza el estadio evolutivo disminuye la supervivencia (Tablas 5, 6 y 7).

De acuerdo con los criterios anteriores se agrupan los pacientes en cuatro estadios con pronóstico diferente y que marcan el proceso evolutivo de la enfermedad (Tabla 8).

Estadio Clínico				Estadio Patológico			
	T	N	M		T	N	M
0	Tis	No	Mo	0	Tis	No	Mo
IA	T1a	No	Mo	IA	T1a	No	Mo
IB	T1b	No	Mo	IB	T1b	No	Mo
	T2a	No	Mo		T2a	No	Mo
IIA	T2b	No	Mo	IIA	T2b	No	Mo
	T3a	No	Mo		T3a	No	Mo
IIB	T3b	No	Mo	IIB	T3b	No	Mo
	T4a	No	Mo		T4a	No	Mo
IIC	T4b	No	Mo	IIC	T4b	No	Mo
III	Cualquier T	N>0	Mo	IIIA	T1-4a	N1a	Mo (1 Ganglio MICRO)
					T1-4a	N2a	Mo (2-3 Ganglios MICRO)
				IIIB	T1-4b	N1a	Mo (1 Ganglio MICRO)
					T1-4b	N2a	Mo (2-3 Ganglios MICRO)
					T1-4a	N1b	Mo (1 Ganglio MACRO)
					T1-4a	N2b	Mo (2-3 Ganglios MACRO)
					T1-4a	N2c	Mo (Transito ó Saterlitosis y G-)
				IIIC	T1-4b	N1b	Mo (1 Ganglio MACRO)
					T1-4b	N2b	Mo (2-3 Ganglios MACRO)
					T1-4b	N2c	Mo (Transito ó Saterlitosis y G-)
					Cualquier T	N3	Mo (4 G ó Transito y G*)
				IV	Cualquier T	Cualquier N	M1

Tabla 8.- Clasificación de la AJCC. 2009.- Estadio clínico y patológico.

### **1.8.- Factores de pronóstico.**

Conocer los factores pronóstico de riesgo de progresión de la enfermedad es crucial para plantear el tratamiento y seguimiento adecuados.

Se han identificado distintos factores pronóstico que en mayor o menor medida, influyen en la progresión y supervivencia de los pacientes con MC. El espesor, la localización y tipo histológico del tumor, el sexo y la ulceración son los principales factores de pronóstico (LeBoit PE, 2006).

Los podemos clasificar en factores clínicos, histológicos y biológicos aunque no todos se han tenido en cuenta para establecer la clasificación actual de la AJCC.

a) **Factores de pronóstico clínicos.** Obtenidos por la historia y la exploración clínica.

1) **Sexo.**- Aunque el MC es más frecuente en las mujeres, su pronóstico es mejor. La incidencia de ganglios linfáticos afectados en la BSGC es menor en mujeres que en hombres de la misma edad. Para algunos autores estas diferencias están en relación con el espesor del tumor (Osborne JE, 2001), mientras otros lo consideran como factor independiente (Serrano Falcón M<sup>a</sup>M, 2001, Ruiz Villaverde R, 2003), aunque también pudiera estar relacionado con la acción de factores hormonales que modulen el crecimiento y la progresión tumoral en el sexo femenino (Chao C,

2004). Por otra parte, la localización en extremidades inferiores, la precocidad en el diagnóstico y la menor frecuencia de ulceración, más frecuente en las mujeres, también podría explicar estas diferencias.

2) Edad.- La tasa de mortalidad en el MC se incrementa con la edad (Balch CM, 2004). Al aumentar la edad, también lo hace el espesor de Breslow, la presencia de ulceración y regresión tumoral y además, la proporción de hombres, todos ellos factores de mal pronóstico en el MC. Paradójicamente aunque a edades avanzadas la supervivencia es menor que en jóvenes, la tasa de metástasis ganglionares identificada en la BSGC es menor, lo que se puede explicar bien por una menor sensibilidad de la técnica, o por un comportamiento biológico del tumor diferente en estas edades (Chao C, 2004).

3) Localización. Para muchos se considera un factor independiente de supervivencia. Los MC en extremidades se asocian a un mejor pronóstico que los localizados en cabeza-cuello, tronco y zonas acras. Además, se ha visto que la localización influye sobre otros factores como son el espesor del tumor y la presencia de recidivas locales, regionales o a distancia. La supervivencia es mayor en tumores delgados que en los más gruesos y los MC localizados en los miembros inferiores son más delgados que los que se presentan en brazos o tronco. Esta diferencia se hace mayor en los MC de cabeza y cuello, y en los acrales (Osborne JE, 2001). Por otra parte, la localización del tumor determina la vía de progresión tumoral, con patrones distintos para los MC localizados en el tronco y las extremidades superiores, en las extremidades inferiores y cabeza y cuello (Meier F, 2002), en función de la densidad de vasos linfáticos y sanguíneos de la zona. Los MC de tronco producen con más frecuencia metástasis a distancia que los de las extremidades, donde son más frecuentes las metástasis en tránsito, o en los de cabeza y cuello que tienden a la recidiva local. Las localizaciones de mal pronóstico se pueden recordar bajo las siglas TANS (*trunk, upper arms, neck, scalp*) que se corresponden con las áreas BANS (*back, posterior arm, posterior neck, scalp*) definidas con anterioridad (Leiter U, 2004).

4) Forma anatomoclínica. No se considera como factor pronóstico independiente, sino que está en función del tipo de crecimiento, radial o vertical y del espesor del tumor. Como norma general de mejor a peor pronóstico, sería el LMM en primer lugar seguido del MES, MLA, y MN. Los melanomas desmoplásicos tiene una supervivencia a los 5 años del 68% si el espesor es menor de 4 mm y del 61% si es mayor (Skelton HG, 1995).

5) Tiempo de evolución. Es el tiempo transcurrido desde que el paciente nota el primer

síntoma hasta que se hace el primer tratamiento. En general cuanto mayor sea, peor será el pronóstico por la mayor progresión de la enfermedad.

6) Historia personal y familiar de melanoma. Los pacientes con historia personal de melanoma tienen nueve veces más posibilidades de padecer otro melanoma (Rhodes AR, 1987). La edad de presentación es menor que la media y su pronóstico parece más favorable posiblemente por un control más minucioso que supone un diagnóstico en los estadios iniciales de la enfermedad (De Braud F, 2003).

b) Factores de pronóstico histológicos. Obtenidos por el estudio anatomopatológico completo de la pieza operatoria.

1) Espesor del Tumor.- El espesor tumoral representa el factor pronóstico más importante en el MC. Si fuese preciso elegir un solo factor de pronóstico se elegiría el espesor de Breslow (LeBoit PE, 2006). Los pacientes con tumores finos tienen una supervivencia mayor que aquellos que presentan tumores gruesos. Está influenciado por la edad (aumento del espesor con la edad), sexo (los hombres presentan MC de mayor grosor) y localización. Además se ha visto que conforme va aumentando el espesor, el tumor tiende a elevarse, y a presentar menos características de malignidad (lista de los siete puntos de Glasgow), situación que puede ocasionar falsos negativos en el diagnóstico clínico (Osborne JE, 2004).

2) Presencia de ulceración.- La presencia de ulceración está incluida en la nueva clasificación TNM como factor pronóstico que aumenta el riesgo de metástasis, comparado con un tumor no ulcerado del mismo espesor y la tasa de supervivencia se equipara a la de un MC no ulcerado con una categoría pT superior. En el estudio de McKinnon sobre MC de menos de 1mm de espesor, la supervivencia a los diez años disminuyó de un 92.3% a un 83% en función de estar o no ulcerados (McKinnon JG, 2003). Aunque se considera como factor pronóstico independiente, la presencia de ulceración está relacionada con el espesor del tumor y su índice mitótico. El espesor se relaciona con la ulceración de forma que la ulceración es mayor conforme va aumentando el espesor, desde un 6% en tumores finos menores de 1mm, al 63% en tumores mayores de 4mm (Balch C, 2004). El índice mitótico se relaciona con la ulceración ya que por norma general, el número elevado de mitosis va asociado a la presencia de ulceración.

3) Niveles de Clark.- El nivel de invasión se ha considerado durante años como uno de los factores pronósticos más importantes. Su mayor limitación es que requiere una interpretación sobre la máxima profundidad que alcanza y que no en todas las localizaciones anatómicas el grosor de la piel es el mismo. Actualmente no se considera en la nueva clasificación AJCC (Balch C, 2009). En la anterior clasificación,



sólo se consideraba en los tumores finos (espesor <1mm), donde el nivel de Clark se supone predice mejor la supervivencia que la presencia de ulceración, todo lo contrario que ocurre en tumores de mayor grosor (Balch C, 2004).

4) Índice mitótico.- Se define como el resultado de multiplicar el espesor del tumor en milímetros por el número de mitosis por milímetro cuadrado. Cuando es mayor de 6/mm<sup>2</sup>, tiene un significado pronóstico. Se ha incluido en la nueva clasificación AJCC (Balch C, 2009) sólo en tumores T1, de menos de 1 mm de espesor. Cuando el número de mitosis es menor de 1 por mm<sup>2</sup> se incluye en el T1a y si es mayor en el T1b (Balch C, 2009)

5) Otros factores. Aunque no se incluyen en la clasificación de la AJCC por no ser factores pronósticos independientes, algunos consideran otros factores a tener en cuenta:

Crecimiento radial vs vertical.- Aunque algunos autores lo hayan considerado como factor independiente lo cierto es que el patrón de crecimiento está en función del espesor tumoral. El MES comparado con el MN, con patrones de crecimiento diferentes desde su inicio, presentan la misma tasa de supervivencia si se compara exclusivamente con el espesor de Breslow (Brown M, 1997).

Presencia de signos de regresión.- Clínicamente la regresión se manifiesta como áreas de despigmentación que pueden adoptar según el momento evolutivo, colores que varían entre blanco, rojizo, azulado y gris. Cuando se estudia la pieza, aproximadamente entre el 10 y 35 % de los melanomas presentan regresión histológica. En la mayoría de los estudios se considera como un factor de mal pronóstico, aunque en otros se defiende todo lo contrario, posiblemente por la disparidad de criterios que se siguen para definirla. En un trabajo reciente se proponen una serie de criterios para definir la regresión: Disminución o desaparición de melanoma en un área definida del tumor, infiltrado inflamatorio, fibrosis, presencia de melanófagos y neovascularización, adelgazamiento epidérmico con queratinocitos/melanocitos necróticos o apoptóticos. En la regresión temprana se produce una disminución focal del melanoma con infiltrado inflamatorio, con o sin queratinocitos/melanocitos necróticos o apoptóticos, y posibilidad del resto de criterios histológicos, salvo la fibrosis. En la regresión ya establecida la desaparición focal del melanoma o áreas de fibrosis es evidente, con o sin melanófagos, neovascularización y adelgazamiento epidérmico (Requena C, 2009).

En otro estudio que incluye 1.349 melanomas cutáneos, de los que en 931 se realizó la biopsia selectiva del ganglio centinela, el ganglio centinela fue positivo en el 18 %

de los pacientes sin signos de regresión y en el 10% de los que lo tenían, y estas diferencias eran independientes del espesor de Breslow (Morris KT, 2008). En otro estudio se comprueba todo lo contrario: en los pacientes con MC delgados con signos de regresión el riesgo de desarrollar metástasis ganglionares regionales era diez veces mayor que en aquellos pacientes con MC sin signos de regresión (Oláh J, 2003). Otros estudios no encuentran ningún riesgo relacionado con la presencia o ausencia de regresión, y en ambos grupos encuentran el mismo porcentaje (29%) de ganglios centinelas positivos (Fontaine D, 2003). Nosotros, en tanto no se aclare la controversia, consideramos la regresión como un “factor de confusión”, ya que su presencia pone en duda el espesor que anteriormente tuvo el tumor (Serrano Ortega S, 2008).

Presencia de Infiltrado peritumoral.- La presencia de células linfoides alrededor del tumor se ha considerado como factor favorable de pronóstico al suponer una respuesta citotóxica útil frente a las células tumorales y por tanto un freno a la progresión tumoral, sin embargo este hecho es muy discutido. Otros han relacionado el espesor del infiltrado con el volumen del tumor, presentando mayor supervivencia con índices superiores (Weedon D, 2002).

Invasión linfática y vascular.- El paso de células tumorales a los vasos linfáticos y la presencia de angiogénesis y de células tumorales en la circulación sanguínea es un indicador de agresividad y mal pronóstico, ya que se relaciona con diseminación linfática y hematogena. La supervivencia a los cinco años pasa a ser de un 20-50% cuando existen metástasis ganglionares regionales, y de sólo un 1-2% a los dos años cuando hay metástasis viscerales (De Braud F, 2003; Leiter U, 2004). De todas formas la presencia de células circulantes de melanoma no es una sentencia de metástasis (Aránega A, 2001).

Citología.- En general el tipo celular no ha demostrado valor pronóstico. Hay algunas publicaciones donde relacionan el tipo fusocelular con una mayor supervivencia. La desmoplasia no se asocia a un pronóstico peor, pero sí el neurotropismo. Los melanomas nevoides son de mejor pronóstico que el esperado. El melanoma de desviación mínima, aunque no tiene una aceptación generalizada, sugiere una buena diferenciación en los tumores de bajo grado de malignidad y un curso menos agresivo (Weedon D, 2002). Sin embargo, por la poca frecuencia de estos tumores es imposible hacer análisis significativos de pronóstico.

Microsatelitosis.- Se definen como el desarrollo de nódulos metastáticos a dos centímetros del tumor primario y que miden más de 0.05 mm de diámetro. De las

recidivas del MC se ha estimado que un 20% corresponde a satelitosis, el 50% a metástasis ganglionares y un 30% a metástasis viscerales. El tiempo medio desde el diagnóstico del tumor primario al hallazgo de satelitosis es de 17 meses. Se relaciona con mal pronóstico, con la aparición posterior de ganglios afectados y enfermedad metastásica, sin embargo no se considera un paso necesario en la vía de diseminación de la enfermedad (Leiter U, 2004).

Márgenes de extirpación.- Los márgenes de extirpación se han definido en función del espesor del tumor primario. Cuando los márgenes no son los adecuados, las posibilidades de recidiva y/o metástasis son mayores (Serrano S, 2003).

Estadio evolutivo. La tasa de supervivencia disminuye conforme avanza el estadio (Balch C, 2009b).

### c) **Factores biológicos**

Además de los factores clínicos e histológicos, con los nuevos conocimientos sobre la historia natural y progresión del MC, han aparecido distintos marcadores inmunohistoquímicos con relevancia pronóstica (Li N, 2002) aunque no existe ningún marcador que pueda predecir de forma precisa el comportamiento biológico del tumor (Carlson JA, 2005).

Para una mejor exposición clasificamos estos marcadores en tisulares, serológicos y moleculares:

c.1.- **Marcadores titulares:** Son aquellos estudiados por técnicas de inmunohistoquímica sobre cortes histológicos del tumor.

#### **Marcadores de proliferación celular, oncogenes y genes supresores:**

Ki 67 . Es uno de los métodos más fácil y más rentable para conocer la proliferación celular. Una expresión alta de Ki 67 se asocia de forma significativa e independiente con el riesgo de enfermedad metastásica y con una menor supervivencia. Sin embargo, esta asociación parece ocurrir sólo en MC con espesor mayor de 1.5mm y no en los finos. Debido a la heterogeneidad fenotípica en las distintas partes del tumor, la expresión de Ki 67 puede ser diferente dependiendo de la sección histológica analizada, por lo que se recomienda hacer los test de inmunohistoquímica en la zona de espesor máximo del tumor (Serrano Falcón M, 2001). Se ha comprobado que es un factor pronóstico independiente que se asocia al espesor, presencia de ulceración, índice mitótico, localización del tumor, edad y sexo del paciente (Ostmeier H, 2001).

P53. La sobreexpresión de p53 se correlaciona con la de Ki 67 y con la progresión del MC. De la misma forma que para Ki 67 esta relación sólo es válida para tumores mayores de 1.5 mm, melanoma invasor y melanoma metastático (Ruiz Villaverde R, 2003).

P16. La pérdida de expresión de la proteína p16 se ha detectado en células tumorales de estadios avanzados del MC. Aunque algunos autores la consideran como factor iniciador en el MC se ha visto que en melanomas in situ la expresión es mínima, y que la pérdida de p16 es progresiva en los distintos estadios de la enfermedad. Straume y cols. demuestran una menor tasa de supervivencia con la pérdida de expresión de la proteína nuclear p16 y la consideran como factor pronóstico independiente y asociado al índice de proliferación celular Ki67 (Straume O, 2000).

P21 waf1 y P27 kip1. Se han encontrado niveles bajos o indetectables en tumores melánicos benignos y una expresión aumentada en melanoma. Se ha encontrado una asociación entre los niveles de p21 y el espesor de Breslow y nivel de Clark, sin embargo, no se ha encontrado correlación con el estadio clínico ni con el pronóstico del tumor. Por tanto su valor pronóstico es aún incierto (Mayr B, 2000).

C-myc. Es un oncogen que produce una oncoproteína que actúa aumentando la tasa de proliferación celular y el potencial metastásico de la célula tumoral por lo que se ha propuesto como marcador de mal pronóstico en MC primario y metastásico. Se ha asociado al espesor tumoral y a la presencia de ulceración (Egisteili L, 2009).

#### **Enzimas de la matriz extracelular:**

Activadores de plasminógeno. Son un grupo de proteasas implicadas en la degradación de la matriz extracelular del tumor. En algunos cánceres, como el de pulmón, los niveles elevados de uPA (*Urokinase plasminogen activator*), de PAI-1 (*serine proteinase inhibitors-1*), y de uPAR (*urokinase plasmogen activator receptor*) se han relacionado con menor tiempo libre de enfermedad, mientras que niveles elevados de tPA (*tissue plasminogen activator*) y de PAI-2 (*serine proteinase inhibitors-2*) se relaciona a un mejor pronóstico de la enfermedad. En el MC las proteasas más estudiadas son la uPA, que puede ser útil para evaluar el grado de atipia de los nevus, y la tPA que se considera factor pronóstico independiente (Ferrier CM, 2000).

Metaloproteinasas de la matriz (MMP). Constituyen un sistema enzimático proteolítico. Tanto las MMP como sus inhibidores específicos se expresan por las células de MC y su sobreexpresión aumenta con la progresión del tumor (Li N, 2002). En los MC con espesor menor de 1mm y MTT positivo tienen un riesgo mayor de desarrollar enfermedad metastásica similar al que desarrollan los tumores con espesor de 1.5 a 4mm, por lo que sería necesario un control más estrecho sobre estos pacientes siendo candidatos a la BSGC. Estos autores la proponen como una técnica fácil y asequible que predice el pronóstico de la enfermedad (Weinlich G, 2003).

**Moléculas de adhesión celular:**

Integrinas. Tanto la  $\beta 1$  como la  $\beta 3$  integrinas se asocian a MC y su aumento se relaciona de forma positiva con la progresión de la enfermedad. No se encuentran en los nevos, excepto en los nevos de Spitz donde la  $\beta 3$  se expresa de forma llamativa. En la fase de crecimiento vertical del tumor y en las metástasis de MC es donde se encuentran valores más altos. Además la expresión de los diferentes tipos de integrinas puede indicar el tipo y localización de las metástasis, así la  $\beta 3$  integrina se asocia con metástasis pulmonares, y la  $\beta 1$  con la afectación ganglionar (Kageshita T, 2000).

CD44. Se expresa en los nevos melanocíticos y en los displásicos, y en el melanoma. Sus niveles aumentan en función del espesor del tumor, y la presencia de invasión ganglionar y metástasis. En otros estudios se demuestra lo contrario, que los niveles bajos de CD44 se relacionan a mal pronóstico. No se puede establecer su valor pronóstico (Chua R, 2009).

Otras moléculas de adhesión. Destacamos la Mel-CAM (*melanoma cell adhesion molecule*) que confiere un elevado índice de transformación tumoral a las células melánicas y un elevado potencial metastásico, la ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule-1*) asociada a la progresión del MC, y la Cadherina-E con un valor pronóstico aun incierto.

**Otros:**

Actividad telomerasa (TA). Se expresa en la mayoría de tumores como responsable de la expansión clonal de la célula tumoral. En la piel, está aumentada en carcinomas basocelulares. En el MC se considera un factor iniciador y un factor de progresión tumoral que aumenta con la evolución natural de la enfermedad, con el nivel y el espesor tumoral (Smith KJ, 2000).

Factor de transcripción asociado a microftalmia (Mitf). Es una proteína nuclear necesaria en el desarrollo embriológico y viabilidad posterior del melanocito. Es un marcador diagnóstico de melanoma que, con la excepción de los melanomas desmoplásicos, se expresa en el 100-82.5% de todos los melanomas primitivos y metastáticos, incluso cuando son negativos para S-100 y HMB-45. Además de su valor diagnóstico puede considerarse marcador pronóstico en MC de grosor medio-alto, encontrándose una supervivencia mayor en los pacientes con Mitf positivo. Cuando falta la expresión del Mitf en el tumor primario suele asociarse con metástasis ganglionares regionales y, cuando la expresión es mayor del 50%, con una menor incidencia de invasión ganglionar (Salti Gi,2000).

c.2.- **Marcadores serológicos:** Son moléculas secretadas o depositadas en la circulación sanguínea por las células tumorales o como respuesta del sistema inmune.

**Antígenos asociados a melanoma.**

**S-100-β.** La proteína S-100 se utiliza como marcador diagnóstico de células melánicas. En los últimos años su determinación en suero se ha propuesto como factor pronóstico en el MC con una sensibilidad y especificidad del 94% y 91% respectivamente. Depende del estadio tumoral, en estadios I/II los niveles son del 0-12%, mientras que en el estadio IV varía del 48-100%. Su uso queda limitado en fases tempranas de la enfermedad, y sólo ofrece información pronóstico en estadios avanzados. Además, los valores de S-100-β en suero son de utilidad para valorar la respuesta al tratamiento, disminuyendo cuando éste es eficaz (Brochez L, 2000; Bonfrer JM, 2001). Sin embargo, no predice la presencia de micrometástasis en los ganglios regionales (Acland K, 2002).

**MIA** (*melanoma inhibitory activity*). Es una proteína soluble autocrina que funciona inhibiendo el crecimiento celular. Se expresa en melanocitos malignos mientras que en nevocitos y piel normal se muestra en pequeñas concentraciones o no se expresa. Se detecta en suero mediante el sistema ELISA con una sensibilidad en MC comparable e incluso mayor que la S-100. La positividad de MIA en suero aumenta con la evolución de la enfermedad y se correlaciona con estadios avanzados, con los niveles de LDH y S-100, y también predice la respuesta al tratamiento (Bosserhoff AK, 2001; Li N, 2002).

Garbe y cols demostraron la importancia de ambos marcadores en el screening de MC metastático. En pacientes de alto riesgo en estadios II y III, tanto S-100 como MIA son superiores en sensibilidad (29% S-100, 22% MIA), especificidad (93% S-100, 97% MIA) y diagnóstico de certeza (84% S-100, 86% MIA) a LDH. Si se encuentran cifras elevadas en suero es obligado a hacer una reevaluación clínica (Garbe C, 2003).

**NSE** (*Neuron specific enolase*). Es una enzima glicolítica específica de células derivadas del neuroectodermo que se ha usado como marcador de tumores neuroendocrinos, entre ellos el MC, con resultados muy contradictorios. La sensibilidad y especificidad de NSE es baja (27 y 77% respectivamente). El aumento gradual de NSE en suero indica progresión de la enfermedad y unos niveles elevados una menor supervivencia (Brochez L, 2000).

**LASA-P** (*Lipid-bond sialic acid*). Su sensibilidad (65%) es mayor que la de NSE, y la especificidad comparable (76%). No se considera factor pronóstico de MC aunque en algunos estudios se haya mostrado correlación entre los niveles elevados y la presencia de recidiva (Abdel-Wahab Z, 1993).

**Amiloide A sérico.** El aumento de amiloide A sérico es un marcador de evolución de la enfermedad de gran utilidad en los estadios precoces (Findeisen P, 2009).

En general, la proteína S-100 es el antígeno asociado a MC con mayor valor pronóstico; MIA se considera igual que S-100, y NSE y LASA-P son poco valorables, aunque en combinación con otros marcadores puedan mejorar su valor predictivo.

**Metabolitos de la melanina:** Se proponen como marcadores de MC por su elevada especificidad (Wakamatsu K, 2006).

**5SCD (5-S-cysteinyl-dopa).** Es un metabolito de la feomelanina o pigmento marrón que producen los melanocitos y células del MC. Sus niveles aumentados, tanto en suero como en orina, indican progresión de la enfermedad. Esos niveles disminuyen después del tratamiento quirúrgico y cuando aumentan después de la cirugía sugieren la presencia de metástasis (Shikuma K, 2009). En pacientes con MC metastático es un indicador de respuesta a la inmunoterapia. La posibilidad de falsos positivos hay que tenerla en cuenta después de una exposición solar ya que la radiación ultravioleta puede elevar los niveles de 5SCD hasta el triple (Kärnell R, 2000).

**6H5MI2C (6-hydroxy-5-methoxyindole-2-carboxylic acid).** Es el metabolito de la eumelanina, y tiene un valor pronóstico inferior a 5SCD (Wakamatsu K, 2006).

**Citocinas, receptores de citocinas y moléculas de adhesión celular.** Los pacientes con MC presentan niveles aumentados de distintas citocinas como interleucinas (IL-6, IL-8, IL-10), el receptor soluble de la IL-2, la ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1), y la VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule), con un papel aún desconocido. Se han relacionado a sobrecarga tumoral, progresión de la enfermedad y peor pronóstico y son de gran utilidad para controlar la respuesta al tratamiento con inmunoterapia (Burgdorf SK, 2009).

**Lactato deshidrogenasa (LDH).** Los niveles aumentados de LDH en suero se consideran como un factor pronóstico independiente en el estadio IV de la enfermedad. Reflejan la invasión y aumento de la carga tumoral con una supervivencia menor en estos pacientes. El valor de LDH tiene una menor sensibilidad, especificidad y diagnóstico de certeza que S-100 y MIA en pacientes de MC de alto riesgo (estadio III y IV) (Garbe C, 2003).

c.3.- **Marcadores moleculares.** Se basa en la detección de mutaciones de genes supresores y oncogenes o de la expresión de mRNA de genes asociados al tumor utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR).

La **RT-PCR tirosinasa** (enzima implicada en la biosíntesis de melanina) se utiliza para la detección de células de melanoma, aunque su sensibilidad diagnóstica en el MC es baja. Los resultados encontrados son muy variables en los distintos estadios de la

enfermedad por lo que tampoco sería útil como marcador pronóstico independiente (Palmieri G, 2003). Algunos autores sin embargo, sí han encontrado relación entre la positividad a la tirosinasa en sangre periférica y el espesor tumoral, el estadio clínico, el sexo masculino y la localización en miembros inferiores (Proebstle TM, 2000). Una RT-PCR tirosinasa positiva se relaciona a menor periodo libre de enfermedad, a mayor riesgo de mortalidad y en un 21% a 52% de los pacientes en estadio III y IV a recurrencia. Tras el tratamiento quirúrgico del tumor primario los valores se negativizan en un 65% de los pacientes (Aránega A, 2001; Carrillo E, 2006).

La combinación de distintos marcadores aumenta la precisión diagnóstica y pronóstica en el melanoma cutáneo.

MART-1/Melan A es el marcador más utilizado en combinación con la tirosinasa, aumentando la sensibilidad en un 30% (Li N, 2000). Garbe y cols demostraron el escaso valor pronóstico en el MC de esta técnica combinada, con una sensibilidad del 0.24% y una especificidad del 80%, la más baja encontrada comparándola con otros marcadores como el S-100, MIA y LDH (Garbe C, 2003).

Más actual es el uso de la RT-PCR para detectar micrometástasis de MC sobre muestras de ganglios linfáticos. En un 35-51% de los pacientes con ganglios negativos con las técnicas habituales de hematoxilina-eosina e inmunohistoquímica fueron positivos mediante PCR. Sin embargo en un 0.7-12.2% de los casos aparecen falsos positivos de la tirosinasa RT-PCR debido a la presencia de nevocitos en la periferia de la cápsula agrupados en nidos, que se han demostrado en un 4 a 22% de los casos. En estos casos son positivos para S-100, pero muestran negatividad frente a HMB-45 (Li W, 2000).

### **1.9.- Tratamiento y seguimiento de pacientes con MC.-**

El plan terapéutico del MC se inicia con la extirpación del tumor primario y reconstrucción del defecto resultante de acuerdo con los principios básicos de la cirugía dermatológica, recogidos en múltiples estudios y “guidelines” con escasas diferencias (Veronesi U, 1991; Cohn-Cedermark G 2000; Balch CM, 2001c; Khayat D, 2003; Thomas JM, 2004; Sober A, 2001; Roberts DL, 2002; ESMO, 2003; Garbe C, 2008; Coit DG, 2009) en las que se definen los pasos a seguir para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento. En general se recomienda hacer una extirpación-biopsia del tumor y en función del resultado se amplían los márgenes. La exploración de las áreas ganglionares es necesaria para estadiar correctamente el tumor y realizar una disección ganglionar si están invadidos. De todas formas, el cumplimiento de estas normas no se lleva a cabo en su totalidad. Los márgenes de extirpación propuestos en las distintas publicaciones se cumplen en el 87% de los Tis y T1 y en el 60% de los



T2-T4; la exploración de los ganglios linfáticos para estadiar el tumor se hace en el 11% de los T1a, en el 64% de los T1b, en el 74% de T2, en el 63% de los T3 y en el 47% de los T4 (Erickson JL, 2008).

#### Tratamiento quirúrgico del tumor primario.-

Cuando el tumor primario se extirpa correctamente las posibilidades de satelitosis, metástasis en tránsito o de recidiva local son raras. La extirpación del tumor primario se debe hacer con un margen de seguridad en superficie y en profundidad de dimensiones variables según el espesor (McMasters KM, 2003; Coit DG, 2009):

In situ	0,5 cm
≤ 1 mm	1,0 cm
1,01 – 2 mm	1 – 2 cm
2,01 – 4 mm	2 cm
> 4 mm	2 cm

Según la actual guía para MC se recomienda márgenes de 0.5 cm para MC in situ, de 1 cm para tumores menores de 1mm de espesor, de 1-2 cm cuando el espesor es de 1 a 2 mm, y de 2cm cuando es mayor de 2 mm.

La cirugía micrográfica de Mohs se muestra con resultados muy contradictorios. Para unos la supervivencia a los cinco años con cirugía de Mohs es similar a la obtenida con la cirugía convencional con los márgenes estándar y para otros presenta una mayor eficacia en términos de seguridad. Permite explorar toda la superficie del tumor y márgenes disminuyendo la posibilidad de recidiva local ya que el crecimiento radial es asimétrico y, mejora la calidad estética obviando la extirpación amplia innecesaria (Bub JL, 2004).

#### Reparación del defecto secundario a la extirpación.

No influye en la evolución posterior del paciente. En general es preciso ofrecer buenos resultados estéticos pero nunca a costa de disminuir la eficacia. Siempre que sea posible es mejor resolver el defecto mediante un cierre directo aproximando bordes o con un colgajo local. En ocasiones, sobre todo en las extremidades, es preciso poner un injerto dermoepidérmico (Serrano Ortega S, 2001).

#### Exploración de las áreas ganglionares.-

La disección ganglionar adyuvante, en ausencia de ganglios palpables, sólo aumenta la supervivencia en los pacientes que tienen los ganglios invadidos y en los demás no reporta ningún beneficio. Entre el 75 - 80% de ellos sufre una morbilidad asociada a una intervención sin beneficios (Haro V, 1993; McMasters KM, 1999). La técnica de la biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC) es un procedimiento fácil, seguro, y de

baja morbilidad, que identifica metástasis ganglionares ocultas. Esta técnica proporciona información pronóstico, identifica a los pacientes que se beneficiarían de una disección ganglionar y a los candidatos al tratamiento adyuvante (Serrano Ortega S, 2001).

#### Manejo de los pacientes con ganglios positivos.

En los pacientes con ganglio centinela positivo se realiza disección ganglionar del área afecta después de estudio de extensión. En la región inguinal si hay sólo uno o dos ganglios positivos por debajo del ligamento inguinal, se indica una disección inguinal del triángulo femoral. En caso de que estén afectados más ganglios o que el ganglio de Cloquet sea positivo se hará una disección completa incluyendo en el bloque los ganglios iliacos y obturadores. En el cuello, dependiendo del número de ganglios afectos y dónde estén localizados se plantea una disección funcional o radical. En la axila está indicada la disección en bloque. El informe histológico de la muestra debe incluir como mínimo el número de ganglios aislados, los afectados y la presencia o no de metástasis extracapsulares (Roberts DL, 2002).

#### Tratamiento adyuvante.

Hasta la fecha el único tratamiento que ha demostrado mejorar la supervivencia en estadios avanzados del MC es el Interferón-alfa 2b a altas dosis y es único aprobado por la FDA y CEE como tratamiento adyuvante en pacientes con MC de alto riesgo. El régimen más utilizado es el de Kirkwood. Consiste en la administración de 20 millones de unidades (MU) diarios por metro cuadrado de superficie corporal intravenoso durante cinco días a la semana durante cuatro semanas, seguido de 10 MU/m<sup>2</sup>/día subcutáneo tres veces a la semana durante 48 semanas. Con esta pauta se ha demostrado en varios estudios un aumento de la supervivencia en términos globales y del tiempo libre de enfermedad frente a controles (Kirkwood JM, 1996; Kirkwood JM, 2000; Kirkwood JM, 2001).

#### Tratamiento la enfermedad metastásica.

La enfermedad metastásica se asocia con un mal pronóstico. Se han empleado distintos regímenes de quimioterapia, incluida dacarbazina y temozolomida solas o combinadas, con resultados muy variables (Coit DG, 2009). La supervivencia media es de 2 a 8 meses en función de la localización anatómica y del número de metástasis. La cirugía en metástasis aisladas de pulmón, hígado y cerebro aumenta el tiempo de supervivencia global pero con unas tasas de curación muy bajas. La radioterapia sobre metástasis óseas y pulmonares, al igual que ocurre en las cutáneas puede tener un beneficio en el control de los síntomas sólo como tratamiento paliativo. No hay estudios que demuestren la eficacia de unas pautas respecto a otras, y hasta ahora se considera de elección el uso simple de la dacarbazina (DTIC), con una tasa

de respuesta entre el 12-20% (Roberts DL, 2002). En estos casos la metastasectomía sólo sirve para disminuir la masa tumoral y facilitar la acción de otras alternativas terapéuticas.

### **Tratamiento en los distintos estadios de AJCC.**

- **Melanoma in situ**: Sólo tratamiento quirúrgico del tumor primario. Extirpación con 0.5 cm de margen alrededor del tumor y hasta la fascia muscular en profundidad.

- **Estadio I** (IA: pT1a No Mo - IB: pT1bT2a No Mo): Extirpación del tumor con márgenes adaptados al espesor de Breslow (1-2 cm). No se recomienda terapia adyuvante. Biopsia selectiva del ganglio centinela si se asocian otros factores de riesgo.

- **Estadio II** (IIA: pT2bT3a No Mo – IIB: pT3bT4a No Mo – IIC:T4a No Mo): Extirpación del tumor con márgenes adaptados al espesor de Breslow (2 cm) y realización de BSGC.

- **Estadio III** (Cualquier T, cualquier N, Mo): Extirpación del tumor primario según el espesor de Breslow y BSGC. En caso de afectación ganglionar en la BSGC o ganglios palpables invadidos se practica una disección ganglionar completa y tratamiento adyuvante con IF- $\alpha$ 2b.

- **Estadio IV** (Cualquier T N2 Mo – Cualquier T, cualquier N, M1): En caso de enfermedad metastásica, además del tratamiento realizado en el estadio anterior, se deriva al paciente a tratamiento paliativo con quimioterapia.

### **Seguimiento en los pacientes con MC.-**

No hay una agenda de seguimiento totalmente aceptada (Francken AB, 2009). En un estudio sobre 118 pacientes en estadio II y III en seguimiento durante un mínimo de dos años, se produjo recidiva de la enfermedad en el 35% de los cuales el 43% desarrollaron metástasis a distancia. De todos ellos, sólo en el 7% se diagnosticaron las metástasis por pruebas de imagen y el 26% restante por el examen y la historia clínica. Otro estudio realizado con 108 pacientes en estadio IIIA y IIIB (Morton RL, 2009), realiza un revisión cada seis meses con una Rx de tórax además del seguimiento clínico. Aparecieron metástasis en el 21% de los pacientes, de los cuales se detectaron sólo un 48% por la radiografía de tórax, y calculan la sensibilidad y especificidad de la prueba en un 48% (CI 0.27 – 0,68) y 78% (CI 0.77–0.79), respectivamente.

En la Guía NCCN (Coit DG, 2009) recomiendan el siguiente esquema de seguimiento:

- Pacientes en Estadio IA: Historia clínica y exploración cada 3 a 12 meses durante 5 años.

- Pacientes en Estadio IB a IV sin evidencia de enfermedad: se debe realizar historia y exploración clínica cada 3 a 6 meses durante dos años y cada 3-12 meses durante tres años. Se realizara una radiografía de tórax, LDH y hemograma cada 6 a 12 meses. En ausencia de datos valorables se debe realizar TAC, RMN y/o PET.

Nosotros, siguiendo la Roberts (Roberts DL, 2002) realizamos:

- En casos de melanoma in situ una única revisión tras el tratamiento quirúrgico.  
- En los demás casos revisiones trimestrales durante los 3 primeros años, y a partir del tercer año para los tumores menores de 1mm no son precisos más controles, y para el resto cada 6 meses hasta los 5 años.

Los controles deberán incluir:

- Anamnesis dirigida.
- Exploración física de todo el tegumento por la posibilidad de un segundo melanoma, bien en nuevos nevos o sobre los ya existentes. Además, mayor atención a la zona donde se localizaba el tumor para descartar recidiva local y metástasis en tránsito.
- Palpación de áreas ganglionares. En caso de ser positiva se hará una punción aspiración citológica del ganglio y en caso dudoso una ecografía de la zona.
- Técnicas de imagen: Radiografía de tórax y ecografía hepática/abdominal. En casos sospechosos y de alto riesgo se valora la realización de un Tac toracoabdominal, y de un PET.
- Bioquímica elemental que incluya la LDH.

## **I.2 – BIOPSIA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA (BSGC).**

El concepto actual de ganglio centinela se basa en tres principios generales:

- La existencia de un drenaje linfático ordenado y previsible a los ganglios linfáticos regionales.
- El primer ganglio localizado entre el tumor primitivo y el área ganglionar de drenaje es un filtro o escala donde primero se producen las metástasis (Morton, 1992).
- Las metástasis de melanoma, igual que sucede en otros tumores sólidos, se produce de forma ordenada y secuencial (Reintgen DS, 1994).

La teoría de Halsted destaca la importancia del tratamiento locorregional, la extensión de las células cancerosas a los ganglios linfáticos puede ser un indicador de metástasis a distancia por lo que debe realizarse tratamiento adyuvante (Halsted WS, 1894).

La necesidad de hacer la BSGC se basa en:

- a) Las áreas ganglionares regionales son el primer sitio de recidiva en el 60 a 70% de los pacientes con MC.
- b) El estado del GC es un factor pronóstico independiente en pacientes con estadio clínico I y II.
- c) La información que proporciona la BSGC se incluye en la clasificación de la AJCC, y sólo para aquellos que es positiva se recomienda la disección ganglionar completa.

### **2.1.- Antecedentes históricos.**

En el siglo XIX Virchow describió que los ganglios linfáticos se comportaban como verdaderos filtros del sistema linfático. Basándose en esta premisa, Halsted introdujo la mastectomía radical para el tratamiento del cáncer de mama (Halsted WS, 1894), filosofía que se ha mantenido durante años en la mayoría de los cánceres.

En 1951, Gould aconseja el examen intraoperatorio de un ganglio localizado en la unión de la vena facial anterior y posterior para, si está invadido, continuar con el vaciamiento cervical completo en las parotidectomías por cáncer de parótida. A este ganglio le llamó "ganglio centinela" (Gould EA, 1960). Cabañas, en 1977, describió un ganglio centinela asociado a la vena epigástrica superficial, en la proximidad del tubérculo púbico, en el cáncer de pene, que se identificaba previamente con una linfangiografía (Cabañas RM, 1977). Unos años después, Weissbach y cols. demostraron los ganglios centinelas en la disección retroperitoneal en pacientes con cáncer de testículo (Weissbach L, 1987). Kett, en 1970, empleó por vez primera el colorante azul inyectado alrededor de la areola mamaria para identificar los ganglios en el cáncer de mama (Kett K, 1970), y diez años después se observaron

mediante linfoescintigrafía los “primeros ganglios de drenaje” en cáncer de mama (Christensen B, 1980). Desde 1977 en el *John Wayne Cancr Institute*, el equipo de Morton venía empleando linfoescintigrafía con oro coloidal para identificar el drenaje linfático en pacientes con melanomas localizados en zonas donde era difícil localizar el área ganglionar de drenaje (Morton DL, 1992). Como complemento de esta técnica operatoria desarrollaron el “mapeo intraoperatorio” para la extirpación de forma selectiva de los ganglios donde primero drena el melanoma. Consideran como ganglio centinela el primer ganglio donde se produce la metástasis. En estos trabajos se basan los conceptos y la técnica actual de la biopsia selectiva del ganglio centinela en el melanoma cutáneo. El “ganglio centinela” es el primer ganglio de la cadena linfática localizado entre el tumor y su área ganglionar de drenaje. La técnica se fundamenta en el hecho de que las metástasis ganglionares de melanoma se producen “en oleadas” y la primera parada es en el ganglio centinela y luego, si la enfermedad progresa, ocurrirá una invasión secuencial de los demás ganglios. La técnica consiste en inyectar alrededor o en el mismo tumor una sustancia que se absorbe por vía linfática y se fija e identifica en la cadena ganglionar. El primer ganglio es el centinela que se extirpa para biopsia.

## **2.2.- Biopsia selectiva del ganglio centinela vs disección ganglionar.**

Antes de la introducción de la BSGC se realizaba disección ganglionar profiláctica (en ausencia de enfermedad) o terapéutica (con ganglios metastáticos palpables). De la primera sólo se beneficiaban los pacientes con ganglios positivos mientras que los demás se sometían a una intervención innecesaria. Se ha demostrado que la BSGC es más sensible para demostrar micrometástasis que la disección ganglionar (Doubrovsky A, 2004). Por otra parte, se considera que cuanto mayor sea la carga tumoral en el ganglio (van Akkooi AC, 2008; van Akkooi AC, 2009) y el número de ganglios invadidos (Balch C, 2001) más probable es encontrar más ganglios afectados en la disección ganglionar. La disección ganglionar después de ganglio centinela positivo ha demostrado que reduce la mortalidad cuando se compara con la disección ganglionar terapéutica (Sabel MS, 2007; Ghaferi AA, 2009)

En el MSLT-1 (*Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial*), un estudio multicéntrico randomizado que incluye 2001 pacientes, se comparan los resultados en supervivencia libre de enfermedad y supervivencia total en dos grupo de pacientes, un grupo control formado por pacientes a los que se le realiza extirpación del tumor y observación con disección ganglionar si aparecen ganglios palpables, y otro grupo de pacientes a los que se les realiza la extirpación del tumor y BSGC con disección en caso de GC positivo. En 1269 pacientes con melanomas de espesor comprendido entre 1,2 y 3,5 mm de espesor (“espesor intermedio”), encontraron micrometástasis en

el GC en el 16%, mientras que el 3,4% de los pacientes con GC negativo desarrollaron posteriormente metástasis en la misma área ganglionar (falsos negativos). En el grupo control, el 15,6% de los pacientes desarrollaron metástasis ganglionares en los cinco años de observación y en el 20,5% a los diez años, mientras que en el grupo de BSGC, sumando los positivos y los falsos negativos eran el 20,8%. El número de ganglios positivos en el grupo BSGC fue de 1,4 y en el control de 3,3, lo que indica que durante el periodo de observación hay una mayor progresión de la enfermedad ( $p < 0.001$ ). La supervivencia total a los cinco años fue superior en el grupo BSGC que en el control (78,3% vs 73,1%).

También se encuentra una correlación entre la supervivencia y el estado del GC, de forma que en los pacientes con GC negativo la supervivencia total a los cinco años fue del 90,2% y en los que el ganglio fue positivo se reduce al 72,3% ( $p < 0.001$ ). Además, en los pacientes con GC positivo y disección inmediata la supervivencia los cinco años fue del 72,3% mientras que en el grupo control fue del 52,4% ( $p = 0,004$ ). Todo esto demuestra que las micrometástasis en el GC pueden progresar a metástasis clínicamente evidentes con la consiguiente disminución de la supervivencia global (Phan GQ, 2009).

### **2.3.- Selección de pacientes:**

La BSGC está indicada en los pacientes con enfermedad clínica localizada (Estadio I y II), en pacientes con tumor primitivo mayor de 1mm y ausencia de ganglios palpables. Por ello es preciso un estudio de extensión previo para descartar la enfermedad metastásica, que incluye la exploración clínica, analítica general y estudios de imagen con PET, o en su defecto TAC toracoabdominal o Ecografía (Coldiron BM, 2000). Tanto la ecografía como el PET tiene una sensibilidad muy baja (8%) para el diagnóstico de ganglios regionales comparada con la BSGC, sin embargo su precisión en el diagnóstico de macrometástasis y metástasis a distancia es elevada, siendo de utilidad para descartar enfermedad diseminada pero no como método de estadiaje inicial (Hafner J, 2004).

Las indicaciones actuales de la BSGC en pacientes con melanoma se basan en la presencia de factores predictores para ganglio centinela positivo:

- Espesor de Breslow. En un principio se excluyen los MC de menor de 1mm de espesor debido a la baja proporción de casos positivos que oscila entre 0 y 5% según los estudios, con una tasa de curación del 98%, y los MC de mayor de 4mm, ya que el riesgo de metástasis, tanto regionales como a distancia, es muy elevado (20-65% y mayor del 60% respectivamente). En las recomendaciones dictadas por la ESMO (*European Society for Medical Oncology*) indican que la BSGC debe

realizarse en los MC con un Breslow  $>1$  mm, especialmente en los MC de grosor intermedio (1-4 mm) (Dummer R, 2009).

Melanomas de Breslow  $\leq 1$  mm: Existe una serie de trabajos en pacientes con MC de  $< 1$  mm en los que existe riesgo de invasión ganglionar, por lo que debe considerarse la BSGC.

En un estudio retrospectivo (Karakousis GC, 2006) que incluye 882 pacientes con MC con un espesor  $<1$  mm y un seguimiento medio de 16,4 años, el 4,3 % desarrollaron metástasis en los ganglios regionales y el 3,9% metástasis a distancia. Los factores de riesgo para la aparición de metástasis fueron el sexo (OR=2,5), índice mitótico  $>0.2$  (OR=3,3), la presencia de ulceración (OR=7,6) y la fase de crecimiento vertical (OR=7,9).

Otro estudio parecido (Kalady MF, 2003) en 1558 melanomas delgados ( $<1$  mm) con un seguimiento medio de 11 años, en el 3,7% aparecieron metástasis en los ganglios linfáticos regionales y en el 3,9% a distancia. Los factores de riesgo fueron el sexo masculino (=R=1,4) y el espesor  $\geq 0,75$  mm (OR=1,4).

Otro estudio (Ranieri JM, 2006) con 184 pacientes encuentra metástasis en el 6,5% de los GC, en el 2,3% de los pacientes con MC de  $< 0,75$  mm y en el 10,2% de los pacientes cuando el espesor de Breslow es  $\geq 0.75$  mm.

En un estudio reciente que incluye 631 pacientes con melanomas delgados, el GC fue positivo en el 5% de los casos, encontrando como factores asociados a GC positivo el sexo femenino ( $p=0,02$ ) y la edad  $\leq 50$  años (Wright BE, 2008). En este mismo trabajo encuentra una supervivencia a los diez años del 84% en pacientes con GC positivo frente al 98% de los que tuvieron el GC negativo ( $p<0,001$ ).

Estos estudios avalan realizar la BSGC en algunos melanomas delgados, sobre todo en aquellos de  $>0,75$  mm con un índice mitótico elevado.

En la actualidad se acepta, aunque no existe consenso, que en los MC T1 ulcerados, con un índice mitótico igual o mayor a  $1/\text{mm}^2$  y un nivel de Clark IV ó V, especialmente si el espesor es  $> 0,75$  mm, debe realizarse la BSGC (Balch CM, 2009b). La BSGC no se recomienda en pacientes con MC  $\leq 0,75$  mm, con un riesgo de metástasis alrededor del 1%. No obstante estas indicaciones se modifican cuando existe ulceración, nivel de Clark IV-V, factores incluidos en la actual clasificación de la AJCC o un índice mitótico  $\geq 1/\text{mm}^2$ , factor pronóstico incluido en la séptima versión de la clasificación de la AJCC (Chakera AH, 2009).

Melanomas de espesor intermedio (1-4 mm).

El riesgo de metástasis ganglionares aumenta del 8 al 30% (Nieweg OE, 2001). En general existe consenso para realizar la BSGC en este grupo de pacientes (Chakera AH, 2009).



Melanomas de espesor > 4 mm.

El riesgo de metástasis ganglionares no palpables es del 40%, y es muy elevada la posibilidad de metástasis a distancia. De todas formas, el estado del GC ofrece una buena información pronóstico (Lens MB, 2002), por lo que debe ofrecerse la realización de la BSGC (Chakera AH, 2009), después de diagnóstico de extensión negativo. En los pacientes con GC negativo el pronóstico es muy bueno en relación con los que tienen el GC positivo (Gajdos C, 2009).

- Nivel de Clark. En la actual clasificación de la AJCC desaparece el nivel de Clark, concediendo mayor importancia pronóstico al índice mitótico. En la anterior clasificación, el nivel de Clark se consideraba un factor pronóstico independiente sólo para los MC delgados (< 1 mm) (Balch C, 2009b). En los niveles de invasión IV y V se han demostrado GC positivos en el 16 a 31% de los casos, por lo que independientemente del espesor se indica la BSGC en estos pacientes (Chakera AH, 2009).

- Ulceración. La presencia de ulceración sobreestadía el tumor y se ha demostrado una clara relación entre la presencia de ulceración y la positividad en la BSGC. Además el hecho de que esté ulcerado el tumor no nos permite establecer el verdadero espesor tumoral. La presencia de ulceración se considera, junto con la microsateletosis, la invasión vascular y el índice mitótico, como un factor de alto riesgo para GC positivo (Mraz-Gernhard S, 1998).

- Presencia de signos microscópicos de regresión. Se define como la presencia de una zona del tumor sin epidermis ni dermis, con fibrosis, vasos dilatados, y con frecuencia signos inflamatorios. En el estudio de Oláh y cols. el GC es positivo en el 64% de los pacientes con signos de regresión frente al 15% cuando no hay regresión. Establecen un riesgo relativo de 10 para los pacientes con MC y signos de regresión (Oláh J, 2003). En un estudio más reciente (Cecchi R, 2008) no se encuentra importancia pronóstico de la regresión en MC delgados.

- Índice mitótico. Cada vez se le concede más importancia pronóstico. En la actual clasificación de la AJCC se introduce como un factor pronóstico (Chakera AH, 2009; Balch C, 2009).

**2.4.- Contraindicaciones y situaciones especiales:**

Se consideran contraindicaciones de la técnica el mal estado general o enfermedad grave asociada, la falta de consentimiento, la enfermedad generalizada y la extirpación amplia anterior que puede modificar el drenaje linfático (Gannon CJ, 2006).

En el embarazo, el riesgo de exposición a la radiación del feto es insignificante, por lo que no existe una contraindicación absoluta en la mujer embarazada. En la

lactancia se aconseja interrumpirla 24 horas antes y después de realizar la técnica. En niños y adolescentes se siguen las mismas recomendaciones que en los adultos (Chakera AH, 2009).

### **2.5.- Evolución de la técnica:**

La técnica consta de dos partes bien diferenciadas, la identificación y extirpación quirúrgica del ganglio, y el estudio anatomopatológico.

En el año 1989, Morton presentó la técnica de la BSGC en la *World Health Organisation's Second International Conference on Melanoma* en 1989 (Morton DL, 1989) y tres años después publicó sus primeros resultados en los Archives of Surgery (Morton DL, 1992). Inyecta en la dermis, alrededor del tumor o de la cicatriz de extirpación biopsia, un colorante azul vital (Azul patente-V o Azul Isosulfán al 1%) que se absorbe por vía linfática y marca el primer ganglio de drenaje donde hace escala, posteriormente se difunde a los demás ganglios. A los 20-30 minutos se hace una incisión en la cadena ganglionar que se identifica visualmente y se disecciona el primer ganglio linfático de la misma teñido de azul. Un año después se sustituyó el colorante por un radiocoloide que se inyecta de la misma forma y, después se sigue de una linfogammagrafía para identificar la localización del GC. En quirófano se localiza el ganglio centinela con la ayuda de una radiosonda manual que nos permite una cirugía radioguiada para diseccionar y extirpar el GC donde se concentra la radiación. La ventaja de un método sobre otro es que con el colorante sólo se identifica el ganglio en el 87% y con la cirugía radiodirigida en el 99% (Gershenwald JE, 1998). Algunos grupos de trabajo emplean los dos métodos unidos. Se inyecta el colorante que permite la identificación visual del ganglio y el radiocoloide para la cirugía radioguiada (Gennari R, 2000). Una vez extirpado el ganglio se hace el estudio anatomopatológico.

### **2.6.- Descripción de la técnica.**

Linfogammagrafía. Se basa en el transporte de un radiotrazador de forma fisiológica a través de la vía natural de drenaje del tumor hasta el primer ganglio de la cadena donde queda retenido y posteriormente pasará a los demás ganglios. Su utilidad en la BSGC es:

- a) Identificar y definir todas las cadenas ganglionares de drenaje con riesgo de presentar metástasis, sobre todo, en aquellos enfermos con MC en localizaciones de drenaje ambiguo (cabeza, cuello, zona media del tronco).
- b) Identificar la presencia de ganglios centinelas fuera de las cadenas ganglionares (ganglios aberrantes). En un 8% de los casos el GC se encuentra fuera de la vía de drenaje esperada (Dotting MHE, 2002).
- c) Identificar la localización del GC en relación con el resto de ganglios de la cadena ganglionar.

d) Conocer el número de ganglios centinelas en la cadena ganglionar que tendrán que ser extirpados.

Se realiza mediante la inyección intradérmica de un radiocoloide (azufre coloidal marcado con Tc99) en los cuatro puntos alrededor del tumor primario o cicatriz de anterior biopsia escisional. Posteriormente con una gammacámara se obtienen las imágenes en dos fases, dinámica y estática. La fase dinámica se realiza inmediatamente después de la inyección tomando imágenes secuenciales cada minuto durante 30 minutos, y la fase estática a las dos horas (Brady MS, 2004). El drenaje linfático puede ser lento, rápido, o combinado, influenciado por factores individuales como edad, sexo y peso del individuo, cambios en la posición del paciente, masa muscular o la temperatura ambiental, y factores técnicos en relación con el tamaño de la partícula del nanocoloide. Cuando el drenaje es lento la posibilidad de que el GC sea positivo es mínima, mientras que un GC al que difunde de forma rápida el trazador lo más probable es que sea positivo (Maza S, 2003).

Inyección del trazador (Figura 2).- Con una jeringa de insulina y aguja de 25 ó 27 G se inyecta 0.1 ml del trazador en la dermis a una distancia de 0,1 a 1 cm de la cicatriz o el borde del tumor en los cuatro puntos cardinales. En la cabeza, cuello y tronco se inyectan cuatro dosis a las 3, 6, 9 y 12 h ya que el drenaje puede ser craneocaudal e incluso pasar la línea media; en las extremidades es suficiente con dos inyecciones, una lateral y otra medial (Chakera AH, 2009). Normalmente empleamos sólo el radiocoloide, aunque se ha demostrado un claro beneficio de la combinación del coloide con azul de isosulfán (Gershenwald JE, 1998; Perrott RE, 2003).

El tamaño de la partícula influye de forma inversa en la velocidad de absorción y difusión por los linfáticos de forma que cuanto menor sea el tamaño de la partícula mayor y más rápida es la difusión (Weiss M, 2003). Como la vida media del Tc99 es de seis horas, a medida que pasa el tiempo disminuye la radiación.

Entre los radiotrazadores más utilizados encontramos:

<u>Radiotrazador</u>	<u>Tamaño partícula</u>	<u>Identificación GC</u>	<u>GC positivo</u>
Albumina Humana	Menor de 80nm	80%-99%	20%
Sulfuro coloidal	Menor de 100nm	75%	25%
Sulfato de renio	100nm	100%	22%

Nosotros habitualmente empleamos la albúmina nanocoloidal marcada con Tecnecio 99 (Nanocoll®) con un 80% de partículas de un tamaño menor a 30 nm, lo que permite la visualización de los linfáticos, y el 20% restante están entre los 30 y 80 nm por lo que se retiene en los ganglios. Se inyecta 100 microcurios por cada 0.1 ml. La

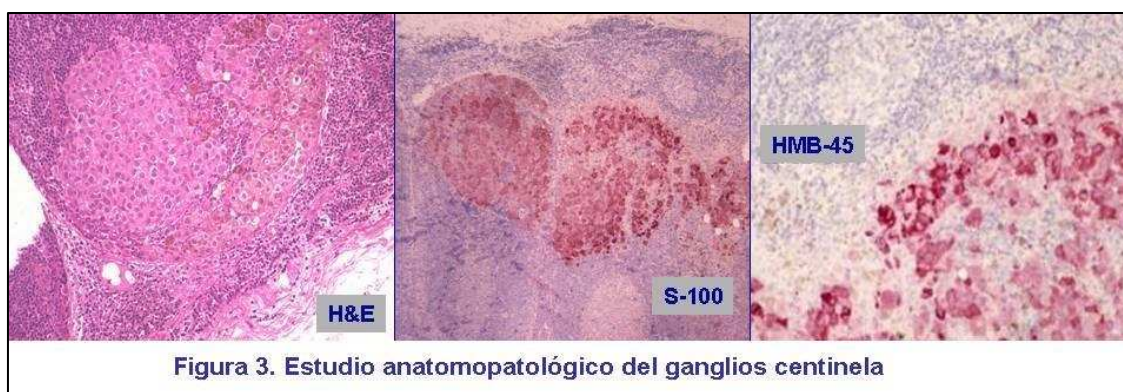
radiación que se recibe en el acto quirúrgico es muy baja y no se precisa de una monitorización del personal de quirófano (Bermúdez MC, 2000; Sera T, 2003).



Localización y disección del ganglio centinela. Después de localizar el GC con la radiosonda de mano se hace una pequeña incisión cutánea y se disecciona el plano subcutáneo. Introducimos la sonda para localizar el plano exacto donde se encuentra el ganglio y proceder a su disección. Una vez extirpado se comprueba la región ganglionar por la posibilidad de que el radiotrazador haya difundido a otro ganglio y si la radiación es al menos del 10% de cuentas del GC debe extirparse para estudio histológico (Serrano Ortega S, 2001). Por último se comprueba la muestra obtenida y se sutura la herida.

Estudio anatomopatológico (figura 3).

Para aumentar la sensibilidad y la especificidad en la identificación de micrometástasis



en el ganglio centinela se siguen tres técnicas, ya que en el 4,1% de los pacientes con

GC histológicamente negativo aparecieron metástasis en la misma área del ganglio centinela (Gershenwald JE, 1998).

- a) Técnicas clásicas de hematoxilina-eosina (H&E).
- b) Técnicas de inmunohistoquímica.
- c) Técnicas de biología molecular (PCR) (Blaheta HL, 2000).

A pesar de la utilidad que representaría el disponer de un informe inmediato, no se recomienda el estudio intraoperatorio mediante cortes por congelación (Chakera AH, 2009).

En la técnica clásica con H&E, el GC se envía en un frasco con formalina al laboratorio donde después de 12 a 24 horas de fijación se procesa. Actualmente se recomiendan al menos 10 secciones seriadas, preferiblemente desde el centro del ganglio ya que las micrometástasis se encontrarían en el plano central del ganglio, entre el infundíbulo y la parte más ancha de éste (Cochran AJ, 1999). La sensibilidad de la tinción con H&E es limitada y capaz de detectar una célula tumoral entre 104-105 células, por lo que es preciso aumentar la sensibilidad con otras técnicas.

Con técnicas de inmunohistoquímica se consigue una mayor sensibilidad. Con tinciones con la proteína S-100 y HMB45 se incrementan la sensibilidad del diagnóstico en un 10%. El anticuerpo S-100 tiene una sensibilidad del 97 al 100% y una especificidad del 75-87% (Ordoñez NG, 1988; Ohsie SJ, 2008). La sensibilidad del HMB-45 es del 69-93% en MC primario y del 56-83% en las metástasis (Zubovits J, 2004; Ohsie SJ, 2008). La sensibilidad del MART-1/Melan A es de 75-92% y la especificidad del 95-100% (Orchard GE, 2000). La tirosinasa tiene una sensibilidad

del 84-94% que disminuye cuando aumenta el estadio y en las metástasis, y una especificidad del 97 a 100% (Busam KJ, 2005; Ohsie SJ,2008). Otros marcadores inmunohistoquímicos son el NK1C3, más sensible que HMB-45, pero con especificidad similar a S-100 y más costoso, el MAGE-3 que se expresa en el 60% de las metástasis ganglionares y no afecta a células normales del ganglio, el MITF muy sensible (81-100%) y específico (88-

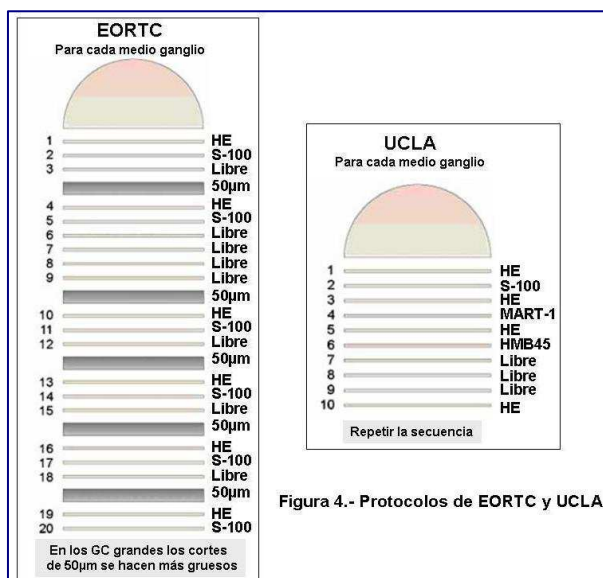


Figura 4.- Protocolos de EORTC y UCLA

100%), el NKI/C3 sensible (86-100%) y muy poco específico, y otros en fase de investigación (Ohsie SJ,2008).

El protocolo seguido por la EORTC (Cook MG, 2003) emplea H&E y S-100 en una serie de cortes seriados y en la UCLA se incluye además el HMB45 y MART-1 (Roberts AA, 2004) (Figura 4).

En los últimos años se ha producido una proliferación de marcadores inmunohistoquímicos, pero el de mayor sensibilidad sigue siendo la proteína S-100 y los demás, como el HMB-45 el MART-1/Melan-A, tirosinasa y MITF tienen una especificidad bastante buena pero una sensibilidad menor que la S-100. El Ki67 es el mejor marcador para diferenciar entre melanoma y nevus (Ohsie SJ, 2008).

El empleo de marcadores moleculares, como el RT-PCR tirosinasa, puede demostrar metástasis submicroscópicas y es un complemento al estudio histológico. Permite un examen completo de todo el tejido ganglionar con una sensibilidad mucho mayor y es fácil y rápido de realizar al ser un proceso automatizado. En la mayoría de los estudios comparativos se identifican micrometástasis en el 17-20% de los pacientes con el estudio patológico negativo (H&E e inmunohistoquímica), frente al 50- 70% con RT-PCR, por lo que hay que cuestionarse la especificidad de la técnica (Cook MG, 2003). Estas discrepancias se podrían explicar por la presencia de falsos positivos o mala realización de la técnica. Son pruebas con una alta sensibilidad, pero con baja especificidad, lo que le resta validez diagnóstica a la prueba (Davids V, 2003) y posiblemente induzca a un sobret ratamiento en bastantes casos (Starz H, 2003), por lo que se precisan estudios multicéntricos más amplios y con mayor tiempo de seguimiento como se sugiere en las conclusiones del estudio MSLT-II (Amersi F, 2007).

#### **Validez de la técnica de la BSGC.**

La validez de una prueba diagnóstica se refiere al grado en que esa prueba mide realmente lo que pretende medir y depende fundamentalmente de la sensibilidad y especificidad. La sensibilidad global de la BSGC es mayor del 96% con una proporción baja de falsos negativos. En los MC de cabeza y cuello la sensibilidad es menor. La especificidad, sin embargo, es baja, y depende principalmente de las técnicas utilizadas en el examen histológico e inmunohistoquímico de la muestra.

Falsos positivos (FP). La causa principal de “falsos positivos” es la presencia de “nevus ganglionares” que forman nidos de células melánicas de menor tamaño que las metástasis y no muestran reacción del estroma ni actividad mitótica. Se han demostrado en el 6.9% de los pacientes con MC y en el 4.9% de los GC positivo (Gutzmer R, 2002). Las células dendríticas son S-100 positivas y al contrario que las metástasis, suelen localizarse en el área paracortical. Cuando se emplean técnicas moleculares el porcentaje de GC positivos aumenta y posiblemente los “falsos positivos”, que se pueden explicar por:

- La tirosinasa es una enzima que participa en la biosíntesis de la melanina y no es específica de las células del melanoma por lo que también se identificarían en los nevos que no son HMB45 positivos y se identifican bien con H&E (Rimoldi D, 2003).
- Los macrófagos presentes en el ganglio que han fagocitado melanocitos y/o células de melanoma son positivos para PCR-Tirosinasa. De todas formas los macrófagos se localizan con más frecuencia en el seno medular y zona subcapsular y pueden contener gránulos de melanina muy evidentes y mostrar leve atipia nuclear.
- Durante la intervención quirúrgica se puede contaminar el ganglio con melanocitos (Durrani AJ, 2003).

Falsos negativos (FN). Los “falsos negativos” se identifican por la aparición de recidiva en el área ganglionar donde el GC fue negativo. Su incidencia es muy variable, desde el 16 hasta el 38% (Nieweg OE, 2001), en el estudio MSLT-1 la proporción de falsos negativos fue del 17,6% (Morton DL, 2006). Estas variaciones dependen principalmente del estudio anatomopatológico del ganglio, la medicina física y el cirujano, sin olvidar características biológicas (Dotting MH, 2002, Brady MS, 2004, Nieweg OE, 2009). El mayor riesgo de falsos negativos se relaciona con la localización (cabeza y cuello: OR=3,67) y el espesor tumoral (OR=1,16). La supervivencia a los cinco años de los pacientes con GC falso negativo es similar a los pacientes con GC positivo (Carlson GW, 2008). La variabilidad de la proporción de falsos negativos entre los distintos estudios se explica por distintas razones:

- Histopatológicas. El análisis histológico no detectó la presencia de micrometástasis en el ganglio cuando en realidad las había, situación que se ha demostrado en una gran proporción de casos después de revisar las biopsias de GC negativos. Se disminuye la proporción de falsos negativos con una técnica depurada y protocolizada (Cook MG, 2003, Roberts AA, 2004).
- El cirujano. No se identificó y extirpó el verdadero ganglio centinela. Requiere una experiencia y formación quirúrgica adecuada. En la mayoría de las *Guidelines* se aconseja “*sentinel lymph node biopsy should be performed only by skilled teams in experienced centres*” (Dummer R, 2009).
- Medicina Nuclear. Es posible que el radiocoloide no difunda correctamente por error en la forma de inyección o por una mala absorción. Por ello se recomienda siempre hacer la linfogammagrafía dinámica previa (Chaquera AH, 2009) que nos demuestra tanto la vía de drenaje como el ganglio.
- Biológicos. La recidiva ganglionar pudiera deberse a la existencia de micrometástasis en tránsito o satelitis residuales a la extirpación del tumor primario y por tanto las metástasis aún no habían llegado al ganglio o, simplemente, por que no

en todos los casos se produzcan las metástasis ganglionares de forma ordenada (Nieweg OE, 2009).

## **2.7.- Controversias.**

A lo largo de la historia del GC en el MC se han levantado una serie de controversias que ponen en duda su indicación y utilidad de la técnica. Las principales controversias se iniciaron en 2003. Unos desaconsejan la BSGC (Medalie NS, 2003; Medalie NS, 2004) y otros la defienden (Morton DL, 2005; Thomas JM, 2005; McMasters KM, 2005).

El principal origen de las controversias es la propia filosofía del GC basada en los principios generales de Snow (Snow H, 1892) y Handley (Handley WS, 1931), que propugnan una progresión gradual de la enfermedad a partir del tumor primario desde donde pasaría a los ganglios linfáticos que se portarían como una barrera temporal para la progresión de la enfermedad y finalmente se producirían las metástasis a distancia. Con esta filosofía nació la disección ganglionar profiláctica o electiva cuya eficacia se trató de evaluar en cuatro trabajos prospectivos y randomizados (Veronesi U, 1977; Sim FH, 1986; Balch CM, 1996; Cascinelli N, 1998) sin que lograran demostrar beneficios en la supervivencia global del grupo “extirpación+disección electiva” frente al grupo control (extirpación+disección terapéutica). Por tanto la BSGC que se realiza con el fin de seleccionar pacientes para la disección ganglionar no tendría razón de ser (Coldiron BM, 2009).

El GC se define como “el primer ganglio de la cadena linfática donde drena el tumor” (Morton DL, 1999), según la hipótesis del crecimiento ordenado y secuencial de la enfermedad (Reintgen D, 1994), asumiendo por tanto que la histología de GC predice la de los demás ganglios de la cadena. Existen muchos trabajos que demuestran una supervivencia mayor en los pacientes con CG negativo que aquellos en los que es positivo (Gershenwald JE, 1999; McMasters KM, 1999; Balch CM, 2001; Ferrone CR, 2002), aunque existen falsos positivos y falsos negativos que se traducen en la aparición de metástasis a distancia en algunos paciente, alrededor del 3%, con GC negativo y de metástasis en el mismo área ganglionar donde se localizó el centinela, situación analizada anteriormente. La aparición de metástasis a distancia en los pacientes con GC negativo podría explicarse por la existencia de varias hipótesis que definen modelos distintos de producción de metástasis:

- Modelo de diseminación secuencial, en el que se basa la BSGC.
- Modelo de diseminación simultánea, que defiende que las metástasis se producen de forma simultánea por vía linfática y hemática, de forma que cuando los



ganglios están invadidos ya se habrán producido metástasis por vía sanguínea. Es el modelo contrario a la BSGC que defiende Ackerman (Medalie N, 2004) y que Morton denomina “hipótesis del marcador” defendiendo la idea de que si esto fuese así, la BSGC sería de gran utilidad pronóstico ya que cuando el GC es positivo sería un marcador de enfermedad generalizada de gran utilidad para seleccionar pacientes para tratamiento (Morton DL, 2004).

- Modelo de los patrones diferenciales (“de la semilla”). Es el más antiguo. Descrito por Paget (Fidler IJ, 2003) postula que hay tumores capaces de formar metástasis sólo en los ganglios linfáticos, otros en los ganglios y en otros tejidos, y otros sólo a nivel sistémico. El clásico ejemplo es el labrador que esparce las semillas pero sólo crecerán en los sitios adecuados a esa semilla. Esta teoría explicaría situaciones difícilmente explicables con las anteriores. En los pacientes que sólo metastatizan a los linfáticos regionales, la BSGC y la linfadenectomía aumentarían la supervivencia, mientras que en los que diseminan a otras localizaciones la BSGC negativa no es una garantía, y en los casos donde se produzcan metástasis por ambas vías la BSGC sería un marcador de enfermedad generalizada (Tejera-Vaquerizo A, 2007).

De acuerdo con el nivel actual de conocimientos la BSGC se impone como tratamiento estándar de los pacientes con MC, de acuerdo con sus indicaciones y limitaciones (Mandalà M, 2009). En todos los estudios se admite que la situación de los ganglios linfáticos regionales es el principal factor pronóstico en los pacientes con MC (Balch CM, 2004) y su valor es mayor que el espesor tumoral y otros factores relacionados con el tumor primario para conocer la supervivencia global y el tiempo libre de enfermedad (Gershenwald JE, 1999).

En general, los pacientes con GC positivo tienen una menor supervivencia (Gershenwald JE, 1999; Balch CM, 2000; Balch CM, 2001; Ferrone CR, 2002) y pueden beneficiarse del tratamiento adyuvante con INF  $\alpha$ , único medicamento aprobado por la FDA (González-Larriba JL, 2000) y de la disección ganglionar terapéutica para identificar i eliminar otros posibles ganglios.

Ante todo lo dicho cabe preguntarnos:

### **¿Debe considerarse la BSGC como tratamiento estándar?**

La respuesta es Sí porque:

- Es necesario para clasificar adecuadamente la enfermedad, de acuerdo con la AJCC. (Balch CM, 2001; Greene F, 2002; Balch CM, 2009).

- Está incorporado en la *Guideline* de la el NCCN (*Nacional Comprehensive Cancer Network*). (NCCN, 2009), la EORTC (Eggermont AM, 2002; van Akkooi AC, 2009), UK (Roberts DL,2002), Alemania (Garbe C,2008), ESMO (Jost LM, 2005; Dummer R, 2008; Dummer R,2009), etc.
- Lo hacen la mayoría de los cirujanos especialistas de los Estados Unidos, Australia y Europa Occidental (Balch CM, 2009).

### 1.3.- **FACTORES DE RIESGO PARA GANGLIO POSITIVO.**

La invasión del GC supone una progresión de la enfermedad en la que las células de MC abandonan el tumor primitivo, pasan a las vías linfáticas y llegan a los ganglios linfáticos. Todo ello está determinado por la interacción de una serie de factores que podemos considerar como predictores de GC positivo. La supervivencia libre de enfermedad a los cinco años en pacientes con GC positivo es del 35,2% comparado con el 75,9% con los de GC negativo ( $p < 0,0001$ ), y la supervivencia global del 42,9% vs 88,7% ( $p < 0.0001$ ) (Mandalà M, 2009).

En los últimos años se han realizado muchos estudios para conocer características del paciente y del tumor, que pueden tener utilidad para predecir el estado del GC antes de la intervención (Mraz-Gernhard S, 1998; Landi G, 2000; Cascinelli N, 2000; McMasters KM, 2001; Sondak VK, 2004).

Estos factores los podemos clasificar en clínicos, histológicos y moleculares. (Nathanson SD, 2003).

<b>Factores clínicos</b>	<b>Factores histológicos</b>	<b>Factores moleculares</b>
Edad	Espesor de Breslow	Índice mitótico (ADN)
Sexo	Nivel de Clark	Mutaciones en P53
Localización anatómica	Presencia de ulceración	Moléculas de adhesión
Forma anatomoclínica	Grado de invasión linfática	Proteasas
	Invasión vascular	Factores de angiogénesis
	Presencia de regresión	Expresión de glicosfingolípidos
		VEGF-C
		CCR7

#### 3.1.- **Factores clínicos.**

**Edad.** En general se considera que cuando aumenta la edad disminuye la supervivencia (Balch CM, 2001), mientras que a medida que la edad disminuye las posibilidades de GC positivo aumentan (Sondak VK, 2004). Los pacientes jóvenes tienen más riesgo de metástasis ganglionares que los de edad avanzada de forma que la edad menor de 35 años predice la afectación del GC, afirmación que resulta paradójica ya que la edad es un factor pronóstico independiente para la supervivencia global de los pacientes con MC. En individuos de menos de 50 años el RR es de 1.81

con un IC al 95% de 1.31 - 2.51 y  $p=0.003$  (Rousseau DL Jr, 2003). Para unos, la relación entre edad y GC positivo es lineal (Sondak VK, 2004) y para otros, la proporción de GC positivos aumenta hasta los 40 años y a partir de esta edad comienza a decrecer (Thompson JF, 2004). Los pacientes jóvenes tienen un riesgo mayor del GC positivo independientemente del espesor tumoral, mientras que los pacientes de más edad muestran el GC positivo con mayor dependencia al espesor. El índice mitótico influye sobre la invasión ganglionar en los pacientes jóvenes de forma independiente al espesor, mientras que en los pacientes mayores sólo afecta a los tumores delgados, siendo el espesor de Breslow el mayor predictor de invasión ganglionar (Sondak VK, 2004; Thomson JF, 2004).

**Sexo.** Las mujeres jóvenes tienen más riesgo de presentar afectación ganglionar que las de edad avanzada y en las mujeres de menos de 40 años el sexo es una variable independiente asociada a GC positivo. Las posibles explicaciones son la influencia de factores hormonales en la mujer y que la sensibilidad de la técnica sea menor en edades avanzadas por las diferencias que existen en el flujo y densidad de los vasos linfáticos ya que con la edad se van atrofiando los vasos linfáticos dérmicos, o que los pacientes de mayor edad desarrollen de forma simultánea metástasis ganglionares y a distancia mientras que los pacientes jóvenes, gracias a una competencia mayor del sistema inmune, sólo hagan micrometástasis en los ganglios (Chao C, 2004). En otros estudios no se encuentran asociaciones (Rousseau DL Jr, 2003).

En los pacientes con MC de  $<1$  mm el sexo varón se asocia de forma significativa con la invasión del GC tanto en el estudio univariante como en el multivariante (Karakousis GC, 2006).

**Localización.** Las localizaciones axiales y sobre todo los MLA subungueales tienen mayores posibilidades de GC positivo (Nahabedian MY, 2003). Los MC de tronco y extremidades superiores son los que muestran mayor asociación con GC positivo (Carlson GW, 2004; Chao C, 2004).

En un estudio multivariante (Mandalà M, 2009) la localización en las extremidades versus las localizaciones axiales (tronco y cabeza y cuello) es un factor protector para GC positivo con una  $OR=0,49$  (95% IC 0,25 – 0,98) y la localización axial representa un RR de 1.45 (95% IC =1.05 - 2.02) (Rousseau DL Jr, 2003).

En otros estudios la edad, el sexo y la localización parecen no tener ninguna importancia en la predicción de GC positivo (Mraz-Gernhard S, 2009).

### **3.2.- Factores histológicos.**

En los pacientes sin factores histológicos de alto riesgo (*HRF*) definidos como tales la presencia de ulceración, microsateletosis, invasión vascular y seis o más mitosis por milímetro, tienen una incidencia del 14% de GC positivos, porcentaje que

aumenta al 31% si sólo existe un *HRF*, al 47% se existen dos y hasta el 75% si existen más.

De acuerdo con la clasificación de la AJCC el espesor y la presencia de ulceración son los factores predictivos de supervivencia (Balch CM, 2001) y también los mejores factores para predecir GC positivo (Wong SL, 2005).

**Espesor de Breslow.** Es el factor predictivo más estudiado y a menudo se emplea como factor único para indicar la BSGC. En general, a medida que aumenta el espesor aumentan las posibilidades de que el GC sea positivo (Sondak VK, 2004; Testori A, 2009). Cuando se valora el espesor de forma aislada, el riesgo en los MC de menos de 1 mm de tener el GC positivo es inferior al 5% y para los mayores de 3 mm oscila entre el 20 y 50% (Clark WH, 1989; Gershenwald J, 1999; McMasters K, 2001; Vuylsteke RJ, 2003; Taylor RC, 2007; Kaur C, 2008) El riesgo global para GC positivo es de 3.42 (95% IC= 2.54 - 4.61) (Rousseau DL Jr, 2003).

El riesgo de metástasis ganglionares aumenta con el espesor tumoral, pero no de forma uniforme, aunque con mayores posibilidades en pacientes con tumores de espesor comprendido entre 3 y 4,99 mm. El 50% de los pacientes con tumores con espesor entre 3 y 3,9 tienen el GC positivo, y el 41% de los que tienen un espesor entre 4 y 4,9 mm. En los pacientes con tumores con un espesor entre 1 y 1,9 mm tienen un 16% de posibilidades de GC positivo y del 18% con espesores de entre 1 y 1,4 mm y del 14% cuando el espesor es entre 1,5 y 1,9 mm (Mraz-Gernhard S, 1998). Para tumores menores de 1mm de espesor la posibilidad de afectación ganglionar es menor del 5%, del 20% para tumores entre 1 y 4 mm, y del 35% para MC de más de 4mm (McMaster, 2003).

Esto hace que la indicación principal de la BSGC sean los tumores T2 y T3.

En pacientes con MC de <1mm, la eficacia de la BSGC es dudosa ya que el riesgo de mortalidad es muy bajo y la tasa de supervivencia alcanza el 90% a los 5 años, aunque el riesgo de metástasis a distancia existe, y se estima entre un 1 y 5.5% para los tumores menores de 0.75mm. La afectación del GC en estos pacientes varía del 5.6% al 7% (Lowe JB, 2003), pero debe considerarse cuando el espesor es igual o mayor de 0,8 mm (Zapas JL, 2003) y realizarse cuando es igual o mayor de 0.9 mm independientemente de otros criterios (Nahabedian MY, 2003). En pacientes con melanomas de >0,75 mm y <1 mm, tienen 2,8 veces más posibilidades de GC positivo que en aquellos con MC  $\leq$ 0,75 mm (Karakousis GC, 2006). De todas formas, en un metaanálisis reciente (Warycha MA, 2009) se llega a la conclusión que actualmente no disponemos de ningún factor clínico ni histológico capaz de predecir el estado del GC en pacientes con MC de menos de 1 mm.

En un estudio multivariante el espesor > 4 mm es un factor predictivo de alto riesgo con una OR=24 (95% IC 4,91-119,13) (Mandalà M, 2009) y, en otro anterior (Nguyen CL, 2001) se demuestra que el espesor mayor de 1,5 mm ( $p=0.01$ ), la presencia de ulceración ( $p<0,01$ ), y la invasión linfovascular ( $p=0,05$ ) son factores que predicen la invasión del GC.

De todas formas el espesor no debe emplearse como factor predictivo único (Sondak VK, 2004) ya que cuando se emplea de forma aislada tiene una sensibilidad y especificidad bajas, aunque en este mismo estudio, cuando se emplea conjuntamente con la edad y el índice mitótico, sobre todo en los melanomas de <1 mm ó de >4 mm tiene gran valor predictivo. Todo ello nos induce a establecer el riesgo combinando con más variables (Wong SL, 2005).

**Nivel de Clark.** En MC menores de 1mm de espesor, el nivel de Clark IV ó V se asocia con un riesgo mayor de metástasis y aumento de la mortalidad. Algunos autores sugieren que para MC menores de 1mm y Clark III o mayor, también se considere la BSGC, al encontrar este criterio como único factor predictivo de positividad del GC (Corsetti RL, 2000; Lowe JB, 2003). En el 7,9% de los pacientes con MC de < 1 mm y nivel IV tienen el GC positivo y sólo el 3,8% del mismo grupo con niveles II o III (Karakousis GC, 2006). Por el contrario, en otros estudios el nivel de Clark no supone un factor de riesgo para MC de menos de 1 mm (Rousseau DL Jr, 2003). Además del nivel de Clark, la presencia de ulceración y presencia de signos de regresión en el examen histológico recomienda la BSGC en estos pacientes. Un 5% de los pacientes con MC menor de 1mm y con Clark IV y/o ulceración sometidos a BSGC muestran positividad del GC. Cuando sólo se considera el espesor el porcentaje disminuye al 1%. (Cascinelli N, 2000).

**Número de mitosis.** El número de mitosis por  $\text{mm}^2$  (aproximadamente el nº de mitosis por cuatro campos con objetivo x40), se considera un factor pronóstico de tal importancia que se ha incluido en la clasificación 2009 de la AJCC (Balch CM, 2009). En todos los pacientes con GC positivo, el número de mitosis fue >0 y más de la mitad tenían 5 ó más mitosis por  $\text{mm}^2$  (Kesmodel SB, 2005). En el 71,1% de los pacientes con GC positivo y melanomas de <1 mm, tenían un número de mitosis >0 (Karakousis GC, 2006). La mayor importancia como factor asociado a GC positivo se produce en pacientes de 35 años o menores, en los que el aumento del número de mitosis se asocia con mayor positividad de GC y los pacientes jóvenes con MC de <1 mm, pero con elevado número de mitosis tienen un riesgo mayor de GC positivo, lo que justificaría realizar la BSGC en estos individuos (Sondak VK, 2004). En pacientes con un número de mitosis >0 y un espesor  $\geq 0,76$  mm forman un grupo

de alto riesgo para GC positivo, con una proporción del 12,3% (Kesmodel SB, 2005).

**Infiltrado linfocitario.** Los TILs (*Tumor-infiltrating lymphocytes*) se consideran relacionados con la respuesta inmune del huésped frente al tumor aunque su significado pronóstico está sometido a controversias. La presencia vs ausencia de TILs es un factor de protección de metástasis en el GC con una OR= 0,47 (95% IC 0,25 – 0,90). En un estudio multivariante reciente en el que incluyen 875 pacientes, sólo el espesor ( $p < 0,0001$ ), la ulceración ( $p = 0,0004$ ), el sexo varón ( $p = 0,03$ ), y la ausencia de TILs ( $p = 0,0003$ ) fueron factores independientes en la predicción de metástasis en el GC (Taylor RC, 2007). Por el contrario, en otros estudios carece de valor predictivo (Mraz-Gernhard S, 1998)

**Ulceración.** La AJCC define la ulceración como “la ausencia de la epidermis intacta que cubre al MC”. Desde su inclusión en la clasificación de la AJCC se le considera un factor pronóstico tanto para la supervivencia como en la predicción del estado del GC y representa un riesgo de 2.21 (95% IC =1.57 - 3.13) (Rousseau DL Jr, 2003). En la mayoría de los estudios se considera la ulceración como un factor asociado a GC positivo (Sondak VK, 2004), aunque hay otros estudios que no lo consideran así (Gershenwald JE, 1999; Nguyen CL, 2001), posiblemente por la diferencia de criterios que se han seguido para definir la ulceración (Sondak VK, 2004). En los MC de < 1 mm, la ulceración está presente sólo en el 13,2% de los pacientes con GC positivo (Karakousis GC, 2006). En un estudio multivariante, cuando se considera la ulceración con la edad y el número de mitosis el OR estimado de la ulceración es de 1,48 (95% IC = 0,81-2,70), pero si se considera solo con la edad, excluyendo el número de mitosis, el OR de la ulceración es de 2,01 (95% IC =1,14-3,54). En más de la mitad de pacientes con GC positivo el MC estaba ulcerado (Mraz-Gernhard S, 1998).

**Fase de crecimiento vertical versus radial.** Todas las metástasis en el GC se produjeron en pacientes con MC en fase de crecimiento vertical ( $p = 0,0.029$ ) (Kaur C, 2008). En el 94,7% de los pacientes con GC positivo y melanomas de <1 mm, tenían crecimiento vertical (Karakousis GC, 2006).

**Regresión.** La ausencia de regresión se asocia de forma significativa a GC positivo ( $p = 0,0.028$ ), especialmente en los MC de menos de 1 mm de espesor (Kaur C, 2008). En general se admite que la proporción de GC negativos disminuye en pacientes con signos de regresión, por lo que su presencia se considera como un factor de protección (Testori A, 2009). En otros estudios carece de valor predictivo (Kesmodel SB, 2005).

**Tipo histológico.** La forma anatomoclínica no se considera una variable independiente. Varía en función de la localización anatómica y de la edad del paciente.

**Clasificación de la AJCC.** Se ha demostrado que el riesgo de GC positivo aumenta de forma paralela al aumento del estadio (Rousseau DL Jr, 2003; Balch C, 2009).

**Otros.** Microsatelitosis, invasión vascular, múltiples áreas ganglionares con GC, se han relacionado en algunos trabajos con GC positivo (McMasters K, 2001; Kruper LL, 2006; Testori A, 2009). La microsatelitosis fue trece veces más frecuente en tumores con GC positivo y la invasión angiolinfática se observó seis veces más en los MC con GC positivo (Mraz-Gernhard S, 1998).



#### **I.4.- FACTORES PREDICTORES PARA OTROS GANGLIOS POSITIVOS.**

En la clasificación de la AJCC se incluye el número de ganglios invadidos como factor que sobreestaría la enfermedad en Etapa III (Balch CM, 2000; Balch CM, 2009) y se ha demostrado que el riesgo de mortalidad aumenta con el número de ganglios metastásicos distintos al GC (Jakub JW, 2009) y nos facilita importante información para establecer el pronóstico (Ghaferi AA, 2009), por lo que es preciso realizar la disección ganglionar después de GC positivo que se recomienda en todas las “guidelines” (Coit DG, 2009; Dummer R, 2008; Garbe C, 2008; Jost LM, 2005; Roberts DL, 2002; Walsh P, 2000).

Después de realizar la disección ganglionar, en el estudio anatomopatológico de la pieza quirúrgica de disección no se identifican metástasis en el 80 a 85% de casos (Morton DL, 2006; Gershenwald JE, 2008), lo que induce a plantearse si es necesario o no realizar la disección ganglionar en pacientes con GC positivo, ya que sólo se beneficiarían de ella los pacientes que tuviesen otros ganglios invadidos y por tanto, no sería necesario realizar la intervención con alta morbilidad asociada y ningún beneficio.

Muchos autores recomiendan realizar disección ganglionar en todos los pacientes con GC positivo ya que encuentran metástasis en ganglios distintos del centinela en el 14%. (Salti GI, 2003) o en el 26,9% (Nowecki ZI, 2006). Para otros, el realizar la disección ganglionar no reporta ningún beneficio en cuanto a la supervivencia (Otley CC, 2000; Reintgen DS, 2000).

Algunos autores defienden que la presencia de micrometástasis en el GC no siempre debe conducir a una disección ganglionar en MC finos y con un estadio clínico I o II, ya que la enfermedad metastásica permanecería durante un tiempo variable limitada a ese ganglio (Pu LL, 2003) y recomiendan no realizar el vaciamiento ganglionar en los casos de GC positivo (van Akkooi A, 2006; Satzger I, 2007), sobre todo si la micrometástasis es  $<0,1$  mm (van Akkooi AC, 2006). Bastantes cirujanos son escépticos como demuestra un estudio realizado con datos del NCCN en el que se realiza la disección ganglionar sólo en la mitad de los casos con GC positivo (Bilimoria KY, 2008).

En otros estudios se demuestra que en los pacientes con GC positivo a los que se le realizó la disección ganglionar inmediata la supervivencia los cinco años fue del 72,3% mientras que en el grupo control, a los que no se le realizó, fue del 52,4% ( $p=0,004$ ), lo que demuestra que las micrometástasis en el GC pueden progresar a metástasis clínicamente evidentes con la consiguiente disminución de la supervivencia global (Phan GQ, 2009).

Para resolver esta duda se ha diseñado un estudio, el MSLT II, esponsorizado por el *John Wayne Cancer Institute*. Se trata de un estudio randomizado en fase III para saber si la observación en pacientes con GC positivo obtiene los mismos resultados que la disección ganglionar inmediata después de GC positivo. Desgraciadamente, no dispondremos de los resultados hasta diciembre de 2017 (Morton DL, 2010).

No existe consenso general en qué variables deben incluirse en un hipotético modelo predictivo. La inclusión de más variables podrían aumentar el valor predictivo, pero sólo deben incluirse aquellas variables que en el análisis multivariante fueron significativas e independientes de otras.

#### **Variables propias del individuo:**

**Edad.** No se encuentra asociación entre la edad y la presencia de ganglios positivos en la disección ganglionar después de GC positivo (McMasters KM, 2002).

**Sexo.** Tampoco puede establecerse relación significativa (McMasters KM, 2002)

#### **Variables dependientes del tumor:**

Ninguna característica del tumor primario influyó en el resultado de la disección ganglionar después de GC positivo (Salti GI, 2003; McMasters KM, 2002; Page AJ, 2007).

#### **Variables propias del GC:**

En general se basan en la “carga tumoral” en el GC. Se incluyen varios parámetros:

- Número de ganglios centinelas: Sólo el número de GC en la BSGC predice el estado de los otros ganglios no centinelas (Salti GI, 2003), situación que no se produce en otros trabajos (Page AJ, 2007; Jakub JW, 2009) y en otros se encuentra asociación en el análisis univariante que se pierde en el multivariante (Ghaferi AA, 2009).

- Tinción: Positividad con H&E o Inmunohistoquímica sólo (HMB45 y Melan A).

Cuando la metástasis en el GC se demuestra en la tinción con H&E el riesgo de encontrar otros ganglios positivos en la disección ganglionar es de 3,847 (95% IC 1,061 – 13,973) (Satzger I, 2008). En otros trabajos no se encuentran estas diferencias (McMasters KM, 2002).

- Tamaño de la metástasis.- No encuentran valor predictivo a la presencia de micrometástasis ni macrometástasis en el GC (Page AJ, 2007). Consideran micrometástasis cuando la invasión del GC es  $\leq 2$  mm y macrometástasis cuando es  $>$  de 2 mm A medida que aumenta la carga tumoral en el ganglio centinela, único o múltiples, aumenta el riesgo de encontrar otros ganglios invadidos (Satzger I, 2008).

Para perfilar más la situación hay estudios (Satzger I, 2008) que incluyen el diámetro y el área de la metástasis ganglionar encontrando un riesgo de 5,804 (95% IC 1,734-19,419) cuando el área ganglionar es mayor del 10%.

- Localización de la metástasis en el ganglio.- Se considera afectación de la cápsula, extracapsular y en los vasos linfáticos fuera de los ganglios. Cuando hay afectación extraganglionar con células de melanoma intralinfáticas el riesgo de encontrar otros ganglios invadidos es de 3,312 (95% IC 1,153-9,508) (Satzger I, 2008). Rutkowski y cols. consideran factores pronóstico la invasión extracapsular del ganglio y el número de ganglios invadidos, no siendo el tamaño de las metástasis predictor de supervivencia en los pacientes con MC (Rutkowski P, 2003).

Los resultados de los distintos estudios se expresan en la Tabla 9.

	REEVES	SALTI	COCHRAN	STARZ	VUYLSTEKE	SABEL	SATZGER
<b>Año</b>	2003	2003	2004	2004	2005	2005	2008
<b>Sexo</b>	-	NS	-	NS	-	-	*
<b>Edad</b>	-	NS	-	NS	-	-	-
<b>Breslow</b>	-	NS	*	NS	NS	*	NS
<b>Clark</b>	-	NS	-	-	-	-	-
<b>Ulceración</b>	*	NS	-	-	NS	-	NS
<b>TIL</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mitosis</b>	-	NS	-	-	-	-	-
<b>Localización</b>	-	NS	-	*	-	-	-
<b>Forma clínica</b>	-	NS	-	-	-	-	-
<b>Nº GCs Posit.</b>	-	*	-	-	-	NS	-
<b>Nº GCs</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Localización</b>	-	-	-	-	-	*	-
<b>Extraganglion.</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>H&amp;E positivo</b>	-	-	-	-	-	-	*
<b>Carga tumoral</b>	*	-	*	-	*	-	*
<b>TPD</b>							
<b>Densidad DC</b>							
<b>Periganglionar</b>	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 9.- Predictores de Ganglios Invadidos en la Disección Ganglionar después de GC positivo. (TPD=tumor penetrative deph.)

## **II.- OBJETIVOS**

La BSGC se ha aceptado como un método eficaz para obtener información para establecer el pronóstico e identificar micrometástasis en la cadena ganglionar de drenaje con una morbilidad mínima,. Igualmente se acepta que la invasión ganglionar es el peor factor de pronóstico en los pacientes con MC.

De acuerdo con esto nos proponemos:

1.- Conocer las características clínicas, anatomopatológicas y evolutivas de los pacientes de la Unidad de Melanomas del Servicio de Dermatología Médico Quirúrgica del Hospital Universitario San Cecilio a los que realizamos biopsia selectiva del ganglio centinela.

2.- Construir un modelo matemático predictor para ganglio centinela positivo.

3.- Validar nuestro modelo comparándolo con el propuesto por el MSKCC (*Memorial Sloan-Kettering Cancer Center*) (Wong SL, 2005).

4.- Como en todos los protocolos se admite la necesidad de realizar disección ganglionar del área del GC+ y, en un porcentaje importante aunque variable, los demás ganglios están libres de enfermedad, nos proponemos construir un modelo matemático capaz de predecir la existencia de otros ganglios positivos distintos del GC.

### III – MATERIAL Y MÉTODOS

#### 1.- DISEÑO DEL ESTUDIO

En el trabajo de investigación “BSGC en el Melanoma Cutáneo” realizamos un estudio prospectivo de 458 pacientes con MC procedentes de la Unidad de Melanomas del Hospital Clínico Universitario San Cecilio, a los que se les realizó diagnóstico y extirpación del tumor primitivo, biopsia selectiva del ganglio centinela, disección del área ganglionar en caso de GC+ y seguimiento. A cada paciente aplicamos un protocolo de recogida de datos (Figura 5) que incluyen distintas variables clínicas e histológicas para establecer una relación entre estas y la afectación del GC con la finalidad de buscar factores de riesgo significativos de afectación ganglionar que nos permitan establecer un modelo matemático útil para seleccionar a los pacientes candidatos a la técnica de acuerdo con el riesgo personal de invasión del GC.

**FICHA CONSULTA**

NREG: [Autonumérico]      FECHA INTERVENCIÓN: [ ]

Nº HISTORIA: [ ]      CALLE: [ ]      DISECCIÓN GANGLIONAR: [ ]

Nº SS: [ ]      POBLACION: [ ]      FECHA DISECCIÓN: [ ]

APELLIDOS: [ ]      CP: [ ]      Nº GANGLIOS POSITIVOS: [ ]

NOMBRE: [ ]      FECHA CONSULTA: [ ]      CENTINELA: [ ]

EDAD: [ 0 ]      FORMA CLINICA: [ ]      BIOPSIA/S Nº: [ ]

SEXO: [ ]      PIGMENTADO: [ ]      NIVEL: [ ]

OJOS: [ ]      DIAMETRO MAYOR: [ 0 ] cm      ESPESOR: [ 0 ]

PELO: [ ]      DIAMETRO MENOR: [ 0 ] cm      REGRESIÓN: [ ] 1.- Sí. 2.- No

RAZA: [ ]      INFILTRADO: [ ]

RECONSTRUCCIÓN: [ ]

ULCERADO: [ ]      LOCALIZACIÓN: [ ]

FOTOTIPO: [ ]      LADO: [ ] 1.- Derecha. 2.- Izquierda. 3.- Media

LOCALI CENTINELA: [ ]      ESTADIO: [ ]

1. Cuello. 2.- Axila. 3.- Ingle 4.- Axila+Ingle      13. Periorcular 14. Nariz 15. Mejilla 16. Oreja      TNM: [ ]

5. Aberr. 6.- Ingle+popliteo 7.- Axila+Epitroclear      17. Peribucal 18. Mentón 2. Cuello 3. Tronco      FECHA CIERRE: [ ]

LADO CENTINELA: [ ]      31. Pecho 32. Espalda 33. Abdomen 34. Gluteo      SITUACIÓN ACTUAL: [ ]

1.- Derecha. 2.- Izquierda.      4. Extremidad superior 41. Hombro 42. Brazo      FECHA EXITUS: [ ]

3.- Bilateral. 4.- Aberrante      43. Antebrazo 44. Mano 45. Dedos     

INVASIÓN CENTINELA: [ ]      5. Extremidad inferior 51. Muslos 52. Piernas     

1.- Micro. 2.- Macro      53. Pie 54. Dedos 6. Genitales 7. Ojos     

Nº CENTINELAS: [ 0 ]      8. Mucosas 9. Oculto 10. Otros     

METASTASIS VISCERALES: [ ]      DESARROLLADO SOBRE NEVUS: [ ] 1.- Sí. 2.- No

RECIDIVA GANGLIONAR: [ ]     

TRATAMIENTO/S: [ ]

Buscar registro

Figura 5.- Hoja de recogida de datos en el programa Microsoft Access

## **2.- SELECCIÓN DE LA MUESTRA**

**Criterios de inclusión.** Todos los pacientes con MC independientemente de la edad, sexo, forma anatomoclínica, espesor de Breslow, nivel de Clark o presencia de ulceración, a los que se les extirpó el tumor y realizó BSGC en el periodo comprendido entre Marzo de 1995 y Junio de 2004. En los casos en que la extirpación-biopsia del primario se realizó en otro centro era requisito imprescindible disponer de la totalidad de la pieza operatoria para la revisión histológica.

**Criterios de exclusión.** Ausencia de pieza histológica y pérdida a lo largo del periodo de observación.

### **Ámbito del estudio.-**

- **Temporal.**- Desde Marzo de 1995 a Junio de 2004. El seguimiento se realizó desde la fecha de intervención hasta la fecha de cierre del estudio (1º de Marzo de 2007) o hasta la aparición de metástasis.
- **Poblacional y geográfico.**- Estos pacientes procedían de las provincias de Almería, Granada y Jaén. Todos ellos consultaron en la Unidad de Melanomas del Servicio de Dermatología del Hospital Universitario San Cecilio de Granada. A todos ellos le realizamos diagnóstico y extirpación quirúrgica del tumor primitivo y biopsia selectiva del ganglio centinela mediante cirugía radioguiada. En todos los casos con BSGC positiva realizamos disección completa del área ganglionar afectada y posterior terapia adyuvante con INF  $\alpha 2b$  según la pauta de Kirkwood.

## **3.- RECOGIDA DE DATOS**

Aplicamos un protocolo de recogida de datos que incluyen.

### **a.- Variables demográficas.-**

Datos de identificación, sexo y edad, variable continua que agrupamos en seis categorías:

- 1.- Menor o igual a 35 años.
- 2.- Entre 36 y 45 años.
- 3.- Entre 46 y 55 años.
- 4.- Entre 56 y 65 años.
- 5.- Entre 66 y 75 años.
- 6.- Mayor o igual a 76 años.

### **b.- Características fenotípicas** que incluyen:

- Color de los ojos. Con cuatro categorías: Marrones, negros, azules y verdes.
- Color del cabello. Con cuatro categorías: Negro, castaño, rubio y rojo.
- Raza. Con cuatro categorías: Blanca, amarilla, negra e incluimos la etnia gitana.

- Fototipo. Con las cinco clásicas categorías, del 1 al 5.

**c.- Fechas de interés** en la evolución del paciente que incluye la fecha de la primera consulta, la de la intervención, la del último control y, en los casos que ocurrió, la de aparición de la primera metástasis. Cuando se resta la fecha de aparición de la primera metástasis de la de intervención obtenemos el tiempo libre de enfermedad que en los casos en que no aparecieron metástasis es el tiempo transcurrido desde la intervención hasta la última revisión.

**d.- Variables anatomoclínicas del tumor primario.**

- Forma anatomoclínica: LMM, MES, MN, MLA, otros.

- Localización del tumor que dividimos en cinco categorías:

1.- Cabeza y cuello.

2.- Pecho y abdomen.

3.- Hombros y espalda.

4.- Extremidades superiores.

5.- Extremidades inferiores.

- Lado del tumor. Derecho o izquierdo.

- Pigmentado. Con dos posibilidades, sí ó no.

- Tamaño del tumor:

o Diámetro Mayor, medido en centímetros.

o Diámetro menor, medido en centímetros.

o Volumen del tumor. Se calculo mediante la fórmula de la elipse, donde  $d_1$  y  $d_2$  son el diámetro menor y mayor, respectivamente, y  $e$  es el espesor medido en centímetros.

$$V = \frac{4}{3} \times \pi \times \left( \frac{d_1}{2} \times \frac{d_2}{2} \times \frac{e}{2} \right)$$

o Espesor de Breslow, medido en milímetros, que agrupamos en cinco categorías:

1.- Menor de 1mm.

2.- Entre 1 y 2 mm.

3.- Entre 2 y 3 mm.

4.- Entre 3 y 4 mm.

5.- Mayor de 4 mm.

- Nivel de Clark. Del dos al cinco. Excluimos los Nivel I (melanoma in situ).
- Presencia o ausencia de ulceración.
- Signos de regresión, considerada como la ausencia de células de melanoma en una zona del tumor, con melanófagos y fibrosis.

**e.- Variables del ganglio centinela.**

- Localización del GC. Incluimos cuello, axila, ingle, axila+ingle, ingle+poplíteo, axila+epitroclea, axila+cuello, parótida, parótida+cuello.
- Lado del GC. Con tres posibilidades: derecho, izquierdo y línea media.
- Número de ganglios centinelas Normalmente sólo hay un GC. Consideramos que hay más de un ganglio centinela cuando tienen vías linfáticas distintas y/o proporciona un número de cuentas con la cámara portátil mayor del 10% del ganglio que tiene más cuentas. Todos ellos se incluyen para estudio anatomopatológico.
- Estado del ganglio centinela: 1.- Positivo; 2.- Negativo.
- Situación/invasión del ganglio centinela positivo: 1.- Micrometástasis; 2.- Macrometástasis.
- **Procesado del ganglio** o de los ganglios centinelas. Después de fijación en formol de las piezas quirúrgicas durante al menos veinticuatro horas, se procede al tallado del ganglio realizando cortes seriados de 0,4 cm, en su eje mayor, incluyendo toda la adenopatía. A continuación se fijan los bloques en parafina y cada uno de los bloques se procesa de forma que se realizan dos cortes para H&E y el resto para técnicas de inmunohistoquímica.
- **Técnicas Inmunohistoquímicas realizadas sobre cortes parafinados.**- Empleamos el método de Estreptavidina-Biotina con fosfatasa alcalina y distintos anticuerpos monoclonales suministrados por la casa *Master-Diagnóstica Española*. Empleamos los siguientes reactivos:

Solución Buffer. TBS (*Tris Buffer salino*) 0,05 M a un pH de 7.4.

Tween 20 al 0,2% (Merk, Alemania).

Antisuero primario. Inmunoglobulinas de ratón (Master Diagnóstica E.).

Estreptavidina-Biotina-Fosfatasa.

Sustrato cromogénico con Levamisol (fast red tr salt).

Hematoxilina de Mayer.

Medio de montaje Acuatex 8562 (Merck, Alemania).

Seguimos la siguiente técnica:

- Secciones del bloque de parafina de 4  $\mu$  de grosor que montamos sobre portaobjetos y dejamos secar en estufa a 37°C.



- Desparafinar en dos baños de xileno de 10 minutos de duración cada baño, seguido de un nuevo baño de xileno para limpiar y dos baños en alcohol absoluto con el fin de retirar el exceso de xileno.
- Hidratación progresiva con dos baños de alcohol absoluto, un baño con alcohol de 95%, uno de 70%, uno de 50% y dos baños con agua destilada.
- Desenmascaramiento antigénico en olla exprés durante dos minutos a la máxima potencia.
- Lavado con TBS. Tres lavados de tres minutos de duración cada uno. Secado de los portaobjetos.
- Incubar con suero normal de cabra en cámara de incubación con atmósfera húmeda durante 20 minutos a temperatura ambiente.
- Retirar el exceso de suero sin lavar y secar.
- Incubar con el antisuero primario durante 16 horas a 4°C en cámara húmeda.
- Lavar tres veces en TBS durante tres minutos cada vez.
- Incubar con el anticuerpo secundario biotinado antiratón y anticonejo durante treinta minutos a la temperatura ambiente en cámara húmeda y absorción con suero de rata.
- Lavar tres veces en TBS durante tres minutos cada vez y secar.
- Aplicar el conjugado de estreptavidina-fosfatasa alcalina (Master Diagnóstica España) durante treinta minutos en cámara húmeda y a temperatura ambiente.
- Lavar tres veces en TBS durante tres minutos cada vez y secar.
- Aplicar el sustrato cromogénico (FAST RED TR SALT. Biogenex, USA) hasta observar bajo control microscópico la tinción deseada.
- Lavar con agua durante 5 minutos.
- Contrastar con Hematoxilina de Mayer.
- Lavar con agua corriente y a continuación con agua destilada.
- Las preparaciones aún húmedas se montan con medio acuoso Auatex (Merck 8562).

Empleamos los siguientes anticuerpos monoclonales:

HMB 45.

Proteína S-100.

Melan-A.

Tirosinasa.

La lectura la realizamos con microscopio óptico y se interpreta por el mismo observador (Prof. D. Juan Linares Solano). Se considera positivo cuando hay expresión y negativo cuando está ausente.

Definimos como micrometástasis la presencia de pequeños focos de células tumorales que pasan inadvertidas en el estudio macroscópico en todos los cortes seriados. Se localizan en la zona subcortical. Las macrometástasis (en realidad micro-macrometástasis) las definimos cuando las células tumorales ocupan más de 1/3 del ganglio y se sospechan ya en el examen macroscópico de los cortes. Se localizan tanto en la zona subcortical como en la medular.

#### **f.- Variables obtenidas con la disección.**

- Disección ganglionar, con dos posibilidades Sí ó no. Hacemos Disección ganglionar a todos los pacientes con GC+ y a los que teniendo GC negativo a lo largo de la evolución aparecen adenopatías metastásicas en el área del GC (falsos negativos).
- N° ganglios positivos. Obtenidos del estudio anatomopatológico de la pieza de disección ganglionar.

#### **g.- Variables dependientes de la evolución del paciente.**

- Aparición de metastasis viscerales. Si aparecen metástasis en cualquier órgano distinto al área ganglionar de drenaje del tumor primitivo.
- Recidiva ganglionar. Si se producen recidiva en el área ganglionar previamente disecada.
- Situación actual al cierre del estudio, vivo o muerto.

h.- Probabilidad de GC+. Calculamos la probabilidad de GC+ mediante el nomograma del *Memorial Sloan-Katterring Cancer Center*, basado en las cuatro variables edad, localización, espesor, nivel de Clark y presencia de ulceración

### **4.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS**

Diseñamos una base de datos mediante el paquete informático Microsoft Access en la que se realizó una plantilla de entrada de datos que incluía cada una de las variables antes señaladas. Una vez introducida la información se procedió a la depuración, codificación y etiquetado de los datos, realizando el análisis con el paquete estadístico SPSS versión 16.0.

- **Análisis descriptivo.** El análisis descriptivo de las variables cualitativas se presenta mediante tablas de frecuencia y porcentajes. Para las variables cuantitativas se han calculado medidas de tendencia central (media, mediana), de dispersión (desviación típica y rango), y un intervalo de confianza para la media.

- **Análisis bivariante.** En el análisis bivariante establecemos las posibles relaciones entre dos variables que agrupamos de acuerdo con su nivel de medida en:

- Variables numéricas: Edad y espesor del tumor.
- Variables ordinales: Grupos de edad, Espesor de Breslow agrupado y Nivel de Clark.
- Variables dicotómicas: Sexo, ulceración y afectación del ganglio centinela.
- Variables categóricas: Forma clínica y localización del tumor.

Para el análisis entre la variable a comparar en nuestro estudio “Estado del GC”, dicotómica (1 = positivo y 2 = negativo), con el resto de variables se han utilizado:

- Con variables numéricas: Comparación de medias con una prueba de muestras independientes (Prueba de Levene para la igualdad de varianzas).
- Con variables ordinales, dicotómicas y categóricas: Tablas de contingencia y test estadístico de la Chi cuadrado.
- En el caso de las variables categóricas, con la finalidad de establecer un nivel de significación, hemos estratificado la muestra por grupos y calculado la *odds ratio*.
- Con todas las variables que han mostrado una relación significativa con la afectación del GC hemos hecho una relación logística binaria con intervalo de confianza al 95% para ver si estas variables son significativas por sí mismas, o si la significación se debe a la influencia de otras variables relacionadas.

- **Análisis logístico para el predictivo de GC + .** Para estudiar los factores de riesgos asociados a GC+ y obtener predicciones sobre el riesgo que tiene un paciente para tener GC+ se ajustaron modelos de regresión logística a los datos obtenidos.

$$\text{logit}(p) = \log\left(\frac{p}{1-p}\right) = \alpha + \beta_1 x_1 + \dots + \beta_k x_k$$

Con el modelo de regresión logística podemos expresar la probabilidad de que un paciente tenga GC+ en función de las variables explicativas asociadas al GC +, lo que se denomina, la función logística.

En el estudio de paciente con ganglio centinela positivo, se define y se denota la variable respuesta de los pacientes del siguiente modo:

$$Y = \begin{cases} 0 & \text{si el ganglio centinela es negativo} \\ 1 & \text{si el ganglio centinela es positivo} \end{cases}$$

El valor esperado o valor promedio de la variable se define como la proporción de ocurrencias de ganglio centinela positivo

El modelo de regresión logística nos permite estimar la probabilidad de que el ganglio centinela sea positivo ( $p$ ) en función de las distintas variables explicativas de los pacientes mediante la siguiente expresión matemática:

$$p = \frac{\exp(\alpha + \beta_1 x_1 + \dots + \beta_k x_k)}{1 + \exp(\alpha + \beta_1 x_1 + \dots + \beta_k x_k)}$$

Los parámetros  $\alpha$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_k$  son estimados mediante el método de máxima verosimilitud y la exponencial de  $\beta_1$ ,  $\beta_k$  representan los “odds ratio” (OR) o razones entre dos ventajas correspondiente a la variable explicativa asociada.

#### **- Análisis logístico para el predictivo de otros ganglios positivos**

Con el objetivo de estudiar los factores de riesgos asociados a otros ganglios positivos encontrados en la disección ganglionar en pacientes con GC+ y obtener predicciones sobre el riesgo de otros ganglios positivos se ajustaron modelos de regresión logística. De modo que podemos expresar la probabilidad de que un paciente tenga otros ganglios positivos en función de las variables explicativas asociadas otros ganglios.

En el estudio de paciente con otros ganglios positivos, se define y se denota la variable respuesta de los pacientes del siguiente modo:

$$Y = \begin{cases} 0 & \text{si el paciente no tiene otros ganglios positivos} \\ 1 & \text{si el paciente tiene uno o más ganglios positivos} \end{cases}$$

El valor esperado o valor promedio de la variable y se define como la proporción de ocurrencias de pacientes con otros ganglios positivo

- **Validación, análisis comparativo de las predicciones obtenidas y el nomograma del MSKCC (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center).**

Para validar nuestro modelo predictivo, las probabilidades estimadas por el modelo de regresión logístico para GC+ las comparamos con las obtenidas mediante el nomograma del MSKCC (Wong SL, 2005).

Para evaluar la precisión del modelo de regresión logística, las probabilidades del MSKCC las representamos gráficamente junto con las probabilidades estimadas por el modelo de regresión logística obtenidas para cada paciente en ambos métodos.

Para comparar nuestro modelo de regresión con el modelo del MSKCC empleamos la curva de ROC que representa todos los pares sensibilidad/ especificidad resultantes de la variación continua de los puntos de cortes de las probabilidades de GC+. El grafico representa en el eje y de coordenadas la sensibilidad, es decir, la fracción de verdaderos positivos. El eje x representa la fracción de falsos positivos, o lo que es lo mismo,  $1 - \text{especificidad}$ .

#### **IV.- RESULTADOS.**

Con el único fin de expresar ordenadamente nuestros resultados los dividimos en varios apartados.

- 1.- Análisis descriptivo de la muestra.
- 2.- Análisis bivalente de las variables.
- 3.- Modelización estadística de los datos.
  - 3.1.- Modelo de regresión logística para GC positivo.
  - 3.2.- Modelo de regresión logística para otros ganglios positivos.
- 4.- Validación del modelo de GC+.

##### **1.- ANALISIS DESCRIPTIVO DE LA MUESTRA.**

De los 458 pacientes a los que se les realizó la BSGC, 86 (18.8 %) pacientes tuvieron el GC positivo y 372 (81.2%) negativo.

Las tablas que se adjuntan al análisis descriptivo resumen los datos, según su naturaleza, del modo siguiente:

Las variables continuas o de escala. Resumen los datos mediante sus medias, desviaciones típicas y número de datos muestrales. También proporcionamos información sobre una estimación por intervalos de confianza del valor medio basados en un 95% de confianza. Estos intervalos proporcionan un rango de valores, basados en nuestros datos muestrales y en la distribución de probabilidad Gaussiana (Normal con media 0 variabilidad 1), donde posiblemente se encontrara el valor medio poblacional de la variable continua. De este modo, observando la amplitud y los extremos del intervalo podremos saber como de precisa es la medida descriptiva que nos proporcionan nuestros datos, de forma que si tenemos pocos datos el intervalo será muy amplio, lo que nos sugiere que el valor medio descriptivo de nuestra muestra no es muy preciso.

Las variables categóricas (nominales u ordinales). Observamos los porcentajes de pacientes según las distintas categorías de cada variable. En las categorías de las variables donde no se obtengan datos muestrales suficientes para obtener los porcentajes vendrán indicadas en las tablas con el símbolo “-“ y solo especificaremos el número de datos muestrales.

Las gráficas nos resumen los porcentajes de pacientes con centinela positivo o negativo según las características de cada paciente. Para la obtención de las graficas de variables continuas reagrupamos los datos para formar categorías, de modo que, cada grupo contenga aproximadamente un 20% del total de datos muestrales cuando se estudia centinela positivo/negativo, o un 33% en el caso de

otros ganglios positivos en pacientes a los que se les hizo disección ganglionar por GC+.

La descripción de la muestra la dividimos en tres apartados:

- Descripción de todas las variables de la muestra.
- Descripción de las variables y su relación con la situación del GC que incluyen:
  - o Características físicas del paciente.
  - o Características del tumor primario.
  - o Características del GC.
  - o Características evolutivas después de GC.
- Descripción de todas las variables de los pacientes a los que se realizó Disección Ganglionar por GC+.

### **1.1.- DESCRIPCIÓN DE TODAS LAS VARIABLES DE LA MUESTRA.** (Tabla 10)

**Edad:** La edad media de los pacientes de nuestra muestra fue 50.94 años, con una discreta diferencia entre aquellos que tuvieron el CG + (52.4 años) y GC- (50.6 años).

**Sexo:** De los 458 pacientes incluidos en nuestro estudio, 241 (52.62%) eran mujeres y 217 hombres (47.38%). El 48.84% de las mujeres tuvieron el GC + y el 53.43% negativo. Entre los varones, fue más frecuente el GC + que negativo (51.16 % vs 46.51%).

**Color de ojos:** El 59.39% de los pacientes tenían los ojos de color marrón, el 22,93% de color azul, el 14.63% verde, sólo el 3.06% de color negro.

En los pacientes con los ojos marrones el GC negativo fue más frecuente que el positivo (61.83% vs 48.84%). Para el color de ojos azules, negros, y verdes, el ganglio centinela positivo fue más frecuente.

**Color de pelo:** El color de pelo predominante fue el color castaño (70.09%). Sólo 9 pacientes del total eran rubios (14.63%), y sólo uno pelirrojo (1.34%). La distribución poblacional fue similar en los dos grupos de centinela.

**Raza:** Todos nuestros pacientes fueron de raza blanca y sólo uno de etnia gitana con el GC negativo.

**Fototipo:** El 0.9% fueron fototipo I, un 28.6% tenían un fototipo II, un 56.2% fototipo III, y un 14.3% fototipo IV.

Variable	Centinela Positivo (n=86)			Centinela Negativo (n=372)			Total (n=458)		
	Media/%	DE	n	Media/%	DE	n	Media/%	DE	n
<b>Edad (años)</b>	52.40	15.05	86	50.60	15.15	372	50.94	15.13	458
<b>Sexo (%)</b>									
Mujer	48.84	5.02	42	53.43	4.99	199	52.62	5.00	241
Varón	51.16	5.02	44	46.51	4.99	173	47.38	5.00	217
<b>Color de ojos (%)</b>									
Azules	26.74	4.45	23	22.04	4.15	82	22.93	4.21	105
Marrones	48.84	5.02	42	61.83	4.86	230	59.39	4.92	272
Negros	8.14	2.77	7	1.88	1.36	7	3.06	1.72	14
Verdes	16.28	3.71	14	14.25	3.50	53	14.63	3.53	67
<b>Color de pelo (%)</b>									
Castaño	70.93	4.57	61	69.89	4.57	260	70.09	4.58	321
Negro	17.44	3.82	15	13.17	3.39	49	13.97	3.37	15
Rojo	1.16	1.07	1	1.34	1.15	5	1.34	1.15	1
Rubio	10.47	3.07	9	15.59	3.63	58	14.63	3.53	9
<b>Raza (%)*</b>									
Blanca	100.00	-	85	99.73	0.50	364	99.78	0.47	449
Gitana	-	-		0.27	0.52	1	0.22	0.47	1

Tabla 10.- Distribución de los pacientes según características físicas. Los pacientes con ganglio centinela positivo y negativo poseían unas características físicas similares, lo que implica la homogeneidad de las dos poblaciones estudiadas.

**Localización del tumor primario:** El 28.38% de los pacientes estudiados tenían el melanoma localizado en la espalda, el 17.03% en las piernas, el 7.64% en el pecho, el 8.08% en los brazos, el 7.21% en los muslos, el 5.90% en antebrazos, y el 5.68% en los pies. Agrupamos las localizaciones en cuatro grupos, cabeza y cuello, tronco, extremidades superiores, y extremidades inferiores, y encontramos unos porcentajes de 7.21%, 41.27%, 20.31% y 31.22% respectivamente, con un claro predominio del tronco. En el lado izquierdo del cuerpo se localizaron el 46.8% de los tumores y el 43.7% en el lado derecho. Sólo el 9.5% de los MC se localizaron en la línea media.

**Forma anatomoclínica:** La forma anatomoclínica más prevalente fue el melanoma de extensión superficial (MES) (66.80%), seguido del melanoma nodular (MN) (25.1%). El melanoma lentiginoso acral (MLA) (6.8%), y el lentigo maligno melanoma (LMM) (1.1%) representaron un grupo muy reducido de la muestra. En el grupo "otros" se ha incluido a un paciente con un melanoma desarrollado sobre un nevus azul.

**Nivel de Clark:** Más de la mitad de los melanomas tuvieron un nivel III de Clark (51.2%), le sigue en frecuencia los niveles IV (30.2%) y II (12.7%)



**Diámetros, espesor de Breslow, y volumen tumoral:** Los diámetros se midieron en centímetros, y el espesor en milímetros (tabla 11).

El espesor medio de los melanomas de la muestra fue de 2.38 mm, el diámetro mayor de 2.11 cm, el menor de 1.52 cm. El volumen medio estimado según la fórmula matemática del volumen de una elipse fue de 0.845 cm<sup>3</sup>.

Variable	Centinela Positivo (n=86)			Centinela Negativo (n=372)			Total (n=458)		
	Media (DE)	n	95% IC	Media (DE)	n	95% IC	Media (DE)	n	95% IC
<b>Diámetro Menor</b>	1.20 (0.81)	84	1.02 1.37	1.60 (3.28)	357	1.26 1.94	1.52 (2.98)	441	1.24 1.80
<b>Diámetro Mayor</b>	1.60 (1.09)	84	1.37 1.84	2.23 (7.09)	357	1.49 2.97	2.11 (6.41)	441	1.51 2.71
<b>Espesor (mm)</b>	3.88 (3.15)	86	3.20 4.56	2.04 (2.16)	372	1.81 2.25	2.38 (2.48)	458	2.15 2.60
<b>Volumen (cm<sup>3</sup>)</b>	0.74 (1.50)	84	0.42 1.07	0.87 (5.35)	357	0.31 1.42	0.84 (4.85)	441	0.39 1.29

Tabla 11. Medias de las medidas del tumor en pacientes con ganglio centinela positivo

**Pigmentación:** El 95% de los MC eran pigmentados y el 5% amelanóticos.

**Ulceración:** El 67.2% no tenían ulceración y el 32.8% estaban ulcerados.

**Regresión:** Sólo el 17% de los MC de nuestro estudio tenían signos de regresión y en el resto (83%) no la presentaron.

**Estudio del ganglio centinela:** El estudio anatomopatológico del ganglio centinela fue negativo para metástasis de melanoma en 372 casos (81.22%), y positivo en 86 casos (18.78%).

En el 85.8% localizamos sólo un GC, en el 14.2% dos GC y tres y cuatro GC sólo en dos pacientes.

La localización más frecuente del GC (53.38%) fue la axila, seguida de la región inguinal (34.73%) y con menor frecuencia en áreas cervicales (7.03%). En 12 casos identificamos GC en distintas cadenas ganglionares. En siete pacientes en axila e ingles; en dos en parótida y cuello; en dos en ingle y hueso poplíteo, y un paciente en axila y cuello.

El ganglio centinela se localizó en el lado derecho en el 45.7% de los casos, y en el lado izquierdo en el 46.8%.

Los pacientes con ganglio centinela positivo y negativo poseían unas características físicas similares, lo que implica la homogeneidad de las dos subpoblaciones estudiadas.

## 1.2.- DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES Y SU RELACIÓN CON LA SITUACIÓN DEL GC.

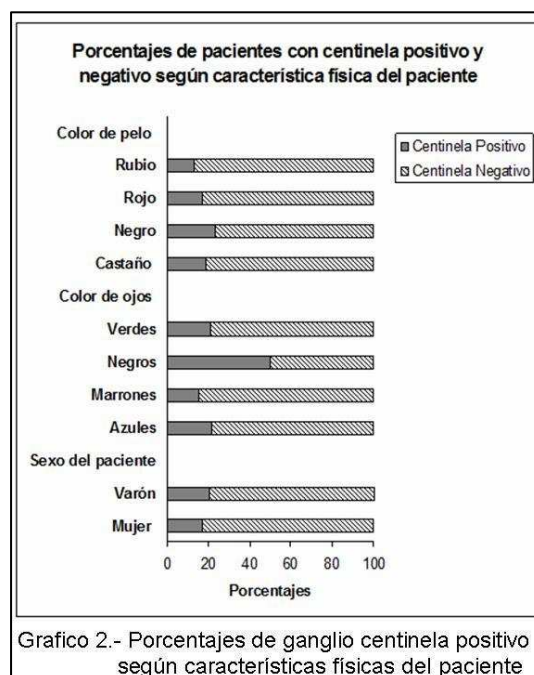
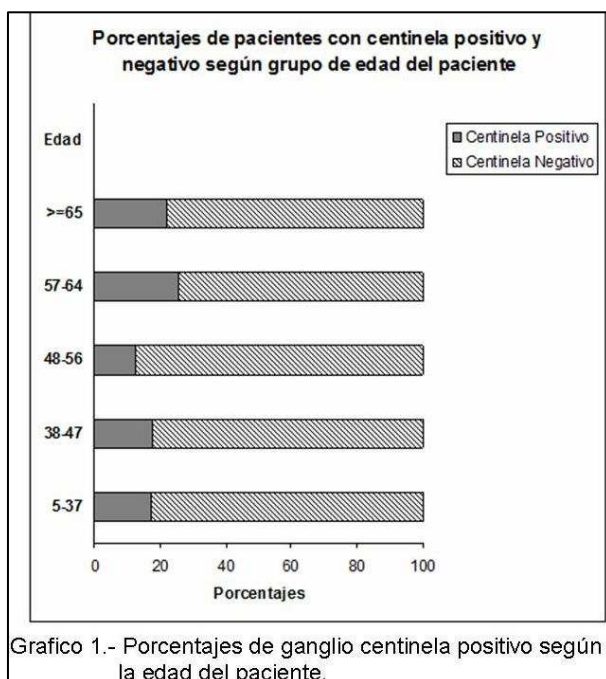
### 1.2.1.- Características físicas del paciente.

**Edad:** La mayor frecuencia de GC+ la encontramos en pacientes de más de 57 años. En este grupo el porcentaje de GC+ fue superior al 20%, mientras que en pacientes de menor edad los porcentajes de GC+ fueron inferiores al 18%. (Gráfico 1).

**Sexo:** El porcentaje de mujeres que tuvieron el ganglio centinela positivo fue un 3% menor que el porcentaje de hombres con ganglio centinela positivo (17.4% y 20.8%, respectivamente). (Tabla 12 - Gráfico 2)

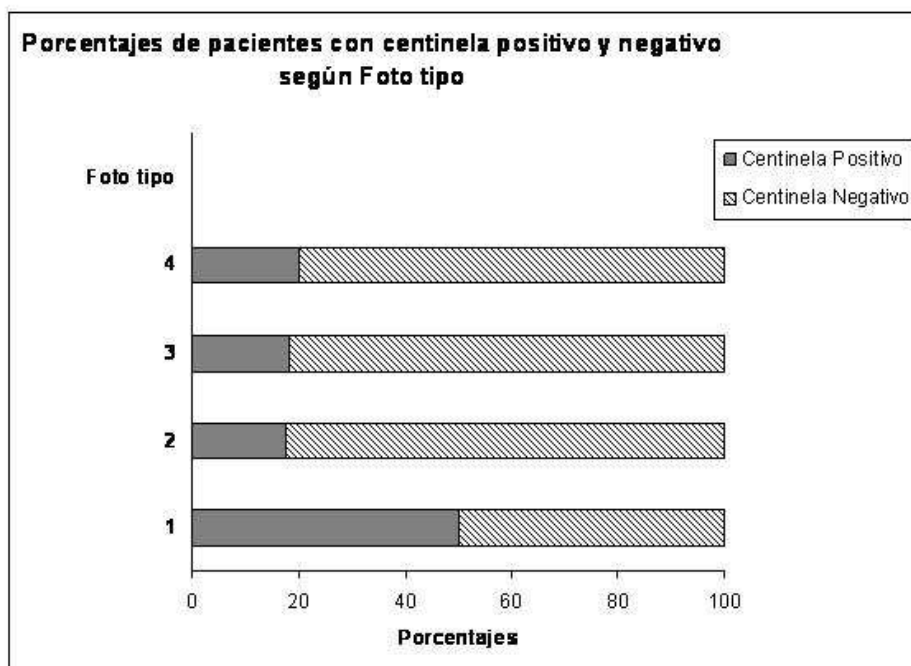
Variable	Centinela Positivo (n=86)			Centinela Negativo (n=372)			Total (n=458)
	% (DE)	n	95% IC	% (DE)	n	95% IC	%
<b>Sexo</b>							
Mujer	17.43 (3.80)	42	12.6 22.25	82.57 (3.80)	199	77.75 87.4	52.60
Varón	20.80 (4.02)	44	14.88 25.67	79.72 (4.02)	173	74.33 85.12	47.40
<b>Color de ojos</b>							
Azules	21.90 (4.15)	23	13.86 29.95	78.10 (4.15)	82	70.05 86.14	22.90
Marrones	15.44 (3.62)	42	11.12 19.76	84.56 (3.62)	230	80.24 88.88	59.40
Negros	50.00 (5.18)	7	20.04 79.96	50.00 (5.18)	7	20.04 79.96	3.10
Verdes	20.90 (4.09)	14	10.9 30.89	79.10 (4.09)	53	69.11 89.1	14.60
<b>Color de pelo</b>							
Castaño	19.00 (3.92)	61	14.69 23.32	81.00 (3.92)	260	76.68 85.31	70.10
Negro	23.44 (4.26)	15	12.77 34.1	76.56 (4.26)	49	65.9 87.23	14.00
Rojo	16.67 (4.08)	1	0 59.51	83.33 (4.08)	5	40.49 100	1.30
Rubio	13.43 (3.43)	9	5.05 21.81	86.57 (3.43)	58	78.19 94.95	14.60
<b>Raza *</b>							
Blanca	18.93 (3.92)	85	15.29 22.57	81.07 (3.92)	364	77.43 84.71	99.80
Gitana	-	-	- -	-	1	- -	0.20
<b>% Total</b>	<b>18.78 (3.90)</b>	<b>86</b>	<b>15.19 22.37</b>	<b>81.22 (3.90)</b>	<b>372</b>	<b>77.63 84.81</b>	
Variable	Centinela Positivo			Centinela Negativo			Total
	% (DE)	n	95% IC	% (DE)	n	95% IC	% (% perdidos)
<b>Foto tipo</b>	n= 85			n=369			n=454 (0.9%)
1	50.00 (5.77)	2	0.00 100.00	50.00 (5.77)	2	0.00 100.00	0.90
2	17.69 (3.83)	23	11.04 24.34	82.31 (3.83)	107	75.66 88.96	28.60
3	18.43 (3.88)	47	13.64 23.22	81.57 (3.88)	208	76.78 86.36	56.20
4	20.00 (4.03)	13	10.01 29.99	80.00 (4.03)	52	70.01 89.99	14.30

Tabla 12. Tabla de porcentajes de pacientes con ganglio centinela según características físicas de los individuos.



**Color de ojos:** El 50% de los pacientes con ojos negros tuvieron el GC +. En los demás pacientes el porcentaje de GC + fue menor (21.9% en pacientes con ojos azules, 15.44% en pacientes con ojos marrones, y 20.9% en los ojos verdes). (Tabla 12 - Gráfico 2). Sin embargo el intervalo de confianza para el porcentaje de pacientes con ojos negros que tienen ganglio centinela positivo es muy amplio, lo que nos indica la imprecisión de nuestro porcentaje debido al tamaño de la muestra.

**Color de pelo:** Los pacientes con pelo negro tuvieron el ganglio centinela positivo más frecuentemente (23.44%) que en pacientes con pelo castaño (19%), rojo (16.67%) o rubio (13.43%). (Tabla 12 - Gráfico 2)



**Gráfico 3. Porcentajes de ganglio centinela positivo según foto tipo**

**Fototipo:** El porcentaje de pacientes con fototipo 2 que tuvieron GC positivo fue similar a los porcentajes obtenidos en pacientes con fototipo 3 o 4 (17.69%, 18.43% y 20% respectivamente). (Tabla 12 y gráfico 3).

### **1.2.2.- Características del tumor primitivo.**

**Forma clínica:** De los 66.8% pacientes con MES, el 85.95% tuvo el GC negativo, y el 14.05% GC positivo. Los pacientes con MN y MLA tuvieron el GC negativo en el 71% y positivo en el 29% de los casos. Solo a cinco pacientes con LMM le realizamos BSGC y en todos el GC fue negativo (Tabla 13).

**Nivel de Clark:** El porcentaje de pacientes con ganglio positivo aumenta a medida que aumenta el nivel de Clark. Un 13.25% de los pacientes con nivel III, el 28.26% de los pacientes con nivel IV, y a más de un 50% de los pacientes con nivel V tuvieron el GC + (Tabla 13).

**Pigmentación:** El 38% de los melanomas amelanóticos tuvieron el GC + frente a un 17.85% de GC + en pacientes con melanoma pigmentado. (Tabla 13).

**Ulceración:** El 32 % de los melanomas ulcerados tuvieron el GC + frente al 8.67% de los no ulcerados. (Tabla 13).

**Regresión:** El 6,41 de los pacientes con melanomas con signos de regresión tuvieron el GC +, mientras que en los que no tuvieron regresión el porcentaje de GC + fue del 21.32%. (Tabla 13).

**Diámetros, espesor y volumen tumoral:** La media del espesor de Breslow en los MC de pacientes con GC + fue de 3.88 mm y en los pacientes con GC negativo de 2.04 mm. (Tabla 11). El porcentaje de pacientes con ganglio centinela positivo aumenta conforme el volumen tumoral es mayor. Del mismo modo ocurre con el espesor tumoral, a mayor espesor tumoral mayor porcentaje de pacientes con ganglio GC +. Sin embargo parece no existir una gran diferencia entre los porcentajes de pacientes con GC + según los diámetros del tumor.

Variable	Centinela Positivo				Centinela Negativo				Total
	% (DE)	n	95% IC		% (DE)	n	95% IC		% (% perdidos)
<b>Forma Clínica</b>	n=86				n=372				n=458
LMM	-	0	-	-	-	5	-	-	1.10
MLA	29.03 (4.61)	9	12.11	45.96	70.97 (4.61)	22	54.04	87.89	6.80
MN	29.57 (4.58)	34	21.10	38.03	70.43 (4.88)	81	61.97	78.90	25.10
SSM	14.05 (3.48)	43	10.14	17.97	85.95 (3.48)	263	82.03	89.86	66.80
Otros	-	0	-	-	-	1	-	-	0.20
<b>Nivel</b>	n=86				n=371				n=457 (0.2%)
II	3.45 (1.84)	2	0.00	8.29	96.55 (1.84)	56	91.71	100.00	12.70
III	13.25 (3.39)	31	8.87	17.62	86.75 (3.39)	203	82.38	91.13	51.20
IV	28.26 (4.51)	39	20.65	35.87	71.74 (4.51)	99	64.13	79.35	30.20
V	51.85 (5.09)	14	31.71	71.99	48.15 (5.09)	13	28.01	68.29	5.90
<b>Pigmentado</b>	n=86				n=372				n=458
Si	17.85 (3.83)	78	14.14	21.45	82.15 (3.83)	359	78.55	85.76	95.40
No	38.10 (4.97)	8	15.44	60.75	61.90 (4.97)	13	39.25	84.56	4.60
<b>Ulcerado</b>	n=86				n=371				n=457 (0.2%)
Si	32.00 (4.68)	48	24.45	39.55	68.00 (4.68)	102	60.45	75.55	32.80
No	12.38 (3.29)	38	8.67	16.08	87.62 (3.29)	269	83.92	91.33	67.20
<b>Regresión</b>	n=86				n=372				n=458
Si	6.41 (2.46)	5	0.85	11.97	93.59 (2.46)	73	88.03	99.15	17.00
No	21.32 (4.10)	81	17.18	25.45	78.68 (4.10)	299	74.55	82.82	83.00
<b>N. centinelas</b>	n=82				n=370				n=452 (1.3%)
1	15.80 (3.65)	61	12.15	19.46	84.20 (3.65)	325	80.54	87.85	85.40
2	31.25 (4.67)	20	19.58	42.92	68.75 (4.67)	44	57.08	80.42	14.20
3	-	0	-	-	-	1	-	-	0.20
4	-	1	-	-	-	0	-	-	0.20

Tabla 13.- Porcentajes de pacientes con ganglio centinela positivo según características del tumor.

**Localización del tumor primario:** Ningún paciente con el melanoma en la cara o en la mano tuvo GC + (tabla 5). Cuando se reagrupan los datos, el 18.18% de los pacientes que tenían el MC en cabeza y cuello, el 19.05% en el tronco, el 11.83% en las extremidades superiores y el 23.08% en las extremidades inferiores tuvieron GC positivo. (Tabla 14, Tabla 15).

Variable	Centinela Positivo	Centinela Negativo	Total	
			n= 458	%
<b>Localización tumor</b>	n= 86	n=372	n= 458	%
Cuero Cabelludo	3	10	13	2.84
Frente	0	1	1	0.22
Periocular	0	1	1	0.22
Nariz	0	1	1	0.22
Mejilla	0	7	7	1.53
Oreja	0	3	3	0.66
Mentón	0	1	1	0.22
Cuello	3	3	6	1.31
Pecho	5	30	35	7.64
Espalda	27	103	130	28.38
Abdomen	3	12	15	3.28
Glúteo	1	8	9	1.97
Extremidad superior	0	1	1	0.22
Hombro	3	14	17	3.71
Brazo	5	32	37	8.08
Antebrazo	1	26	27	5.90
Mano	0	2	2	0.44
Dedos	2	7	9	1.97
Muslos	6	27	33	7.21
Piernas	17	61	77	17.03
Pie	8	18	26	5.68
Dedos del pie	2	4	6	1.31

Tabla 14. Porcentaje total de pacientes según localización tumoral

**Lado del tumor primario:** Los porcentajes de GC + fueron similares en pacientes con el tumor primario localizado en el lado derecho e izquierdo (19.6 y 19.72% respectivamente). Solo 3 pacientes de un total de 43 pacientes con el tumor localizado en la línea media tuvieron ganglio positivo (6.98%). (Tabla 15).

Variable	Centinela Positivo			Centinela Negativo			Total
	% (DE)	n	95% IC	% (DE)	n	95% IC	
<b>Localización</b>	n= 86			n=372			n=458
Cabeza y Cuello	18.18 (3.91)	6	4.29 32.07	81.82 (3.91)	28	67.93 95.71	7.21
Tronco	19.05 (3.93)	36	13.40 24.70	80.90 (3.93)	153	75.30 86.60	41.27
Extremidad superior	11.83 (3.24)	11	5.14 18.51	88.17 (3.24)	82	81.49 94.86	20.31
Extremidad inferior	23.08 (4.22)	33	16.09 30.07	76.92 (4.22)	109	69.93 83.91	31.22
<b>Lado</b>	n= 84			n=371			n=455 (0.7%)
Derecha	19.60 (3.97)	39	6.27 34.91	80.80 (3.97)	160	74.84 85.97	43.70
Izquierda	19.72 (3.98)	42	11.98 21.22	80.28 (3.98)	171	74.90 85.67	46.80
Media	6.98 (2.57)	3	0.00 73.70	93.02 (2.57)	40	85.09 100.00	9.50

Tabla 15. Porcentajes de pacientes con ganglio centinela positivo según localización y lado del tumor primario

### **1.2.3.- Características relativas al ganglio centinela.**

**Número de ganglios centinelas:** Encontramos que cuanto mayor fue el número de GC también fue mayor el porcentaje de pacientes con GC +. El porcentaje de pacientes con GC + fue del 15.8% en pacientes con un solo ganglio centinela y del 31.25% en los que se localizaron dos centinelas. Solo un paciente tuvo 3 ganglios centinelas con resultado negativo, y el único paciente con 4 ganglios centinelas tuvo un resultado positivo.

#### **Localización del ganglio centinela**

El GC es + con mayor frecuencia en los que se localizan en las ingles (Tabla 16).

Variable	Centinela Positivo			Centinela Negativo			Total		
	% (DE)	n	95% IC		% (DE)	n	95% IC		% (% perdidos)
<b>Localización GC</b>	n= 83			n=371			n=454 (0.9%)		
Cuello y/o Parótida	20.59 (4.10)	7	6.27	34.91	79.41 (4.10)	27	65.09	93.73	7.50
Axila	16.60 (3.72)	42	11.98	21.22	83.40 (3.72)	211	78.78	88.02	55.30
Axila e Ingle	28.57 (4.87)	2	0.00	73.70	71.43 (4.87)	5	26.30	100.00	1.50
Ingle y/o Poplíteo	20.00 (4.01)	32	13.73	26.27	80.00 (4.01)	128	73.73	86.27	35.20
<b>Lado GC</b>	n= 84			n=371			n=455 (0.7%)		
Derecha	18.75 (3.91)	39	13.40	24.10	81.25 (3.91)	169	75.90	86.60	45.70
Bilateral	17.65 (3.86)	6	4.15	31.15	82.35 (3.86)	28	68.85	95.85	7.50
Izquierda	18.31 (3.87)	39	13.07	23.55	81.69 (3.87)	174	76.45	86.93	46.80

Tabla 16. Porcentajes de pacientes con ganglio centinela positivo según localización y lado centinela

El GC fue positivo en el 20% de los pacientes en los que el GC estaba en región inguinal, y en el 16.6% de los pacientes en los que el GC estaba localizado en la axila. Cuando se encontraron dos ganglios (axila e ingle) fue positivo el GC en el 28.57% de los pacientes (tabla 8).

Los porcentajes de pacientes con ganglio centinela positivo según el lado del ganglio centinela fueron similares para las distintas categorías izquierda, derecha o bilateral.

**Invasión del ganglio centinela:** De los pacientes con GC +, 51 tuvieron micrometástasis (59.3%) y 35 micro-macrometástasis (40.7%) (Tabla 17).

Variable	Centinela Positivo	
	%	n
<b>Invasión</b>	n=86	
Micro metástasis	59.30	51
Macro metástasis	40.70	35

Tabla 17. Porcentajes de pacientes con ganglio centinela positivo que tuvieron micro-metástasis y macro-metástasis

#### **1.2.4.- Características evolutivas. Evolución después de GC.**

**Disección ganglionar.-** De los 86 pacientes con ganglio centinela positivo le realizamos disección ganglionar a 80 (93%); a los seis restantes le realizaron la disección en su hospital de procedencia por lo que no incluimos sus datos. Entre los que tuvieron el GC negativo a un 3% fue necesario realizar disección ganglionar a lo largo del periodo de observación. De éstos en el 26.66% la disección ganglionar fue positiva (Tabla 18).

Variable	Centinela Positivo		Centinela Negativo		Total	
	%	n	%	n	%	n
<b>Disección</b>	n=86		n=372		n=458	
No	7.00	6	97.00	361	80.10	367
Terapéutica	93.00	80	3.00	11	19.90	91

Tabla 18.- Porcentajes de pacientes diseccionados según ganglio centinela.

**Desarrollo de metástasis.-** Un 9% de todos los pacientes desarrollaron metástasis en zonas distintas al GC. De ellos, el 21.30% de los pacientes tuvieron el GC+ y sólo padecieron metástasis el 6.50% de los pacientes con centinela negativo (Tabla 19).

Variable	Centinela Positivo		Centinela Negativo		Total	
	%	n	%	n	%	n
<b>Metástasis</b>	n=75		n=367		n=442 (3.5% perdidos)	
Si	21.30	16	6.50	24	9.00	40
No	78.70	59	93.50	343	91.00	402

Tabla 19.- Porcentajes de pacientes con metástasis según estado del GC.



**Recidiva ganglionar.**- Aproximadamente el 5% de los pacientes tuvieron recidiva ganglionar después de hacer disección ganglionar. El 13.5% de los pacientes con GC+ tuvieron recidiva ganglionar mientras que solo un 3% de los paciente con centinela negativo tuvieron recidiva ganglionar (Tabla 20).

Variable	Centinela Positivo		Centinela Negativo		Total	
	%	n	%	n	%	n
<b>Recidiva</b>	n=74		n=367		n=441 (3.7% perdidos)	
Si	13.50	10	3.00	11	4.80	21
No	86.50	64	97.00	356	95.20	420

Tabla 20.- Porcentajes de pacientes con recidiva según ganglio centinela

**Situación actual del paciente:** Menos del 5% de los pacientes (4.5%) de la muestra han fallecido a la fecha de cierre del estudio. De los pacientes que tuvieron GC positivo el porcentaje de fallecidos fue de un 7.6% mientras que el porcentaje de pacientes que han muerto GC negativo fue del 3.9% (Tabla 21).

Variable	Centinela Positivo		Centinela Negativo		Total	
	%	n	%	n	%	n
<b>Situación actual paciente</b>	n= 66		n=331		n=396 (13.3% perdidos)	
Muerto	7.60	5	3.90	13	4.50	18
Vivo	92.40	61	96.1	318	95.50	379

Tabla 21.- Porcentajes de pacientes vivos o muertos al cierre del estudio.

### **MODELO UNIFACTORIAL PARA GANGLIO CENTINELA POSITIVO:**

En la tabla 22 se recoge el análisis unifactorial para ganglio centinela positivo. La relación entre las distintas variables y ganglio centinela positivo muestra significación ( $p < 0.05$ ) en las variables color de ojos, pigmentación, forma anatomoclínica, ulceración, nivel de clark, y números de centinela.

El color de ojos negro, la presencia de ulceración, los niveles de Clark IV y V, y encontrar más de un ganglio en la BSGC son factores que influyen de forma significativa en el análisis univariante para tener un GC positivo.

El que el tumor primario sea pigmentado y la forma anatomoclínica SSM, son factores que se asocian negativamente de forma significativa a ganglio centinela positivo.

Modelos unifactoriales Ganglio Positivo							
VARIABLES (Base)	N	Parámetro	DE	P-valor	Exp(B)	IC 95%	
<b>Físicas</b>							
Edad	458	0.01	0.01	0.32	1.01	0.99	1.02
Sexo (Mujer) Hombre	458	0.19	0.24	0.44	1.21	0.75	1.93
Color Pelo (Castaño)	458						
Negros		0.27	0.33	0.42	1.31	0.68	2.48
Rojo		-0.16	1.10	0.89	0.85	0.09	7.42
Rubio		-0.41	0.39	0.28	0.66	0.31	1.40
Color de Ojos (Azules)	458						
Marrones		-0.43	0.29	0.14	0.65	0.36	1.14
Negros		1.27	0.58	0.03	3.56	1.13	11.20
Verdes		-0.06	0.38	0.88	0.94	0.44	1.99
<b>Clínicas</b>							
Diámetro Mayor	441	-0.05	0.07	0.43	0.95	0.83	1.08
Diámetro Menor	441	-0.12	0.10	0.25	0.89	0.72	1.08
Espesor	458	0.25	0.05	0.00	1.27	1.16	1.39
Volumen	441	-0.01	0.03	0.83	0.99	0.94	1.05
Pigmentación (No) Si	458	-1.04	0.47	0.03	0.35	0.14	0.88
Úlcera (No) Si	457	1.20	0.25	0.00	3.33	2.06	5.39
Forma Clínica (MLA)	452						
MN		0.26	0.44	0.95	1.02	0.43	2.45
SSM		-0.92	0.42	0.03	0.40	0.17	0.92
Nivel (II y III)	457						
IV		1.12	0.26	0.00	3.09	1.84	5.19
V		2.13	0.42	0.00	8.45	3.65	19.52
Fototipo (1 y 2)	454						
3		-0.15	0.27	0.96	0.99	0.57	1.68
4		0.09	0.38	0.82	1.09	0.51	2.30
Numero Centinela (1) 2 o mas	452	0.91	0.30	0.00	2.49	1.38	4.47
Localización (Cabeza y Cuello)	458						
Tronco		0.06	0.49	0.91	1.06	0.41	2.76
Extremidad superior		-0.51	0.55	0.36	0.60	0.20	1.79
Extremidad inferior		0.30	0.49	0.54	1.35	0.51	3.55
Lado (Derecho)	455						
Izquierdo		0.01	0.25	0.98	1.01	0.62	1.64
Medio		-1.18	0.62	0.06	0.31	0.09	1.05
Localización Centinela (Cuello y Parótida)	454						
Axila/ Cuello		-0.26	0.46	0.56	0.77	0.31	1.87
Axila/ Ingle		0.43	0.94	0.64	1.54	0.24	9.70
Ingle y/o Poplíteo		-0.04	0.47	0.94	0.96	0.38	2.41
Lado (Derecho)	455						
Bilateral		-0.07	0.48	0.88	0.93	0.36	2.40
Izquierdo		-0.03	0.25	0.91	0.97	0.59	1.59

Tabla 22.- Modelo unifactorial para ganglio centinela positivo.

### 1.3.- DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES DE LOS PACIENTES A LOS QUE SE REALIZÓ DISECCIÓN GANGLIONAR.

**Edad:** La edad media fue 52.47años. Los pacientes que tuvieron más ganglios positivos en la disección tenían mayor edad. Cuando la disección fue positiva la edad media fue 56 años, cuando fue negativa de 51.25 años.

Al reagrupar a los pacientes por edades en tres categorías, en las que cada una incluye un 33% de tamaño muestral, se observó que el porcentaje de pacientes con disección ganglionar positiva fue mayor en los individuos > de 61 años (Grafico 4).

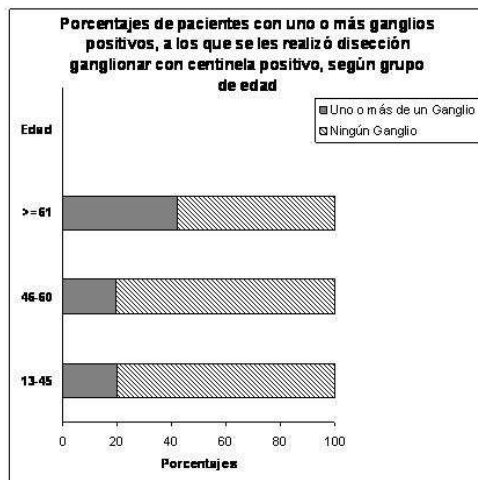


Gráfico 4.- Porcentaje de pacientes con uno o más ganglios positivos según edad de los pacientes con centinela positivo y diseccionado

**Sexo:** La disección fue positiva en el 13% de las mujeres y el 40% de hombres. (Tabla 23 y Gráfico 5).

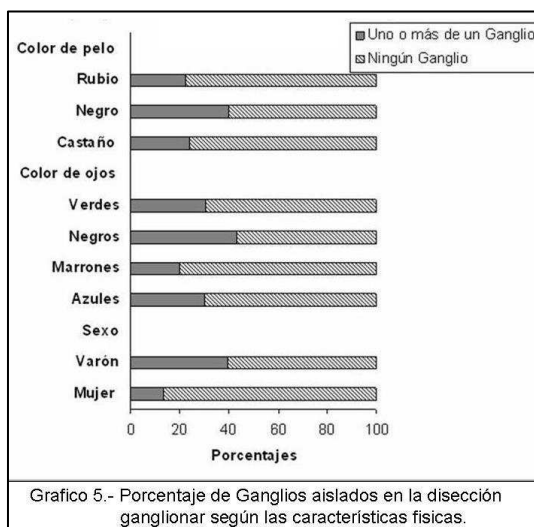


Gráfico 5.- Porcentaje de Ganglios aislados en la disección ganglionar según las características físicas.

Variable	Ningún Ganglio (n=55)				Uno o más de un Ganglio (n=20)				Total (n=75)
	Media/% (DE)	n	95% IC		Media/% (DE)	n	95% IC		Media/%
<b>Edad</b>	51.25 (13.82)	55	47.52	54.99	55.80 (18.78)	20	47.01	64.59	52.47
<b>Sexo</b>									
Mujer	86.49 (3.46)	32	74.93	98.04	13.51 (3.46)	5	1.96	25.07	49.30
Varón	60.53 (4.95)	23	44.24	76.81	39.47 (4.95)	15	23.19	55.76	50.70
<b>Color ojos</b>									
Azules	70.00 (4.70)	14	48.00	92.00	30.00 (4.70)	6	8.00	52.00	26.70
Marrones	80.00 (4.05)	28	66.06	93.94	20.00 (4.05)	7	6.00	33.94	46.70
Negros	57.14 (5.34)	4	7.71	100.00	42.86 (5.34)	3	0.00	92.29	9.30
Verdes	69.23 (4.80)	9	40.20	98.26	30.77 (4.80)	4	1.74	59.80	17.30
<b>Color pelo</b>									
Castaño	76.00 (4.31)	38	63.74	88.26	24.00 (4.31)	12	11.74	36.26	66.70
Negro	60.00 (5.07)	9	31.92	88.08	40.00 (5.07)	6	11.92	68.08	20.00
Rojo	-	1	-	-	-	0	-	-	1.30
Rubio	77.78 (4.40)	7	43.88	100	22.22 (4.40)	2	0	56.12	12.00
<b>% Total</b>	<b>73.33 (4.45)</b>	<b>55</b>	<b>63.09</b>	<b>83.58</b>	<b>26.66 (4.45)</b>	<b>20</b>	<b>16.42</b>	<b>36.91</b>	

Tabla 23.- Porcentajes de otros ganglios positivos según características físicas de los pacientes con ganglio centinela positivo y disección terapéutica

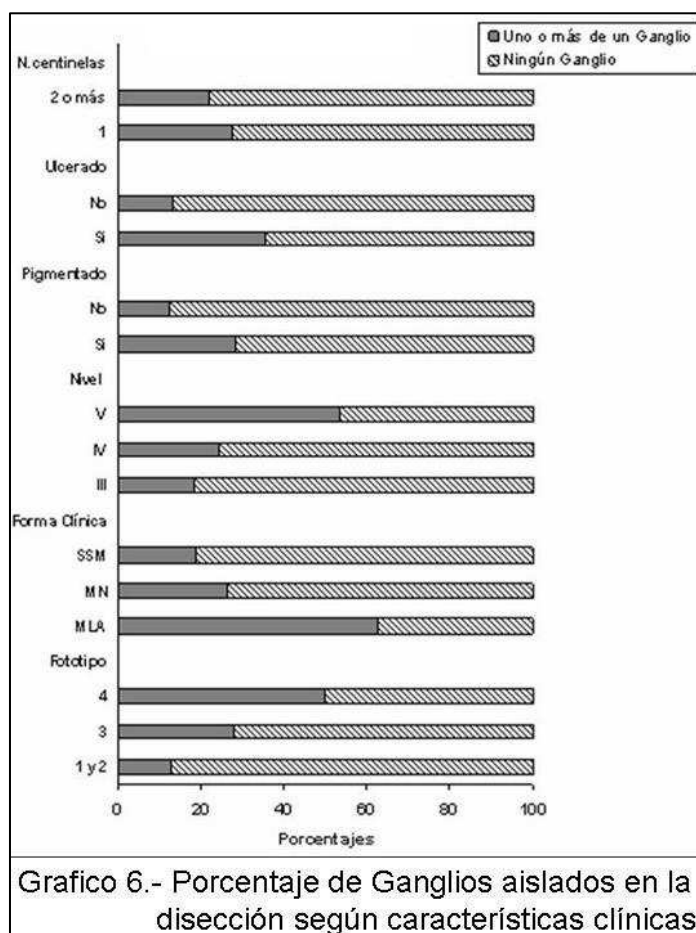
**Color de ojos:** En el 30% y 30.77% de los pacientes con ojos claros (azules y verdes respectivamente) la disección ganglionar fue positiva, mientras que el porcentaje de pacientes con ojos marrones a los que se les detectó ganglios positivos fue del 20%. (Tabla 23 y Grafico 5).

**Color de pelo:** Los pacientes con pelo negro tuvieron una disección ganglionar positiva con mayor frecuencia (40%) que el resto de pacientes con otros colores de pelo (24% en castaños y 22.2% en rubios) (Tabla 23 y Grafico 5).

**Fototipo:** El 31% de los pacientes a los que se hizo disección tenían fototipo I-II, el 52% fototipo III y solo un 16% fototipo IV.

La disección ganglionar fue positiva con más frecuencia en los pacientes con fototipo IV (50%), que en los demás (Tabla 24 y Grafico 6).

**Forma anatomoclínica:** De los pacientes a los que se realizó disección ganglionar el 49.3% tenían un MES, el 40% MN y el 10% un MLA. La disección ganglionar fue positiva con más frecuencia en los MLA que en otras formas (62% frente al 26% y 19%) (Tabla 24 y Grafico 6).



**Nivel de Clark:** Es más frecuente encontrar ganglios afectados en la disección ganglionar conforme aumenta el nivel de invasión. La disección fue positiva en el 53.85% de los pacientes con tumores nivel V, en el 24.24 % con nivel IV y 18.52 % con nivel III (Tabla 24 y Gráfico 6).

**Pigmentación:** Cuando el melanoma fué amelanotico el porcentaje de disecciones positivas fue menor que en los tumores pigmentados (12% vs 28%) (Tabla 24 y Gráfico 6).

**Ulceración:** La ulceración en el tumor confiere un mayor riesgo de ganglios positivos en la disección. La disección fue positiva en el 35.56% de los pacientes con melanoma ulcerado y sólo en el 13.33% de los pacientes con MC no ulcerado (Tabla 24 y Gráfico 6).

**Regresión:** Entre los pacientes a los que realizamos disección ganglionar, sólo se encontraron signos de regresión en el 5.3% y en todos ellos la disección fue negativa (Tabla 24 y Gráfico 6).

Variable	Ningún Ganglio				Uno o más de un Ganglio				Total
	% (DE)	n	95% IC		% (DE)	n	95% IC		
<b>Fototipo</b>	n= 54				n=20				n=74 (1.35%)
1 y 2	86.96 (3.44)	20	72.07	100.00	13.03 (3.44)	3	0.00	27.93	31.10
3	71.79 (4.55)	28	57.02	86.57	28.21(4.55)	11	13.43	42.98	52.70
4	50.00 (5.22)	6	16.82	83.18	50.00 (5.22)	6	16.82	83.18	16.20
<b>Forma Clínica</b>	n=55				n=20				n=75
MLA	37.50 (5.17)	3	0.00	80.77	62.50 (5.17)	5	19.23	100.00	10.70
MN	73.33 (4.49)	22	56.84	90.13	26.67 (4.49)	8	9.87	43.46	40.00
SSM	81.08 (3.97)	30	67.84	94.32	18.92 (3.97)	7	5.68	32.16	49.30
<b>Nivel</b>	n=55				n=20				n=75
II	-	2	-	-	-	0	-	-	2.66
III	81.48 (3.95)	22	65.82	97.14	18.52 (3.95)	5	2.86	34.18	36.00
IV	75.76 (4.35)	25	60.33	91.19	24.24 (4.35)	8	8.88	39.67	44.00
V	46.15 (5.18)	6	14.80	77.51	53.85 (5.18)	7	22.49	85.20	17.33
<b>Pigmentado</b>	n=55				n=20				n=75
Si	71.64 (4.54)	48	71.64	60.56	28.36 (4.54)	19	17.28	39.44	89.30
No	87.50 (3.53)	7	57.94	100.00	12.50 (3.53)	1	0.00	42.06	10.70
<b>Ulcerado</b>	n=55				n=20				n=75
Si	64.44 (4.84)	29	49.90	78.99	35.56 (4.84)	16	21.01	50.10	60.00
No	86.67 (3.45)	26	73.76	99.58	13.33 (3.45)	4	0.42	26.24	40.00
<b>Regresión</b>	n=55				n=20				n=75
Si	-	4	-	-	-	0	-	-	5.30
No	71.83 (4.53)	51	61.11	82.55	28.17 (4.53)	20	17.45	38.89	94.70
<b>N. centinelas</b>	n=53				n=19				n=72 (4%)
1	72.22 (4.52)	39	59.88	84.56	27.78 (4.52)	15	15.44	40.12	75.00
2 o más	77.78 (4.27)	14	56.50	99.05	22.22 (4.27)	4	0.95	43.50	25.00

Tabla 24. Porcentajes de pacientes con centinela positivo y disección terapéutica que tuvieron uno o más ganglios positivos según las características clínicas del paciente.

**Número de ganglios centinelas localizados:** Cuando se localizó más de un ganglio centinela, el porcentaje de disección positiva fue del 22.22% frente al 27.78% en los casos de un solo GC (Tabla 24 y Grafico 6).

**Espesor:** Cuanto mayor fue el espesor y el volumen del tumor mayor fue el porcentaje de pacientes con disección ganglionar positiva. En los pacientes con disección ganglionar positiva la media del espesor fue de 5,06 mm y de 3,76mm cuando fue negativa. Igual sucede con el volumen del tumor. La media del volumen en los pacientes con disección positiva fue de 1,26 cm<sup>3</sup> y de 0,64 cm<sup>3</sup> en las disecciones negativas (tabla 25).

Variable	Ningún Ganglio (n=55)			Uno o más de un Ganglio (n=20)			Total (n=75)		
	Media/% (DE)	n	95% IC	Media/% (DE)	n	95% IC	Media/%(DE)	n	95% IC
Diámetro < (cm)	1.11 (0.62)	54	0.94 1.28	1.52 (1.21)	20	0.95 2.09	1.22 (0.83)	74	1.03 1.41
Diámetro > (cm)	1.53 (0.86)	54	1.29 1.76	1.95 (1.63)	20	1.19 2.72	1.64 (1.13)	74	1.38 1.90
Espesor (mm)	3.76 (3.49)	55	2.81 4.70	5.06 (2.53)	20	3.87 6.24	4.10 (3.29)	75	3.35 4.86
Volumen (cm <sup>3</sup> )	0.64 (1.29)	54	0.29 0.99	1.26 (2.17)	20	0.25 2.28	0.81 (1.58)	74	0.45 1.18

Tabla 25. Medias del tamaño tumoral en pacientes con uno o más ganglios positivos, a los que se les realizó disección ganglionar con centinela positivo.

**Invasión del ganglio centinela:** En los pacientes con micrometástasis en el GC encontramos otros ganglios linfáticos invadidos sólo en un 9.09 %, mientras que en los que tenían micro-macrometástasis fue del 51.61% (Tabla 26).

Variable	Ningún Ganglio			Uno o más de un Ganglio			Total
	% (DE)	n	95% IC	% (DE)	n	95% IC	% (% perdidos)
<b>Invasión</b>	n=55			n=20			n=75
Micro metástasis	90.91 (2.90)	40	82.07 99.75	9.09 (2.90)	4	0.25 17.93	58.70
Macro metástasis	48.39 (5.88)	15	29.75 67.02	51.61 (5.08)	16	32.98 70.25	41.30

Tabla 26. Porcentajes de pacientes con GC + y uno o más ganglios + en la D ganglionar.

**Desarrollo de metástasis a distancia:** Un 20 % de los pacientes a los que se realizó disección ganglionar por GC + desarrollaron metástasis en otras localizaciones, que fue mayor en los pacientes en los que se encontró uno o más ganglios invadidos en la disección ganglionar (31.2% vs 17.6%) (Tabla 27).

Variable	Ningún Ganglio		Uno o más de un Ganglio		Total	
	%	n	%	n	%	n
<b>Metástasis</b>	n=51		n=16		n=67 (10.6% perdidos)	
Si	17.60	9	31.20	5	20.90	14
No	82.40	42	68.80	11	79.10	53

Tabla 27.- Porcentajes de pacientes con metástasis a distancia después de disección.

**Recidiva ganglionar:** Del total de pacientes a los que se realizó disección ganglionar en un 13.6% se produjo posterior recidiva ganglionar en el área disecada. El 33.3% de los pacientes con disección ganglionar positiva tuvieron recidiva ganglionar y solo un 7.8% de los pacientes con disección negativa tuvieron recidiva ganglionar (tabla 28).

Variable	Ningún Ganglio		Uno o más de un Ganglio		Total	
	%	n	%	n	%	n
<b>Recidiva</b>	n=51		n=15		n=66 (12% perdidos)	
Si	7.80	4	33.30	5	13.60	9
No	92.20	47	66.70	10	86.40	57

Tabla 18.- Porcentajes de pacientes con recidiva ganglionar después de disección.



## 2.- ANÁLISIS BIVARIANTE.

De acuerdo con nuestros objetivos lo que pretendemos es modelizar los datos de los pacientes con GC Positivo o Negativo, por lo que no es necesario realizar un análisis bivariente completo. Sin embargo, a modo de introducción y con el fin de resumir los resultados en función de las dos variables sociodemográficas más importantes, la edad y el sexo, incluimos las tablas bivariantes del cruce de edad y sexo en relación a las otras variables.

### 2.1.- DESCRIPTIVO DIVARIADO RESPECTO A LA EDAD.

Variables / Edad en años	Centinela Positivo					Centinela Negativo				
	5 a 37	38 a 47	48 a 56	57 a 64	>=65	5 a 37	38 a 47	48 a 56	57 a 64	>=65
	n=86					n=372				
<b>Forma Clínica</b>	n (%)					n (%)				
LMM	-	-	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-	-	2 (100)	1 (100)	2 (100)
MLA	-	0 (0)	2 (22.2)	2 (25)	5 (38.5)	-	1 (100)	7 (77.8)	6 (75)	8 (61.5)
MN	6 (28.6)	8 (26.7)	5 (26.3)	4 (21.1)	11 (42.3)	15 (71.4)	22 (73.3)	14 (73.7)	15 (78.9)	15 (57.7)
SSM	10(13.7)	8 (13.8)	5 (7.6)	14 (28)	6 (10.2)	63 (86.3)	50 (86.2)	61 (92.4)	36 (72.0)	53 (89.8)
Otros	-	-	0 (0)	-	-	-	-	1 (100)	-	-
<b>Nivel</b>	n=86					n=371				
II	0 (0)	2 (14.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	11 (100)	12 (85.7)	13 (100)	8 (100)	12 (100)
III	9 (15.8)	5 (11.4)	7 (11.7)	7 (22.6)	3 (7.1)	48 (84.2)	39 (88.6)	53 (88.3)	24 (77.4)	39 (92.9)
IV	5 (22.7)	8 (28.6)	4 (20.0)	10 (33.3)	12 (31.6)	17 (77.3)	20 (71.4)	16 (80)	20 (66.7)	26 (68.4)
V	2 (50)	1 (33.3)	1 (33.3)	3 (33.3)	7 (87.5)	2 (50)	2 (66.7)	2 (66.7)	6 (66.7)	1 (12.5)
<b>Pigmentado</b>	n=86					n=372				
Si	14 (15.9)	15 (17.2)	12 (12.6)	19 (26)	18 (19.1)	74 (84.1)	72 (82.8)	83 (87.4)	54 (74)	76 (80.9)
No	2 (33.3)	1 (50)	0 (0)	1 (20)	4 (66.6)	4 (66.7)	1 (50)	2 (100)	4 (80)	2 (33.3)
<b>Ulcerado</b>	n=86					n=371				
Si	7 (31.8)	8 (36.4)	5 (15.6)	12 (33.3)	16 (42.1)	15 (68.2)	14 (63.3)	27 (84.4)	24 (66.7)	22 (57.9)
No	9 (12.5)	8 (11.9)	7 (10.8)	8 (19)	6 (9.8)	63 (87.5)	59 (88.1)	58 (89.2)	34 (81.0)	55 (90.2)
<b>Regresión</b>	n=86					n=372				
Si	1 (7.1)	3 (15)	0 (0)	1 (6.2)	0 (0)	13 (92.9)	17 (85)	12 (100)	15 (93.8)	16 (100)
No	15 (18.8)	13 (18)	12 (14.1)	19 (30.6)	22 (26.2)	65 (81.2)	56 (81.2)	73 (85.9)	43 (69.4)	62 (73.8)
<b>N. centinelas</b>	n=82					n=370				
1	13 (14.8)	12 (16.2)	8 (10.1)	14 (22.2)	14 (17.1)	75 (85.2)	62 (83.2)	71 (89.9)	49 (77.8)	68 (82.9)
2	2 (50)	4 (26.7)	4 (22.2)	4 (36.4)	6 (37.5)	2 (50)	11 (73.3)	14 (77.8)	7(63.6)	10 (62.5)
3	-	-	-	0 (0)	-	-	-	-	1 (100)	-
4	-	-	-	1 (100)	-	-	-	-	0 (0)	-
<b>Total (n=458)</b>	16 (17)	16 (18)	12 (12.4)	20 (25.6)	22 (22)	78 (83.0)	73 (82.0)	85 (87.6)	58 (74.4)	78 (78.0)

Tabla 29.- Análisis descriptivo bivariado respecto a la edad

**Edad y forma anatomoclínica.**- El MES fue la forma clínica dominante en todas las edades. Entre los pacientes que tuvieron GC positivo, el MN fue la forma clínica más frecuente en todos los grupos de edades, excepto en las edades comprendidas entre los 57-64 años, que fue el MES. En este grupo de edad, el

porcentaje de pacientes con MN que tuvieron ganglio positivo fue 21.1% mientras que en grupo de pacientes con SSM fue del 28% (Tabla 29).

**Edad y Nivel de Clark.**- En todos los grupos predomina el nivel III de Clark y en los mayores de 57 años aumentan los casos de nivel IV de Clark. En todas las edades, a medida que aumenta el nivel de Clark se incrementa en el porcentaje de pacientes con ganglios positivos (Tabla 29).

**Edad y ulceración.**- La ulceración es más frecuente en los grupos de mayor edad. Para todas las edades, cuando hubo signos de ulceración el porcentaje de pacientes que tuvieron GC positivo fue mayor que en los casos sin ulceración (Tabla 29).

**Edad y número de centinelas.**- En el grupo con edades comprendidas entre 48-56 años fue más frecuente localizar dos ganglios centinelas. En todos los grupos etarios las posibilidades de GC + son mayores en los casos en que se encontraron más de un GC (Tabla 29).

**Edad y tamaño del tumor.** En el grupo de pacientes con edades comprendidas entre 57 y 64 años y GC + encontramos los tumores con mayores diámetros, mayor espesor y mayor volumen que en pacientes de otros grupos de edad. (Tabla 30).

**Edad y espesor de Breslow.**- El espesor del tumor fue mayor en el grupo de pacientes con más de 57 años. En todas las edades el espesor fue mayor en pacientes con ganglio centinela positivo (Tabla 30).

**Edad y fototipo.**- El fototipo III predomina en todas las edades. En el grupo entre 5-37 años se observa que los porcentajes de pacientes con GC + fueron disminuyendo a medida que el fototipo es mayor a diferencia de lo que ocurre en los otros grupos de edades (tabla 31).

**Edad y lado del tumor primario:** En menores de 47 años el GC se encontró con más frecuencia en la derecha y a partir de los 48 años en la izquierda (Tabla 32).

**Edad y localización del tumor primario.**- (Tabla 32). En todas las edades el tumor primario se localizó con más frecuencia en el tronco, excepto en mayores 65 años que fue más frecuente en las extremidades inferiores.

El porcentaje de ganglios centinela positivo en pacientes de 5 a 37 fue mayor cuando el tumor se localizaba en el tronco (21.4%); en los pacientes de 38 a 47 y de 48 a 56 años, en cabeza y cuello (28.6% y 16.7% respectivamente) y en pacientes mayores de 57 años, en extremidades inferiores (34.8% y 33.3% para los mayores de 65 años).

Variables / Edad en años	Centinela Positivo				
	5 a 37	38 a 47	48 a 56	57 a 64	>=65
	n=86				
	Media (SD)				
Diámetro Menor (cm)	0.97 (0.42)	1.18 (1.26)	1.10 (0.88)	1.40 (0.88)	1.24 (0.56)
Diámetro Mayor (cm)	1.24 (0.51)	1.69 (1.79)	1.51 (1.11)	1.89 (1.16)	1.61 (0.66)
Espesor (mm)	3.92 (3.42)	2.92 (2.38)	3.17 (2.18)	4.82 (4.47)	4.53 (2.16)
Volumen (cm <sup>3</sup> )	0.42 (1.02)	0.67 (1.59)	0.65 (1.46)	1.29 (2.28)	0.57 (0.59)
Total (n=458)	16	16	12	20	22
	Centinela Negativo				
	5 a 37	38 a 47	48 a 56	57 a 64	>=65
	n=372				
	Media (SD)				
Diámetro Menor (cm)	1.91 (5.92)	0.92 (0.37)	1.65 (2.40)	1.44 (1.30)	1.98 (3.08)
Diámetro Mayor (cm)	1.95 (5.82)	1.25 (0.55)	3.52 (13.19)	1.66 (1.12)	2.40 (3.16)
Espesor (mm)	1.84 (2.11)	1.88 (1.91)	1.69 (1.58)	2.30 (2.51)	2.52 (2.60)
Volumen (cm <sup>3</sup> )	1.34 (9.24)	0.14 (0.21)	1.06 (5.21)	0.61 (1.82)	1.07 (4.64)
Total (n=458)	78	73	85	58	78

Tabla 30.- Análisis descriptivo bivariado : Tamaño del tumor / edad

Variables / Edad en años	Centinela Positivo					Centinela Negativo				
	5 a 37	38 a 47	48 a 56	57 a 64	>=65	5 a 37	38 a 47	48 a 56	57 a 64	>=65
	n=85					n=369				
Fototipo	n (%)					n (%)				
1	-	0 (0)	-	1 (100)	1 (50)	-	1 (100)	-	0 (0)	1 (50)
2	7 (28)	4 (14.3)	3 (11.5)	7 (24.1)	2 (9.1)	18 (72)	24 (85.7)	23 (88.5)	22 (75.9)	20 (90.9)
3	6 (12.2)	8 (16.0)	6 (10.9)	12 (30.8)	15 (24.2)	43 (87.8)	42 (84)	49 (89.1)	27 (69.2)	47 (75.8)
4	2 (11.1)	4 (40.0)	3 (20.0)	0 (0)	4 (30.8)	16 (88.9)	6 (60)	12 (80.0)	9 (100)	9 (69.2)
Total (n=454)	15 (16.3)	16 (18)	12 (12.5)	20 (25.6)	22 (22.2)	77 (83.7)	73 (82)	84 (87.5)	58 (74.4)	77 (77.8)

Tabla 31.- Análisis descriptivo bivariado: Fototipo / edad

Variables / Edad en años	Centinela Positivo					Centinela Negativo				
	5 a 37	38 a 47	48 a 56	57 a 64	>=65	5 a 37	38 a 47	48 a 56	57 a 64	>=65
	n=86					n=372				
Localización	n (%)					n (%)				
Cabeza y Cuello	0 (0)	2 (28.6)	1 (16.7)	1 (20)	2 (20)	5 (100)	5 (71.4)	5 (83.3)	4 (80)	8 (80)
Tronco	9 (21.4)	9 (19.1)	3 (8.3)	10 (32.3)	5 (15.2)	33 (78.6)	38 (80.9)	33 (91.7)	21 (67.7)	28 (84.4)
Extremidad superior	1 (6.7)	3 (21.4)	3 (12.5)	1 (5.3)	3 (14.3)	14 (93.3)	11 (78.6)	21 (87.5)	18 (94.7)	18 (85.7)
Extremidad inferior	6 (18.8)	2 (9.5)	5 (16.1)	8 (34.8)	12 (33.3)	26 (81.2)	19 (90.5)	26 (83.9)	15 (65.2)	24 (66.7)
Lado	n=84					n=371				
Derecha	10 (20.8)	7 (22.6)	2 (6.1)	9 (25)	11 (21.6)	38 (79.2)	24 (77.4)	31 (93.9)	27 (75)	40 (78.4)
Izquierda	6 (14.6)	8 (16.3)	8 (16)	9 (28.1)	11 (26.8)	35 (85.4)	41 (83.7)	42 (84)	23 (71.9)	30 (73.2)
Media	0 (0)	1 (11.1)	1 (7.7)	1 (12.5)	0 (0)	5 (100)	8 (88.9)	12 (92.3)	7 (87.5)	8 (100)
Total (n=455)	16 (17)	16 (18)	11 (11.5)	19 (25)	22 (22)	78 (83)	73 (82)	85 (88.5)	57 (75)	78 (78)

Tabla 32.- Análisis descriptivo bivariado: localización tumor primario / edad

**Edad y localización del ganglio centinela.-**

No hay diferencias importantes entre la edad del paciente y la localización del GC+, salvo en los que se localizan en la ingle que predomina en pacientes mayores 57 años. Igual sucede en la localización del ganglio en el dedo derecho o izquierdo, aunque cuando el GC+ es bilateral es más frecuente en pacientes con edades comprendidas entre los 38 y 47 años (tabla 33).

Variables / Edad en años	Centinela Positivo					Centinela Negativo				
	5 a 37	38 a 47	48 a 56	57 a 64	>=65	5 a 37	38 a 47	48 a 56	57 a 64	>=65
	n=83					n=371				
<b>Localización GC</b>	<b>n (%)</b>					<b>n (%)</b>				
Cuello y/o Parótida	0 (0)	3 (37.5)	1 (16.7)	1 (20.0)	2 (20.0)	5 (100)	5 (62.5)	5 (83.3)	4 (80)	8 (80)
Axila y/o Ingle	9 (17)	11 (20.0)	5 (9.4)	10 (22.2)	7 (14.9)	44 (83)	44 (80)	48 (90.6)	35 (77.8)	40 (85.1)
Ingle y/o Poplíteo	6 (17.1)	1 (4.2)	5 (14.7)	8 (32.0)	12 (28.6)	29 (82.9)	23 (95.8)	29 (85.3)	17 (68)	30 (71.4)
<b>Total (n=454)</b>	15 (16.1)	15 (17.2)	11 (11.8)	19 (25.3)	21 (21.2)	78 (83.9)	72 (82.8)	82 (88.2)	56 (74.7)	78 (78.8)
<b>Lado Centinela</b>	<b>n=84</b>					<b>n=371</b>				
Derecha	10 (20.8)	6 (18.8)	2 (5.7)	10 (25.6)	11 (20.4)	38 (79.2)	26 (81.2)	33 (94.3)	29 (74.4)	43 (79.6)
Bilateral	1 (16.7)	3 (33.3)	1 (11.1)	0 (0)	1 (14.3)	5 (83.3)	6 (66.7)	8 (88.9)	3 (100)	6 (85.7)
Izquierda	5 (12.5)	7 (14.6)	8 (15.4)	9 (26.5)	10 (25.6)	35 (87.5)	41 (85.4)	44 (84.6)	25 (73.5)	29 (74.4)
<b>Total (n=455)</b>	16 (17)	16 (18)	11 (11.5)	19 (25)	22 (22)	78 (83)	73 (82)	85 (88.5)	57 (75)	78 (78)

Tabla 33.- Análisis descriptivo bivariado: localización GC / edad

## 2.2.- DESCRIPTIVO BIVARIADO CON RESPECTO AL SEXO

Los porcentajes de GC+ según las características clínicas fueron muy parecidos en ambos sexos.

Variables / Sexo	Centinela Positivo		Centinela Negativo	
	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer
	n=86		n=372	
<b>Forma Clínica</b>	n(%)		n(%)	
LMM	0 (0)	0 (0)	4 (100)	1 (100)
MLA	5 (33.3)	4 (25)	10 (66.7)	12 (75)
MN	16 (29.1)	18 (30)	39 (70.9)	42 (70)
SSM	23 (16.2)	20 (12.2)	119 (83.8)	144 (87.8)
Otros	0 (0)	-	1 (100)	-
<b>Nivel</b>	n=86		n=371	
II	1 (4.3)	1 (2.9)	22 (95.7)	34 (97.1)
III	18 (15.4)	13 (11.1)	99 (84.6)	104 (88.9)
IV	17 (27.4)	22 (28.9)	45 (72.6)	54 (71.1)
V	8 (57.1)	6 (46.2)	6 (42.9)	7 (53.8)
<b>Pigmentado</b>	n=86		n=372	
Si	41 (19.8)	37 (16.1)	166 (80.2)	193 (83.9)
No	3 (30)	5 (45.5)	7 (70)	6 (54.5)
<b>Ulcerado</b>	n=86		n=371	
Si	26 (34.7)	22 (29.3)	49 (65.3)	53 (70.7)
No	18 (12.8)	20 (12.0)	123 (87.2)	146 (88)
<b>Regresión</b>	n=86		n=372	
Si	3 (8.1)	2 (4.9)	34 (91.9)	39 (95.1)
No	41 (22.8)	40 (20)	139 (77.2)	160 (80)
<b>N. centinelas</b>	n=82		n=370	
1	31(17.6)	30 (14.3)	145 (82.4)	180 (85.7)
2	12 (31.6)	8 (30.8)	26 (68.4)	18 (69.2)
3	0 (0)	-	1 (100)	-
4	-	1 (100)	-	0 (0)
<b>Total</b>	44 (20.3)	42 (17.4)	173 (79.7)	199 (82.6)

Tabla 34.- Análisis descriptivo bivariado respecto al sexo.

**Sexo y forma anatomoclínica.**- En nuestra muestra, tanto en el varón como en la mujer, la forma anatomoclínica predominante fue el MES, seguida del MN, MLA y LMM.

En los varones, el GC fue positivo con más frecuencia en casos de MLA (33.3%) y MN (29.1%) y en las mujeres en MN (30%) seguido por el MLA (25%) (Tabla 34).

**Sexo y nivel de Clark.**- Tanto en hombres como en mujeres el nivel de Clark más frecuente fue el III. A medida que aumenta el nivel de Clark, independientemente del sexo, aumenta el porcentaje de pacientes con GC+ (Tabla 34).

**Sexo y pigmentación.**- En ambos sexos fueron más frecuentes los melanomas pigmentados, aunque los melanomas amelanóticos tuvieron porcentaje mayor de GC+ en ambos sexos (Tabla 34).

**Sexo y ulceración.**- En hombres y mujeres fue más frecuente el tumor primario sin ulceración, aunque la presencia de ulceración se asoció a un GC positivo en ambos sexos (Tabla 34).

**Sexo y regresión.**- En ambos sexos son más frecuentes los MC sin signos de regresión, aunque la presencia de regresión se asocia a un mayor porcentaje de GC+, tanto en hombres como en mujeres (Tabla 34).

**Sexo y número de GC localizados.**- En los hombres fue más frecuente localizar más de un ganglio centinela. Cuanto mayor es el número de ganglios localizados también es mayor el porcentaje de pacientes con GC+, situación que ocurre en ambos sexos (Tabla 34).

**Sexo y localización:** En las mujeres el tumor se localizó de forma predominante en las extremidades inferiores, y en los varones en el tronco. El porcentaje de varones con MC en cabeza (19.2%) y tronco (23.1%) que tuvieron GC+ fue mayor que en mujeres (14.3% y 11.8% respectivamente). En los MC localizados en las extremidades, a pesar de que son más frecuentes en las mujeres, en los hombres encontramos un porcentaje mayor de GC+ (25% vs 22.4%) y, aunque las diferencias tampoco son grandes es más frecuente encontrar GC+ en el lado izquierdo en los hombres y en el derecho de las mujeres (Tabla 35).

Variables / Sexo	Centinela Positivo		Centinela Negativo	
	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer
	n=86		n=372	
Localización	n (%)		n (%)	
Cabeza y Cuello	5 (19.2)	1 (14.3)	21 (80.8)	6 (85.7)
Tronco	28 (23.1)	8 (11.8)	93 (76.9)	60 (88.2)
Extremidad superior	2 (5.9)	9 (15.3)	32 (94.1)	50 (84.7)
Extremidad inferior	9 (25)	24 (22.4)	27 (75)	83 (77.6)
Lado	n=82		n=371	
Derecha	18 (20)	21 (19.3)	72 (80)	88 (80.7)
Izquierda	22 (22.9)	20 (17.1)	74 (77.1)	97 (82.9)
Media	3 (10)	0 (0)	27 (90)	13 (100)
Total (n=455)	43 (19.9)	41 (17.2)	173 (80.1)	198 (82.8)

Tabla 35.- Análisis descriptivo bivariado: localización tumor primario /sexo

**Sexo y espesor:** No existen diferencias entre el espesor del tumor entre hombres y mujeres independientemente de que tuviesen o no el GC+ (Tabla 36).

**Sexo y Tamaño del tumor.-**

Los tumores con GC+ tuvieron unos diámetros mayores en los hombres que en las mujeres, aunque el espesor fue mayor en las mujeres, aunque el volumen también fue algo mayor en los varones (Tabla 36).

Variables / Sexo	Centinela Positivo		Centinela Negativo	
	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer
	n=86		n=372	
	Media (SD)		Media (SD)	
<b>Diámetro Menor (cm)</b>	1.32 (0.94)	1.08 (0.66)	1.72 (4.1)	1.49 (2.32)
<b>Diámetro Mayor (cm)</b>	1.81 (1.27)	1.40 (0.84)	2.71 (9.93)	1.81 (2.59)
<b>Espesor (mm)</b>	3.81 (2.91)	3.95 (3.42)	2.16 (2.1)	1.92 (2.21)
<b>Volumen (cm<sup>3</sup>)</b>	0.87(1.76)	0.61 (1.19)	1.17 (7.08)	0.59 (3.03)
<b>Total</b>	44	42	173	199

Tabla 36.- Análisis descriptivo bivariado: tamaño del tumor primario/sexo

**Sexo y localización del GC.**

No hay diferencias entre los hombres y mujeres respecto a la localización del GC+, salvo que en los hombres es más frecuente la presencia de GC bilateral que en las mujeres (Tabla 37).

Variables / Sexo	Centinela Positivo		Centinela Negativo	
	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer
	n=83		n=371	
<b>Localización Centinela</b>	n (%)		n (%)	
Cuello y/o Parótida	6 (22.2)	1 (14.3)	21 (77.8)	6 (85.7)
Axila e Ingle	26 (18.7)	16 (14)	113 (81.3)	98 (86)
Ingle y/o Poplíteo	9 (20)	23 (20)	36 (80)	92 (80)
<b>Total (n=454)</b>	41 (19.4)	40 (16.9)	170 (80.6)	196 (83.1)
<b>Lado Centinela</b>	n=82		n=371	
Derecha	18 (18.9)	21 (18.6)	77 (81.1)	92 (81.4)
Bilateral	5 (21.7)	1 (9.1)	18 (78.3)	10 (90.9)
Izquierda	20 (20.4)	19 (16.5)	78 (79.6)	96 (83.5)
<b>Total (n=455)</b>	43 (19.9)	41 (17.2)	173 (80.1)	198 (82.8)

Tabla 37.- Análisis descriptivo bivariado: Localización del GC/ sexo

### **3.- MODELIZACIÓN ESTADÍSTICA DE LOS DATOS.**

#### **3.1.- MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA PARA GC POSITIVO.**

El modelo de regresión logística para ganglio centinela positivo lo empleamos para el estudio de los factores de riesgo asociados a GC+ así como para obtener predicciones de dicha probabilidad en función de las variables explicativas asociadas.

Se incluyeron en el modelo todas las variables explicativas descritas en la Tabla 38. Las variables explicativas marcadas con un asterisco (\*) indican que no pudieron ser incluidas en el modelo conjunto debido a la correlación existente con otras variables explicativas. Una vez seleccionada las variables explicativas a incluir en el modelo se procedió al ajuste del mismo a los datos de ganglio centinela. Con el objetivo de obtener el mejor modelo que se ajuste a nuestros datos y estimar el riesgo de ganglio centinela positivo en función de las variables explicativas asociadas, se excluyeron las variables explicativas no relacionadas al ganglio centinela positivo. En el proceso de selección de variables explicativas asociadas al riesgo de ganglio centinela positivo se usaron las técnicas de introducción y exclusión de variables basada en los tests de contraste de hipótesis sobre los parámetros estimado así como el estudio de los valores de la función de verosimilitud del modelo, los cambios producidos en la R-cuadrado y el test de bondad de ajuste de Hosmer-Lemeshow. También se estudiaron posibles interacciones entre las variables explicativas, no dando lugar a ninguna significación sobre el riesgo de ganglio centinela positivo.

En la Tabla 39 se exponen los valores de los parámetros estimados, las desviaciones típicas y la significación del test de contraste de hipótesis (hipótesis nula:

$\beta=0$ ) y las OR asociadas y el intervalo de confianza del 95% para la OR. Estas son las variables que tienen un valor predictivo independientes para GC+ (Tabla 38).



VARIABLES	DESCRIPCIÓN DE LA VARIABLE	TIPO DE VARIABLE
Edad	Edad del paciente en años	Continua
Sexo	Sexo del paciente	Discreta. Clasificación: Mujer, Varón
Color de Pelo	Color de Pelo del paciente	Discreta. Clasificación 3 categorías: Castaño, Negro, Rojo-Rubio
Color de Ojos	Color de Ojos del paciente	Discreta. Clasificación 3 categorías: Azules, Marrones-Negros, Verdes
Foto tipo	Fototipo del paciente	Discreta. Clasificación 3 categorías: 1-2, 3, 4
Forma Clínica	Forma anatomoclínica del tumor primario	Discreta. Clasificación: MLA, MN, SSM
Pigmentado	Pigmento en el tumor primario	Discreta. Clasificación: Si, No
Ulcerado	Signos de ulceración en el tumor primario	Discreta. Clasificación: Si, No
Nivel de Clark	Nivel de Clark del MC	Discreta. Clasificación: II-III, IV, V
Numero Centinela	Número de GC localizados con la técnica de la BSGC	Discreta. Clasificación 2 categorías: 1, 2 o más
Localización	Localización del tumor primario	Discreta. Clasificación 4 categorías: Cabeza y Cuello, Tronco, Extremidad superior, Extremidad inferior
Localización Centinela*	Localización del ganglio centinela	Discreta. Clasificación 4 categorías: Cuello y/o Parótida, Axila y/o Cuello, Axila e Ingle, Ingle y/o Poplíteo
Lado	Lado del tumor primario	Discreta. Clasificación: Derecha, Izquierda, Media
Lado Centinela*	Lado del ganglio centinela	Discreta. Clasificación: Derecha, Bilateral, Izquierda
Diámetro menor	Diámetro menor del tumor primario en cm	Continua
Diámetro mayor	Diámetro mayor del tumor primario en cm	Continua
Espesor	Espesor de Breslow del tumor primario en mm	Continua
Volumen*	Volumen obtenido mediante la fórmula de volumen de la elipse en cm <sup>3</sup>	Continua

Tabla 38. Descripción de las variables empleadas en el modelo de regresión logística para GC +.

Variables	$\beta$	DE	P-valor	OR=exp( $\beta$ )	95% IC	
					OR	
<b>Constante</b>	-2.723	0.249				
<b>Ulceración</b>						
Si	0.843	0.294	0.004	2.323	1.304	4.138
<b>Numero de GC</b>						
1o más	0.924	0.335	0.006	2.520	1.308	4.855
<b>Espesor</b>	0.119	0.058	0.039	1.126	1.006	1.261
<b>Nivel del Clark</b>						
IV	0.754	0.288	0.090	2.125	1.209	3.734
V	1.106	0.531	0.037	3.022	1.067	8.555

Tabla 39. Resultados regresión logística para ganglio centinela positivo

**Presencia de ulceración.**- Los pacientes con MC con signos de ulceración tienen 2.323 veces mayor riesgo de tener el GC + que los pacientes con tumores no ulcerados, siendo significativa la diferencia al 5%. ( $p=0.004$ ).

La variabilidad del riesgo (OR) de tener GC + en pacientes con el tumor primario ulcerado varia entre 1.3 y 4.138 veces en comparación con pacientes con MC no ulcerado, con una confianza del 95%.

**Número de GCs localizados.**- Los pacientes a los que se los localizó más de un ganglio centinela con la técnica de la BSGC tienen 2.520 veces mayor riesgo de que el GC sea positivo que en aquellos a los que sólo se localiza un ganglio, con una significación del 5%, La OR está entre 1.3 y 4.9 con una confianza del 95%.

**Espesor de Breslow.**- El espesor de Breslow se asocia al riesgo de GC+ de modo que a mayor espesor mayor riesgo, incrementándose el riesgo en un 12% por cada milímetro que aumente el espesor.

**Nivel de Clark:** Los pacientes cuyos tumores tuvieron niveles de Clark IV y V son 2.125 y 3.022 respectivamente, más propensos a tener GC+ que los pacientes con MC con niveles de Clark II o III, con un nivel significación del 5%. El riesgo de

ganglio centinela positivo en pacientes con nivel de Clark V puede llegar a ser hasta 8.55 veces mayor que el riesgo en pacientes con nivel de Clark II o III.

El número total de datos incluidos en el modelo fue 450, un 98.3% de la muestra inicial. El 1.7% de los datos muestrales tenían algún tipo de información perdida por lo que no fue posible la inclusión en el modelo de regresión logística.

Comprobamos que el modelo predictivo es adecuado con el *test de Hosmer-Lemeshow* ( $\chi^2_8 = 10.57$ , p-valor= 0.227). La *R-cuadrado de Nagelkerke* fue 0.198.

El estudio de los residuos de lejanía indicaron que las observaciones se ajustaba de manera apropiada a al modelo propuesto ya que el 95% de los residuos se encontraban entre los valores -2 y 2 (no se encontraron posibles datos atípicos).

### **3.2.- MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA PARA OTROS GANGLIOS POSITIVOS (DISECCIÓN GANGLIONAR)**

Ajustamos un modelo de regresión a los datos correspondiente al subgrupo de pacientes a los que se les realizó disección ganglionar para estudiar el riesgo asociado a que ésta fuera positiva, es decir que se encontrara uno o mas ganglios metastásicos en el estudio anatomopatológico del bloque de disección.

Debido a la poca cantidad de datos en este subgrupo se ajustaron modelos unidimensionales para cada una de las variables explicativas y se obtuvo que las variables significativas a modo individual fueron el sexo, la forma anatomoclínica, la presencia de ulceración, el nivel de Clark y el fototipo del paciente (Tabla 40).

Puesto que el modelo con todas las variables significativas no pudo ajustarse por falta de datos se seleccionó otro que explicara mejor los datos con una combinación como máximo de dos variables explicativas.

Una vez incluido en el modelo la variable invasión del GC (micrometastasis o macrometastasis), las otras variables dejaban de ser significativas al 5%, excepto la variable fototipo del paciente.

Debido a la falta de datos se consideró más adecuado el modelo unifactorial con la variable invasión del GC. De todos los modelos unifactoriales ajustados, el modelo con la variable invasión del GC fue el que mejor explicaba los datos con una R-cuadrado de 0.299. No se detectaron observaciones atípicas (Tabla 41).

Variables	$\beta$	DE	P-valor	OR=exp( $\beta$ )	95% IC	
					OR	
<b>Constante</b>	-2.303	0.524				
<b>Invasión GC</b>						
Macro metástasis	2.367	0.636	0.000	10.667	3.068	37.083

Tabla 40.- Resultados regresión logística para uno o más ganglios positivos en el bloque de la disección ganglionar.

**Invasión del ganglio centinela:** Los pacientes con macrometástasis (micromacro metástasis) tienen 10.667 veces más riesgo de tener disección ganglionar positiva que los pacientes con micrometástasis, con un nivel de significación del 5%.

Modelos unifactoriales								
VARIABLES (Base)	N	B	DE	P-valor	Exp(B)	IC 95%		R <sup>2</sup>
<b>Físicas</b>								
Edad	75	0.021	0.018	0.256	1.021	0.985	1.058	0.026
Sexo (Mujer) Hombre	75	1.429	0.584	0.014	4.174	1.32	13.12	0.124
Color Pelo (Negro)	75							0.032
Castaño		-0.747	0.622	0.23	0.474	0.14	1.604	
Rojo o Rubio		-0.981	0.95	0.302	0.375	0.058	2.414	
Color de Ojos (Azules)	75							0.008
Negros o Marrones		-0.316	0.608	0.603	0.729	0.222	2.4	
Verdes		0.036	0.778	0.963	1.037	0.227	4.728	
<b>Clínicas</b>								
Diámetro Mayor (cm)	74	0.309	0.226	0.172	1.362	0.874	2.121	0.038
Diámetro Menor (cm)	74	0.546	0.318	0.086	1.726	0.925	3.219	0.062
Espesor (mm)	75	0.111	0.076	0.141	1.118	0.964	1.297	0.041
Volumen (cm <sup>3</sup> )	74	0.220	0.154	0.155	1.245	0.920	1.683	0.039
Invasión (Micro) Macro metástasis	75	2.367	0.636	0	10.66	3.068	37.083	0.299
Pigmentación (Si) No	75	-1.019	1.103	0.325	0.361	0.042	3.134	0.02
Úlcera (No) Si	75	1.277	0.621	0.04	3.586	1.062	12.109	0.091
Forma Clínica (MLA)	75							0.107
MN		-1.522	0.839	0.075	0.218	0.042	1.13	
SSM		-1.966	0.842	0.02	0.14	0.027	0.73	
Nivel (II y III)	75							0.109
IV		0.429	0.638	0.501	1.536	0.44	5.36	
V		1.723	0.742	0.02	5.6	1.31	23.99	
Fototipo (1 y 2)	74							0.104
3		0.963	0.714	0.178	2.619	0.646	10.62	
4		1.897	0.847	0.025	6.667	1.269	35.035	
Numero Centinela (1) 2 o mas	72	-0.297	0.643	0.644	0.743	0.211	2.621	0.004
Localización (Cabeza y Cuello)	75							0.018
Tronco		-0.827	1.009	0.413	0.438	0.061	3.16	
Extremidad superior		-0.847	1.215	0.486	0.429	0.04	4.637	
Extremidad inferior		-0.442	0.996	0.657	0.643	0.091	4.528	
Lado (Derecho)	73							0.03
Izquierdo		-0.55	0.542	0.31	0.577	0.199	1.669	
Medio		0.738	1.461	0.614	2.091	0.119	36.635	
Localización Centinela (Cuello y Parótida)	71							0.08
Axila		-0.405	0.948	0.669	0.667	0.104	4.27	
Ingle y/o Poplíteo		-0.105	0.955	0.912	0.9	0.139	5.844	
Lado (Derecho)	73							0.045
Bilateral		-0.087	1.276	0.946	0.917	0.075	11.183	
Izquierdo		-0.815	0.553	0.141	0.443	0.15	1.309	

Tabla 41.- Resultados de los modelos unifactoriales de regresión logística para uno o más ganglios positivos en la disección ganglionar.

#### **4.- VALIDACIÓN DEL MODELO GANGLIO CENTINELA POSITIVO.**

Para evaluar la precisión de nuestro modelo de regresión logística lo comparamos con el modelo de publicado por el *Memorial Sloan-Kattering Cancer Center* al que se puede acceder *on line* en la dirección web:

<http://www.mskcc.org/applications/nomograms/Melanoma/PositiveSentinelNode.aspx>

Las probabilidades del MSKCC fueron representadas gráficamente junto con las probabilidades estimadas por nuestro modelo. Pudimos obtener ambas probabilidades para un total de 450 pacientes, que agrupamos en deciles (grupos del 10%) de acuerdo con las probabilidades estimadas por nuestro modelo.

En la gráfica se observa que nuestro modelo de regresión sobreestima levemente las probabilidades de ganglio centinela positivo para los distintos pacientes en comparación con el modelo MSKCC puesto que los puntos calculados se encuentran por debajo de la línea de referencia que marca la misma probabilidad para ambos modelos. La diferencia es muy pequeña en todos los casos salvo para aquellos paciente en los que el riesgo de ganglio positivo supera el 50% (Gráfico 7).

**Validación de la precisión del modelo de regresión logística con respecto al modelo MSKCC**

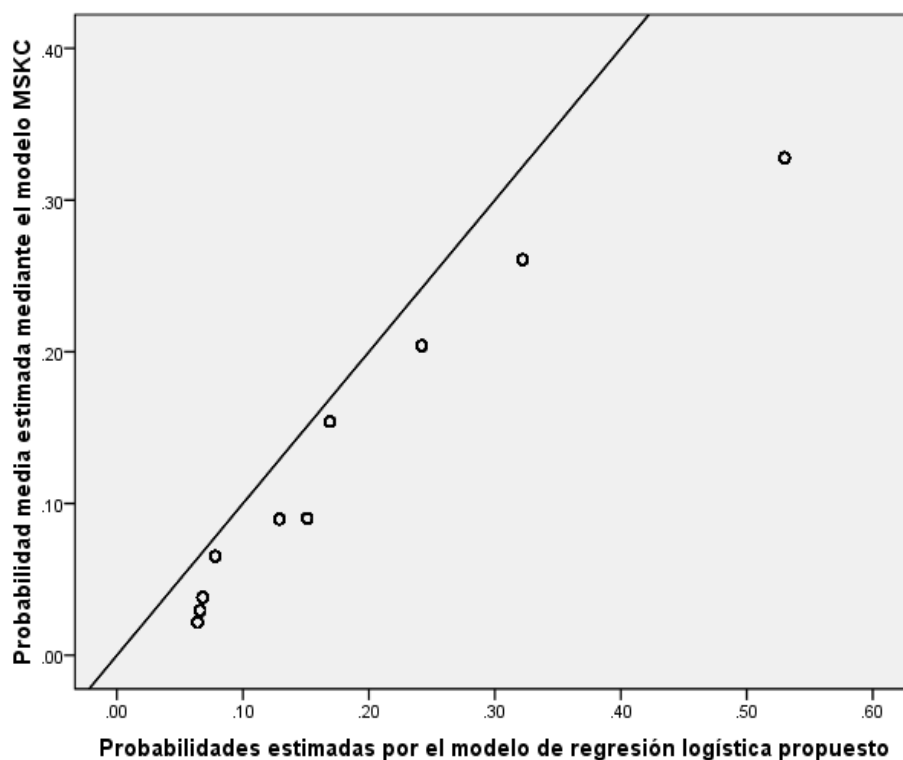


Gráfico 7.- Validación de la precisión de nuestro modelo comparado con el modelo previo MSKCC.

**CURVA ROC.-** La curva ROC la utilizamos para comparar nuestro modelo de regresión con el modelo MSKCC. Esta curva representa todos los pares sensibilidad /especificidad resultantes de la variación continua de los puntos de corte de las probabilidades de ganglio centinela positivo.

El grafico representa en el eje Y de coordenadas la sensibilidad (fracción de verdaderos positivos), y en el eje X se representa la especificidad (fracción de falsos positivos). La aproximación de ésta a la esquina superior izquierda del grafico indica una discriminación perfecta de los pacientes dada por el método de diagnóstico (Gráfico 8).

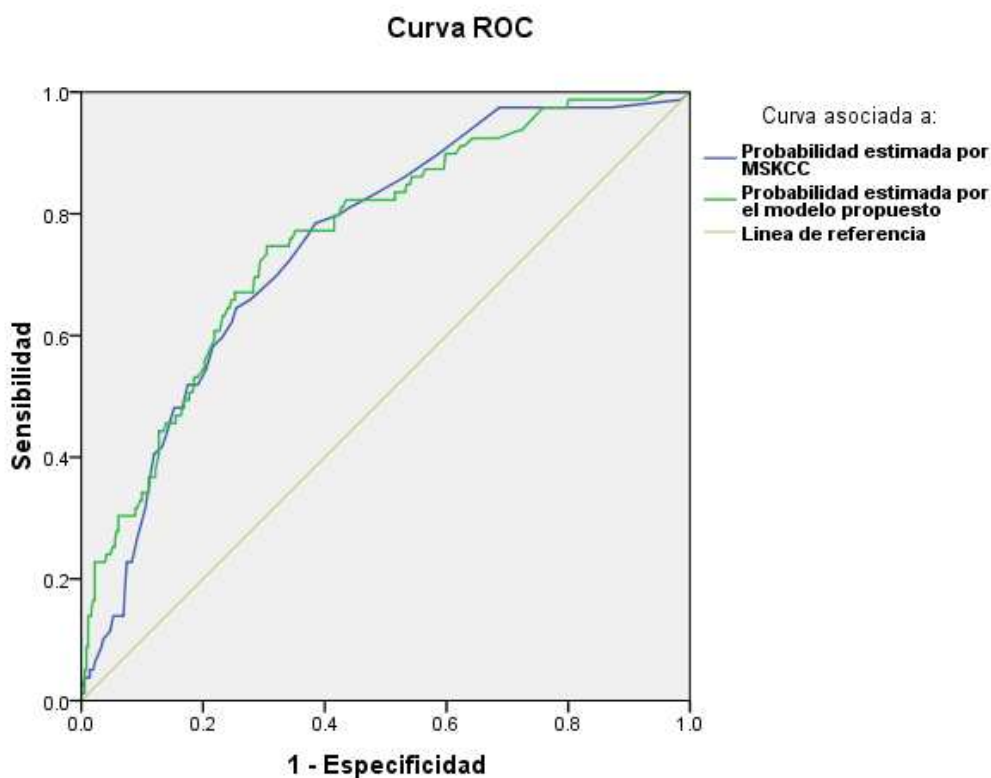


Gráfico 8.- Curvas ROC para nuestro modelo de regresión logística y el modelo MSKCC.

Ambos modelos son muy parecidos, igual de buenos para la discriminación de los pacientes según ganglio centinela positivo. Sin embargo y en pequeña escala nuestro modelo de regresión genera menos falsos positivos que el modelo MSKCC cuando la sensibilidad es inferior a 0.80 o superior a 0.95. En contraste, el modelo MSKCC genera mas verdaderos positivos que el modelo de regresión logística cuando la especificidad es superior a 0.5 e inferior a 0.75.

**AREA BAJO LA CURVA (AUC).**

Nos proporciona una media global de confrontación de la exactitud de los dos modelos. Para el modelo MSKCC el AUC=0.751 y para el modelo de regresión logística propuesto el AUC=0.762, indicando que la probabilidad de clasificar a un par de pacientes con y sin ganglio centinela positivo es correcto el 76% de las veces mientras que con el modelo MSKCC es el 75% de las veces.

Los intervalos de confianza del 95% para la estimación de AUC fueron (0.696, 0.807) para el modelo MSKCC y (0.705, 0.818) para el modelo de regresión logística propuesto.

Estos resultados indican que ambos modelos pueden ser útiles para establecer las posibilidades de que el GC esté o no invadido.

**NOMOGRAMA Y PROGRAMA INFORMÁTICO.**

Como representación gráfica de nuestro modelo de regresión logística se ha construido un nomograma y un programa informático para el cálculo de probabilidad de ganglio centinela positivo en cada caso particular.

En nuestro estudio el nomograma se ha construido con dos filas con unos valores que se correlacionan. En la fila superior se observa la suma de puntos resultante de la ecuación matemática con las distintas variables que han mostrado significación en el análisis multivariante (ulceración, número de ganglios centinelas, espesor de Breslow, y nivel de Clark). En la fila inferior se observa la probabilidad de que el ganglio centinela sea positivo.

El total de puntos se obtiene de la siguiente ecuación:

$$2,723 + 0,843 \times \text{Ulcerado (si=1, no=0)} + 0,924 \times \text{Número Ganglios (1 ganglio=0, más de 1=1)} + 0,119 \times \text{Espesor (número absoluto)} + 0,754 \times \text{Nivel Clark IV (si=1, no=0)} + 1,106 \times \text{Nivel Clark V (si=1, no=0)}$$

El total de puntos en la fila superior se correlaciona con la cifra de probabilidad en la fila inferior:

Puntos	-5,3	-4,6	-3,9	-2,9	-2,2	-1,4	-0,8	-0,4	0,0
Probabilidades	0,005	0,010	0,020	0,050	0,100	0,200	0,300	0,400	0,500

0,4	0,8	1,4	2,2	2,9	3,9	4,6	5,3
0,600	0,700	0,800	0,900	0,950	0,980	0,990	0,995



El uso de nomogramas tiende a sustituirse por programas informáticos con un cálculo más rápido y cómodo. En nuestro estudio, incluye las cuatro variables que han tenido significación en el análisis multivariante (ulceración, número de ganglios centinelas, espesor de Breslow, y nivel de Clark), con cómodas respuestas, y un resultado inmediato de probabilidad de GC + con exactitud (figura 6).

**Cálculo de probabilidad Ganglio Centinela**

Paciente con melanoma ulcerado

Número de Ganglios Centinela localizados

Espesor (mm)

Nivel de Clark

2010

Figura 6.- Programa informático de cálculo de probabilidad de GC+

## **V- DISCUSIÓN.**

La discusión de los resultados obtenidos la realizamos de una forma ordenada comparando nuestros datos con los que hemos encontrado en la bibliografía. Seguiremos el mismo orden expuesto en los resultados.

### **1.- ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA MUESTRA.**

#### **1.1.- Descripción de todas las variables de la muestra.**

El estudio se ha hecho sobre pacientes diagnosticados de MC a los que se les realizó la técnica de la BSGC con unos criterios de inclusión y exclusión ya señalados.

##### **Edad.-**

La media de la edad de nuestros pacientes fue de 50.94 años, ligeramente mayor (52.40) en los que tuvieron GC + que en los que tuvieron GC - (50.60). La media de edad es similar a otros estudios realizados en la Unidad de Melanomas del Hospital Universitario San Cecilio, de donde proceden nuestros pacientes (Rodenas JM, 1997; Buendía A, 1997; Ruiz Villaverde R, 2003 y Serrano Falcón MM, 2001), a los de un estudio parecido al nuestro realizado en Madrid (Avilés Izquierdo JA, 2009), y coincide con la mayoría de las estadísticas revisadas (Alvarez de Mon Soto M, 1997). Normalmente la media de edad al diagnóstico de MC es de 45 años (Curado M P, 2007), aunque en tres estudios españoles recientes la mayoría de los pacientes tienen una edad alrededor de los 55 años, con una media de 55.10 años en la población valenciana (Tomas-Mallebrera L, 2010), y de 56.6 años (Arranz Sánchez DM, 2009), y 53.54 años en la madrileña (Avilés Izquierdo JA, 2009). El que la media sea mayor en nuestro estudio podría explicarse porque nuestra muestra está formada por pacientes con MC a los que se hizo BSGC y en general, los pacientes más jóvenes suelen consultar con tumores menos evolucionados (entre los menores de 35 años un 34.2% tenía un MC menor de 1mm de espesor). Este hecho se comprueba en los estudios realizados en MC gruesos, con un espesor de Breslow > de 4mm, donde la media de edad al diagnóstico es de 58 años, con un predominio de pacientes mayores de 60 años respecto a otros grupos (Gajdos C, 2009; Ferrone C, 2002). En el MSLT-1 la media de edad en el grupo de pacientes que se realizó BSGC fue de 51.7 +/- 13.8 años (Morton DL, 2005).

##### **Sexo.-**

En nuestra muestra existe un ligero predominio del sexo femenino (52.62 % vs 47.38 % de hombres), situación que coincide con otras series publicadas (Balch CM, 2001; Serrano Falcón MM, 2001; Ruiz Villaverde R, 2003). Por el contrario, en un estudio reciente realizado en el Hospital Universitario Doctor Peset de Valencia (Tomas-Mallebrera L, 2010),

encuentran una mayor proporción de hombres que de mujeres (58.33 % vs 41.67 %). Igual ocurre en el estudio del Hospital Gregorio Marañón de Madrid (Avilés Izquierdo JA, 2009). En el MSLT-1 existe predominio del sexo masculino frente al femenino (58.5% vs 41.5%) (Morton DL, 2005). Igual ocurre en otros estudios realizados sobre pacientes con MC a los que se les realiza BSGC en la literatura inglesa, con un claro predominio del sexo masculino (Gajdos C, 2009; Satzger I, 2008; Sondak V, 2004; Rousseau D, 2003; Ferrone C, 2002; Cherpelis B, 2001).

#### **Características fenotípicas.-**

No encontramos estudios que consideren las posibles influencias de las características fenotípicas del paciente (color de los ojos, del pelo y fototipo) con el estado del GC. En el estudio realizado en Valencia (Tomas-Mallebrera L, 2010) se incluye el fototipo con un 6.94% de pacientes con Fototipo I, un 87.60 % con Fototipo II y un 32.64% con Fototipo III. En nuestra serie los pacientes tienen un fototipo mayor, con más frecuencia del fototipo III (56.2%), seguido de fototipo II (28.6%) y fototipo IV (14.3%), posiblemente por las diferencias poblacionales y por la influencia de la inmigración, aunque no conocemos estudios a nivel nacional que confirmen diferencias fenotípicas regionales.

#### **Localización del tumor.-**

La localización de los MC de nuestro estudio es en el 41.27% en tronco, 31.22% en miembro inferior, 20.31% en miembro superior, y el 7.21% en cabeza y cuello.

En un estudio multicéntrico con 1.313 pacientes procedentes de 23 hospitales italianos (Testori A, 2009), el 46% se localizan en el tronco, el 34.3% en miembros inferiores, el 12.7% en miembros superiores, y el 6.4 % en cabeza y cuello, cifras parecidas a las nuestras. En el estudio de Tomas-Mallebrera realizado en Valencia se encuentra una distribución de los MC a los que se le realizó BSGC parecida a la nuestra (Tronco 54.17%, miembro inferior 29.86 %, miembro superior 13.89%, Cabeza 1.39 %, y un caso en mucosas). Destaca el bajo porcentaje de MC localizados en cabeza y cuello (Tomas-Mallebrera L, 2010), que puede explicarse por que en muchos centros no se realiza la técnica de la BSGC en los MC de esta localización por la elevada posibilidad de obtener falsos negativos ya que el drenaje linfático es complejo en esta zona. Los datos del estudio de Arranz- Sánchez en la población madrileña (Arranz Sánchez DM, 2009) son muy similares a pesar que no discrimina según técnica de BSGC encontrando en tronco 39.1%, miembro inferior 22%, cabeza 17.8%, miembro superior 10.7%, y acral 10.5%. Nosotros los MLA los hemos incluido según la localización, en miembro superior o inferior. En el MSLT-1 la localización principal son las extremidades (agrupa superiores e inferiores) (45.6%) seguido del tronco (38.2%) y cabeza y cuello (16.2%) (Morton DL, 2005). En otros estudios se mantienen estos porcentajes con predominio de la localización en tronco seguido de

miembros inferiores. La localización en cabeza y cuello varía entre el 7 y 13.6%, (Satzger I, 2008; Van Akkooi A, 2006, Sondak V, 2004).

En nuestro estudio consideramos dentro de la localización si el MC está en el lado derecho, izquierdo o en la línea media. En el lado izquierdo del cuerpo se localizaron el 46.8% de los tumores y el 43.7% en el lado derecho. Sólo el 9.5% de los MC se localizaron en la línea media. No hemos encontrado estudios que incluyan este dato.

#### **Forma anatomoclínica.-**

En nuestra serie predomina el MES (66.80%), seguido del MN (25.1%), el MLA (6.8%) y el LMM (1.1%), cifras que no reflejan exactamente la situación de todos los melanomas de nuestra serie, ya que sólo incluimos a los pacientes a los que se realizó BSGC. En el estudio de Arranz-Sánchez sobre la población general, la forma más frecuente es el MES (47.53%), seguido del MN (11.6%), LMM (2.85% y 7.79%), y por último el MLA (9.51%), si bien incluye otras formas difíciles de clasificar (Arranz-Sánchez DM, 2009). En otros estudios realizados en Granada el MES es la forma clínica más frecuente en ambos sexos, seguido del MN, el LMM y el MLA (Rodenas JM, 1997; Buendía A, 1997). Estos porcentajes se mantienen en un estudio alemán similar al nuestro, con un predominio del MES, seguido del MN y MLA (49.3%, 21.7%, 9.2%) (Satzger I, 2008).

En el estudio de Valencia se encuentran cifras iguales de MES y MN (45 y 14%) con un claro dominio del MN si consideramos como tales los “melanomas polipoides” de los que incluyen en su estudio un 2.78%. (Tomas-Mallebrera L, 2010). También predomina el MN (38%) seguido del MES (20%) en el estudio de Gajdos y cols., lógico ya que sólo se incluye en la muestra los MC en tumores T4, con un espesor medio de 5.6mm (Gajdos C, 2009).

#### **Nivel de Clark.-**

A pesar de que el Nivel de Clark ha desaparecido de la actual clasificación de la AJCC (Balch CM, 2009), nosotros lo incluimos por ser un dato que figura en todos los informes anatomopatológicos de nuestros pacientes. Hay muchos estudios recientes que ya no lo incluyen. En nuestra serie predomina el nivel III (51.2%) seguido del nivel IV (30.2%) y nivel II (12.7%), cifras muy parecidas a anteriores estudios de nuestro grupo (Rodenas JM, 1997; Buendía A, 1997; Serrano Falcón MM, 2001; Ruiz Villaverde R, 2003). Coincidimos igualmente con el estudio de Valencia (Nivel II 9.03 %, Nivel III 54.86% y Nivel IV 26.39%) (Tomas-Mallebrera L, 2010). En el estudio multicéntrico italiano predominan los MC con un mayor nivel de Clark, es más frecuente el nivel IV (46.7%) seguido del nivel III (37.5%) y del nivel II (8.4%) (Testori A, 2009). Igual ocurre en la población germana y danesa (Satzger I, 2008; Van Akkooi A, 2006). En el MSLT-1 hay predominio del nivel IV (54.4%) y III (44.6%), ninguno del nivel II y sólo un 1% del nivel V (Morton DL, 2005).

**Diámetros, espesor y volumen tumoral.**

El espesor de Breslow se considera el factor pronóstico de mayor importancia en ausencia de ganglios linfáticos metastáticos. Los diámetros del tumor no están incluidos en los diferentes estudios. Nosotros lo hemos hecho con el único fin de calcular el volumen del tumor.

El espesor medio de los MC incluidos en nuestra serie fue de 2.38 mm. La media de los diámetros mayor y menor fue de 2.11 y 1.52 cm respectivamente.

En la serie publicada del Hospital Dr. Peset el espesor medio de los tumores fue de  $2.16 \pm 1.66$  mm (Tomas-Mallebrera L, 2010). En la serie de Arranz- Sánchez fue de 2.63 mm el espesor de Breslow, y el diámetro mayor de 1.65 cm (Arranz- Sánchez DM, 2009). En el estudio de Van Akkooi, de 2.76 mm (Van Akkooi, 2006). En el MSLT-1 el espesor medio en el grupo de pacientes a los que se realizó BSGC fue de  $2.49 \pm 1.83$  mm (Morton DL, 2005). En otros estudio, el espesor está estratificado con un predominio del grupo entre 1-2 mm (Rouseau D, 2003; Sondak V, 2004; Testori A, 2009).

En los distintos estudios consultados el espesor se encuentra asociado a la tasa de ganglios centinela positivos, de forma que a medida que aumenta el espesor también aumenta la proporción de GC+.

El volumen medio, calculado de acuerdo con la fórmula de la elipse, fue de  $0.845 \text{ cm}^3$ . Creemos que en principio es un parámetro bueno ya que relaciona en una misma variable el espesor y el tamaño del tumor, y refleja la masa tumoral (carga tumoral). Desgraciadamente no es una variable incluida en otros estudios.

**Pigmentación.**

En nuestra serie la proporción de melanomas amelanóticos fue del 5%, cifra mayor que en el estudio valenciano donde sólo encontraron el 1.39% (Tomas-Mallebrera L, 2010). En los demás estudios consultados no se refleja esta variable, algunos incluyen como forma clínica de MC el melanoma amelanótico con una frecuencia de presentación muy baja (Arranz Sanchez DM, 2009). En el estudio de Phan y cols, clínicamente no se observa pigmento en el 28% de los melanomas aunque se demuestra su presencia en el 52% de tumores cuando se estudian al microscopio. Además, los MC amelanóticos suelen tener un espesor mayor y ulceración (Phan A, 2007), con un peor pronóstico.

**Presencia de ulceración.-**

En los estudios anteriores al año 2001 no suele incluirse la ulceración porque aún no se consideraba en las clasificaciones de la AJCC. En nuestra serie encontramos ulceración en el 32.8% de los tumores. Cifra similar se encuentra en el estudio de Avilés- Izquierdo, con un 25.2% de tumores ulcerados (Avilés Izquierdo JA, 2009), en el de Testori y cols. con un 27.9% (Testori A, 2009), en el de Rousseau y cols con un 21% (Rousseau DL, 2003), y en el MSLT-1 con el 28.9% de los tumores ulcerados (Morton DL, 2005). En el estudio

valenciano (Tomas-Mallebrera L, 2010), el 60.42% de los tumores estaban ulcerados, cifra mayor que la nuestra posiblemente por el predominio de los MN con mayor tendencia a la ulceración. También se encuentra una cifra de MC ulcerados relativamente alta en los estudios con melanomas gruesos, con un espesor de Breslow mayor de 4mm (Ferrone C, 2002; Gagdos C, 2009), posiblemente por este motivo y por un diagnóstico más tardío. En los melanomas finos con un espesor de Breslow menor a 1 mm, el porcentaje es mucho menor, del 6,1% (Warycha M, 2009).

### **Regresión.**

Nosotros sólo encontramos signos de regresión en el 17% de nuestros melanomas.

La presencia de signos de regresión en MC tiene una frecuencia muy variable y su significado también es dudoso, por lo que muchos estudios no la incluyen. De forma rutinaria y desde el principio nosotros incluíamos a todos los pacientes con MC de <1 mm de espesor que presentaban regresión histológica para realizar BSGC ya que consideramos la presencia de regresión como un “factor de confusión” ya que en algún momento de la evolución el espesor pudo ser mayor (Serrano Ortega, 2001). De todas formas, en un artículo reciente no se considera la presencia de regresión tumoral como factor de riesgo para CG + (Kramkimela N, 2010).

En el estudio valenciano se encuentra un porcentaje de MC con signos de regresión muy elevado, del 60%, que se puede deber a que sólo disponían de este dato en un porcentaje mínimo de la muestra (25 pacientes de 144) (Tomas-Mallebrera L, 2010). En el metaanálisis de Warycha y cols, en MC menores de 1mm de espesor el porcentaje de regresión alcanza el 31.5%, cifra que nos llama la atención por tratarse de melanomas delgados aunque puede deberse igualmente porque es un dato sólo disponible en 54 pacientes del total (396 pacientes) (Warycha M, 2009). En el estudio de Avilés Izquierdo no se incluye esta variable. Cifras similares a las nuestras las encontramos en el estudio de Sondak y cols, con un 15.7% de tumores con signos de regresión (Sondak V, 2004). En la serie de Testori y cols, el porcentaje es algo más elevado (29.4%) (Testori A, 2009). Estas diferencias se pueden deber a la falta de uniformidad en el criterio diagnóstico y a diferencias subjetivas entre los observadores de la muestra.

### **Estudio del Ganglio Centinela.**

Los pacientes con ganglio centinela positivo y negativo tienen unas características similares que nos indican la homogeneidad de las dos poblaciones incluidas en nuestro estudio.

De los 458 pacientes a los que se les realizó la BSGC, 86 (18.8 %) pacientes tuvieron el GC+ y 372 (81.2%) negativo. Cifras que se encuentran dentro de la media de otros estudios (Tabla 42).

ESTUDIO	Nº DE CASOS	PROPORCION DE GC+	PRPPORCION DE GC -
Morton, 1992	223	22%	78%
Reintgen, 1994	42	19%	81%
Thompson, 2004	118	21%	79%
Morton, 2005	72	15%	85%
Gershenwald, 1998	322	24.5 %	75.5 %
Essner, 1999	267	15.73%	84.27%
Clary, 2001	308	16.89%	83.11%
Ellis MC, 2010	397	12%	88%
Cascinelli, 2000	787	18 %	82 %
Jansen, 2000	200	29.15%	70.85%
Stadius Muller, 2001	263	22.44%	77.56 %
Harlow, 2001	329	9.73%	90.27%
Cherpelis, 2001	201 (*)	37 %	73 %
Chao, 2002	1163	19.70 %	80.30 %
Doting MH, 2002	200	24 %	76 %
Ferrone, 2002	126 (**)	30 %	70 %
Vidal Sicart, 2003	435	17.7 %	82.30 %
Morton, 2003	1599	20.14%	79.86%
Nowecki, 2006	726	20.25 %	79.75 %
Yee, 2005	991	15.64%	84.36%
Berk, 2005	274	19.35 %	80.65 %
Wegner, 2003	408	20.83%	79.17 %
Van Akkoi, 2006	262	20.4%	70.6%
Morton, 2007	1269 (***)	16 %	84 %
Avilés Izquierdo , 2009	238	17.6 %	82.4 %
Testori, 2009	1313	16.9 %	83.1 %
Meier , 2010	697	31 %	69 %
Tomas-Mallebrera, 2010	144	19.44 %	80.56 %
<b>Serrano Falcón C</b>	<b>458</b>	<b>18,8</b>	<b>81,2</b>

Tabla 42.- Porcentaje de GC+ después de la BSGC en los diferentes estudios.

(\*) Melanomas de más de 3 mm de espesor. (\*\*) Melanomas gruesos de más de 4 mm de espesor. (\*\*\*) Sólo melanomas de espesor entre 1,2 y 3,5 mm de espesor.

Nosotros incluimos en nuestro estudio sólo pacientes a los que se les identificó el ganglio centinela. En pocas series se identifica el GC en el 100% de los casos. La tasa de identificación del GC varía entre el 82% y 100% (Stebbins W, 2010). En el MSLT-1 la tasa de identificación del GC fue del 95.3%. La tasa más baja se produce en los MC localizados en cabeza y cuello, probablemente porque son menos los MC en esta localización, y porque anatómicamente es una localización con drenaje linfático complejo. Para disminuir los casos de no identificación del GC se aconseja una experiencia previa del cirujano de 30-55 casos antes de la realización de la técnica (Morton DL, 2005).

Nuestra serie es mayor que la mayoría de las que encontramos en los estudios publicados si excluimos los estudios multicéntricos (Chao C, 2002; Morton DL, 2003, Testori A, 2009).

Los resultados más dispares con nuestro estudio son aquellos que se han realizado en melanomas gruesos (Ferrone C, 2002, CherpelisB, 2001). En los casos con melanomas

mayores de 3 y 4 mm, el porcentaje de GC positivo aumenta considerablemente, motivo por el que algunos autores no recomiendan la realización de la técnica de la BSGC en estos pacientes ya que la posibilidad de que la enfermedad haya difundido a otros órganos distinto de piel es elevada.

Los resultados pueden variar en función de las características poblacionales, de la técnica de identificación del ganglio que se haya empleado, del manejo del cirujano, y del análisis anatomopatológico y técnicas de inmunohistoquímica en cada caso. En el estudio de Cook y cols, la proporción de GC+ difiere del 12.3% al 13.5% y 18.6% según los protocolos de examen histológico y técnicas que se realicen (Cook M, 2003). Igualmente, influye la fecha en la que se realizan los estudios por las recomendaciones y protocolos que se siguieran en ese momento.

Nosotros, lo más frecuente es la localización de un sólo GC (85.8% de casos), dos GC los encontramos en el 14.2% y tres o más ganglios es excepcional. Lo más frecuente es la localización del GC en una sola área ganglionar, con predominio de la axila (53.38%) seguido de la ingle (34.7%) y cuello (7.03%), aunque en ocasiones encontramos GCs en dos áreas ganglionares, situación que está relacionada con la localización del tumor, ya que generalmente la vía de drenaje en MC localizados en miembros superiores y parte superior del tronco es la axila, mientras que los localizados en miembros inferiores y parte baja del tronco llegan a la ingle. Los MC de cabeza y cuello por lo general drenan a cadena cervical o parotídea. Sólo en 12 casos se afectaron varias cadenas ganglionares. En dos casos el ganglio se localizó en ingle y hueco popliteo. En el estudio de Hatta y cols, en 5 de 14 pacientes (36%) con tumores cutáneos en miembros inferiores se localizó un ganglio en el hueco popliteo además de en región inguinal, y en uno de éstos hubo micrometástasis en el análisis histológico. Defienden el análisis de todos los ganglios en el hueco popliteo que se puedan identificar (Hatta N, 2005).

En el estudio valenciano se localizó igualmente con más frecuencia un ganglio centinela (71.9%), seguido de 2 y 3 ganglios (17.3% y 7.64%). Lo más frecuente es la localización de los ganglios centinelas en una sola cadena ganglionar (84.03%). En otros estudios consultados la media de ganglios centinela es mayor, de 1.7 en el estudio multicéntrico italiano, con un predominio de la axila seguida de la ingle (52% y 37.6% respectivamente) (Testori A, 2009), una media de dos en el estudio de Ferrone (Ferrone C, 2002), y de 1,80 en el de Van Akkooi y cols, (Van Akkooi A, 2006). Esta diferencia puede deberse a que la definición de GC varía en función de los distintos estudios, y que hay variabilidad según la técnica empleada y el cirujano que la realice. En el MSLT-1 se presenta una tasa de falsos negativos del 10.3% en cirujanos que han realizado menos de 25 casos y del 5.2% en aquellos con más formación, por encima de 25 casos (Morton DL, 2006).



## **1.2.- Descripción de las variables y su relación con la situación del GC.**

### **1.2.1.- Características físicas del paciente**

#### **Edad.-**

En nuestro estudio hay un predominio del GC+ en pacientes mayores de 57 años. La media de edad de los pacientes con GC+ fue de 52.4 años y para GC- de 50.6 años. La edad media en el estudio de Ghaferi fue de 48 años (Ghaferi AA, 2009). En el estudio valenciano, sólo en el grupo de pacientes mayores de 65 años hay un predominio de GC+, diferencia que no ocurre en los grupos de menor edad. No encuentran asociación estadística entre la edad y la presencia de GC positivos (Tomas-Mallebrera L, 2010). En el estudio multicéntrico italiano el GC es positivo con más frecuencia entre los mayores de 40 años, con un predominio del grupo entre 40 y 60 años (Testori A, 2009). Los hallazgos de Rousseau y cols, y McMaster y cols, encuentran un porcentaje mayor de GC+ en pacientes por debajo de 50 años, considerando la edad joven como un factor independiente predictor de GC+ (Rousseau D, 2003; McMasters KM, 2001). En el estudio de Van Akkooi y cols, sobre 388 pacientes con GC+, el 68% tenían una edad inferior a los 60 años (Van Akkooi AC, 2008). Igualmente, en el estudio de Sondak y cols, el porcentaje de GC+ fue mayor en el grupo de pacientes por debajo de 35 años (26.3%) y fue disminuyendo de forma progresiva con la edad (Sondak VK, 2004).

#### **Sexo.-**

En nuestra muestra el porcentaje de hombres con GC+ fue mayor al de mujeres (20.8% vs 17.4%). La mayoría de autores coinciden que es más frecuente el GC+ entre los varones con unos porcentajes similares a los nuestros (Sondak VK, 2004; Ghafer AA, 2009; Rousseau D, 2003, Satzger I, 2008; Tomas-Mallebrera L, 2010). En el estudio de Gajdos y cols, con melanomas gruesos en tumores T4, es mayor el porcentaje de GC+ en mujeres. (Gajdos C, 2009).

#### **Fototipo.-**

El fototipo lo incluyen pocos estudios. Nosotros encontramos un porcentaje similar de GC+ en los distintos fototipos (17.6%, 18.4% y 20% para los fototipos 2, 3 y 4 respectivamente). Nos llama la atención en el estudio valenciano que el porcentaje de pacientes con fototipo 2 y 3 que tuvieron GC+ es muy parecido al nuestro (18.6% y 17.3%), sin embargo aumenta al 40% en los pacientes con fototipo 1, aunque sólo hay 10 pacientes en este grupo. Estas diferencias se pueden explicar principalmente por el área geográfica del estudio y la distribución poblacional.

## **1.2.2.- Características del tumor primitivo**

### **Forma clínica.-**

En nuestra serie el 71% de los pacientes con MN tuvo el GC+, el 29% de los MLA, y el 14.05% de los MES. En los 5 pacientes con LMM a los que se realizó BSGC fue negativa. El porcentaje tan elevado de GC+ en los melanomas nodulares puede deberse a que en estos tumores la ausencia de fase de crecimiento radial origina una consulta más tardía y por tanto mayores posibilidades de invasión. Igual ocurre con los MLA que suelen tener un mayor espesor por demoras en el diagnóstico; por el contrario, en los LMM el diagnóstico suele ser más precoz. El orden en que aparecen nos parece lógico. En el modelo unifactorial para ganglio centinela positivo, la forma anatomoclínica MES actúa como un factor de protección para GC+ con significación estadística ( $P=0.03$ ), dato que no hemos encontrado en estudios previos.

En el estudio de Phan y cols, sobre MLA, la proporción de GC+ es del 28%, parecida a la nuestra (Phan A, 2007). En el estudio valenciano es similar con predominio del MC polipoide (50%) aunque solo se incluyen cuatro casos del total, MN (29.69%), y MES (10.94%). No hay para MLA, aunque son pocos casos los incluidos en el estudio (Tomas-Mallebrera, 2010). Hay un predominio de GC+ en los MN y MES (31% y 30%) con cifras similares en el estudio de van Akkoi y cols, (Van Akkooi, 2006), en el de Ghaferi y cols, (46.1%, 26%) (Ghaferi AA, 2009) y en de Rousseau y cols, (Rousseau D, 2003).

En el estudio de Gajdos y cols, con MCs en estadio T4, el porcentaje de GC+ fue mayor en los melanomas polipoides (58.3%), MC spitzoides (50%), MES (47.5%), y MLA (42.1%), con un porcentaje del 11% en los MC desmoplásicos (Gajdos C, 2009).

### **Nivel de Clark.-**

En nuestro estudio el porcentaje de GC+ aumenta conforme aumenta el nivel de Clark. En el análisis univariante, el nivel de Clark IV y VI se asocia de forma significativa a GC+. Igual ocurre en el estudio italiano de Testori y cols (2.5%, 10.4%, 22.1% y 44.8% para los niveles I, II, III y IV respectivamente) (Testori A, 2009).

En el estudio valenciano ocurre lo mismo, sin embargo el GC fue negativo en el único caso con nivel de Clark V, y aclaran los autores por una posible diseminación del tumor por vía hemática ya que al año ese paciente desarrolló múltiples metástasis en ausencia de afectación ganglionar (Tomas-Mallebrera, 2010). En el estudio de Van Akkooi y cols, llama la atención la distribución según el nivel de Clark. El mayor porcentaje de GC+ se encuentra en pacientes con MC nivel II y V, y es mayor en el nivel III que en el IV. No distingue en qué localización están estos tumores, ni cuál es el espesor de Breslow que tienen (Van Akkoi AC, 2006). También se encuentra un mayor porcentaje de GC+ en el nivel IV que en el V (50% y 20.4%) en el estudio de Satzger y cols, (Satzger I, 2008).

**Ulceración.-**

En nuestra muestra el 32% de los melanomas ulcerados tuvieron el GC+ frente al 8.67% de los no ulcerados, siendo el factor ulceración un factor de riesgo para GC+ con significación estadística en el modelo unifactorial para GC+.

Coincidimos con la mayoría de estudios (Gajdos C, 2009; Tomas-Mallebrera, 2010; Testori A, 2009; Van Akkooi AC, 2006; Van Akkooi AC, 2008; Ghaferi AA, 2009; Satzger I, 2008). Generalmente la presencia de ulceración conlleva un MC de más tiempo de evolución, con una probabilidad mayor de haber pasado del crecimiento local a una diseminación por vía linfática. Aunque en algunos estudios la ulceración aumenta el riesgo de GC+ independientemente del espesor de Breslow (Rousseau D, 2003).

**Regresión.-**

Clásicamente se ha considerado la presencia de regresión como un factor a tener en cuenta para la realización de la BSGC por una mayor probabilidad de encontrar un GC+, sin embargo en nuestro estudio el porcentaje de GC+ fue 21.32% en los pacientes con MC sin signos de regresión frente al 6.41% de los pacientes con MC con signos de regresión.

Coincidimos con el estudio de Ghaferi y cols, donde el porcentaje de GC+ es 9.6% cuando existe regresión, y 86.9% cuando está ausente (Ghaferi AA, 2009), con el de Satzger y cols. con un porcentaje de GC+ de 85.7% cuando no hay regresión frente al 14.3% cuando sí la hay (Satzger I, 2008), y con el de Gajdos (23% con regresión vs 38% sin regresión) (Gajdos C, 2009). En estos últimos las diferencias son más marcadas porque se tratan de MC gruesos donde la probabilidad de encontrar GC+ es mayor.

**Diámetros, Espesor de Breslow y Volumen tumoral.-**

En nuestro estudio el espesor medio en los pacientes con GC+ fue de 3.88mm, y de 2.04 en los pacientes con GC-. El porcentaje de GC+ aumenta con el espesor y con el volumen tumoral, no siendo muy marcada esta diferencia para los diámetros. En el análisis univariante sólo el espesor de Breslow se comporta como un factor de riesgo con significación estadística. Pensamos, que aunque el volumen tumoral sea de utilidad para conocer de una forma objetiva la masa del tumor, el espesor de Breslow sigue siendo el factor de mayor importancia y no tiene sentido otros cálculos relacionados.

En el estudio de Van Akkoi y cols, el espesor medio en los pacientes con GC+ fue de 4mm (Van Akkooi, 2008). En el estudio de Cherpelis y cols, encontramos un espesor mayor al nuestro, de 5.1 mm para GC+ y 5.3 mm para GC-, si bien en este estudio sólo se incluyen melanomas mayores de 3mm (Cherpelis B, 2001). No se encontró diferencia marcada (6.4 mm para GC+ y 6.5 mm para GC-) en los melanomas en estadio T4 (Gajdos C, 2009).

En el estudio valenciano igualmente, aumenta el porcentaje de GC+ a medida que aumenta el espesor, siendo mayor del 40% en los tumores de más de 2 mm. Sólo hubo un caso de GC+ en los MC con menos de 1mm de espesor, lo que ratifica la poca utilidad de la técnica

en este grupo. Igual resultado lo encuentran Cuellar y cols. (Cuellar FA, 2004) y Testori y cols, siendo el porcentaje de GC+ de 1,1% en los tumores menores de 1mm, de 31.6% en los MC de 2-3 mm, y de 41.9% en los mayores de 4mm (Testori A, 2009).

Para los melanomas finos, hay variabilidad en el porcentaje de GC+, desde el 3% al 8%, y generalmente influenciados por otras variables (Wright BE, 2008). Jacobs y cols. encuentran una tasa del 3% (Jacobs IA, 2003), Stitzenberg y cols. del 4% (Stitzenberg KB, 2004). Kesmodel y cols. encuentran un 5% de GC+ entre 181 MC menores de 1mm, y aumenta al 12.3% si se tiene en cuenta el índice mitótico superior a uno y sólo los MC de más de 0.76mm (Kesmodel SB, 2005). Wright y cols. coinciden con un 5% de GC+ en los MC finos, con influencia del sexo femenino, la edad por debajo de los 50 años y el nivel de Clark ascendente (Wright BE, 2008). Del 7% en el estudio de Lowe y cols. (Lowe JB, 2003). Hershko y cols, en 64 pacientes con MC finos, la tasa es del 8% influenciado por el nivel de Clark y el espesor de Breslow (Hershko DD, 2006).

Las recomendaciones actuales de la EANM-EORTC aconsejan realizar la BSGC en los MC entre 0.76 y 1mm de espesor, y en aquellos de igual o menor espesor de 0.75 mm en función del nivel de Clark, índice mitótico y presencia o no de ulceración. Igualmente, se recomienda por el valor pronóstico de la afectación ganglionar en los MC de más de 4mm de espesor (Chakera AH, 2009).

Nuestros resultados coinciden con los de otros autores (Van Akkooi AC, 2006; Ghaferi AA, 2009; Rousseau D, 2003; Satzger I, 2008).

#### **Localización del tumor primario.-**

En nuestro estudio la localización con más porcentaje de GC+ fue los miembros inferiores, seguido del tronco, miembros superiores y cabeza y cuello (23.08%, 19.05%, 18.18%, y 11.83% respectivamente). El estudio valenciano conserva este orden con unas cifras similares (26.19%, 18.18%, 15%) (Tomas-Mallebrera, 2010). El estudio realizado en MC tumores T4 coincide en el orden pero con porcentajes de GC+ superiores, por tratarse de MC más gruesos (48.1%, 46.3%, 30% y 22.4%) (Gajdos C, 2009). La proporción de GC+ en pacientes con tumores localizado en tronco y miembros inferiores fue similar en el estudio de Van Akkooi (34 y 31%) (Van Akkooi, 2006). En el estudio multicéntrico Italiano la localización en miembros inferiores, se sigue de la de cabeza y cuello, y tronco (18%, 17.8% y 16.5% respectivamente) (Testori A, 2009). El estudio de Ghaferi y cols. difiere con el resto situando en primer lugar a los MC localizados en tronco seguidos de los MC en miembro inferior y miembro superior, y cabeza y cuello (44.6%, 27%, 15.6%, 13.6%) (Ghaferi AA, 2009).

Rousseau y cols. (Rousseau D, 2003) clasifica la localización en axial (tronco y cabeza y cuello) y extremidades (superiores e inferiores), con un mayor porcentaje de GC+ en las

primeras. Puede deberse a que en esta localización axial exista un mayor número de vías de drenaje. De aquí la importancia de realizar una linfogramagrafía previa.

En el estudio de Ellis y cols, el número de ganglios localizados también varía con la localización, siendo mayor en los tumores localizados en el tronco (media de 3,07), seguido de extremidades superiores (2,68), cabeza y cuello (2,66), y extremidades inferiores (2,37), aunque sin significación estadística (Ellis MC, 2010).

### **1.2.3.- Características relativas al ganglio centinela**

Encontramos que cuanto mayor es el número de GC encontrados, mayor es el porcentaje de GC que son positivos (15.8% con un GC, 31.25% con dos ganglios) con significación estadística en el análisis univariante, situación que se produce también en otros estudios. (Satzger I, 2008; Testori A, 2009; Wright EH, 2008). Probablemente se debe a que la localización de un segundo o tercer ganglio con la técnica de la BSGC presupone la diseminación linfática más allá del primer ganglio “barrera” o la mayor facilidad cuando hay varias vías de drenaje. La localización inguinal es donde el porcentaje de GC+ es mayor (20%), seguida de la axila (16.6%), situación que podría explicarse por que los MCs localizados en los miembros inferiores suelen ser más gruesos, nodulares o polipoides, con una mayor proporción de GC+.

De los pacientes con GC+, cincuenta y uno tuvieron micrometástasis (59.3%) y treinta y cinco (40.7%) macrometástasis. En el estudio de Tomás-Mallebrera se realiza BSGC a 142 pacientes, de los cuales en 28 pacientes se observaron micrometástasis (19.44%). No hacen referencia a la posibilidad de macrometástasis, no sabemos si porque en todos los casos tuvieron micrometástasis o porque no reflejan esta posibilidad (Tomás-Mallebrera L, 2010). En el estudio de Van Akkooi y cols, el 10% presenta afectación del GC en forma de submicrometástasis (< 0.1mm), en el 35% la masa es entre 0.1-1mm, y en el 55% de los casos la afectación es mayor 1mm, siguiendo la clasificación de Rotterdam. Además, la carga tumoral en el ganglio aumenta de forma proporcional al espesor del tumor primitivo (Van Akkooi AC, 2008).

En melanoma finos, en el estudio de Wright y cols, el porcentaje de GC+ es del 5% (31/631). En ellos, lo más frecuente fue la afectación del ganglio en forma de submicrometástasis (<0.2) y micrometástasis (0.21-2mm) con 14 y 15 pacientes respectivamente, y sólo 2 pacientes tuvieron macrometástasis (>2mm) (Wright BE, 2008).

### **1.2.4.- Características evolutivas. Evolución después del GC.**

#### **Disección ganglionar.-**

La disección ganglionar fue positiva en el 26.6% de los casos en que la realizamos. Realizamos disección ganglionar en todos los pacientes con GC positivo (80 pacientes) y en 11 casos de los pacientes con GC- que a lo largo del periodo de seguimiento

desarrollaron metástasis ganglionares en la misma área donde el GC había sido negativo (falsos negativos). De los pacientes con GC+ a los que se les realizó disección ganglionar, en el 73.3% de los casos la disección fue negativa y se encontró al menos un ganglio positivo distinto al GC, en el 26.6% de los casos.

En el estudio de Salti y cols el GC fue positivo en el 28% de los 200 pacientes con MC mayor de 1mm tras la BSGC, y la disección ganglionar en el 14% (Salti GI, 2003). En el estudio valenciano la BSGC fue positiva en el 19.4% de los pacientes, y la disección ganglionar en el 17.8% (Tomás-Mallebrera L, 2010). Ellis y cols, encontraron el GC+ en el 12% de los pacientes, y la disección en el 12% (Ellis MC, 2010). Nowecki y cols en una serie más amplia de 726 pacientes identificaron el GC positivo en el 20% de los casos y de éstos la disección fue positiva en el 26.9% (Nowecki ZI, 2003). En el estudio de Doting y cols. con 198 pacientes con MC mayor de 1mm la BSGC fue positiva en el 24% de los pacientes y la disección ganglionar en el 25% de los casos (Dotting MH, 2002).

En el estudio de Jakub y cols, la disección ganglionar fue negativa en el 79,9% de los pacientes con GC+ y positiva en el 20.1% (Jakub JW, 2009). Van Akkooi y cols, en su serie de 388 pacientes con GC+ encuentran una disección ganglionar positiva en el 25% de los casos (Van Akkooi AC, 2008), Wiener y cols, en el 18.6% (Wiener M, 2010), y Ghaferi y cols. en el 17% (Ghaferi AA, 2009).

En nuestra muestra hemos encontrado un porcentaje de afectación ganglionar tras la BSGC similar, en ocasiones más alto probablemente porque en muchos de nuestros pacientes la afectación del ganglio centinela ha sido en forma de macrometástasis. Algunos autores consideran la presencia de micrometástasis en el GC de bajo riesgo para desarrollar metástasis clínicamente, ya que pueden ser destruidas por el sistema inmune o permanecer en estado silente durante años. Igualmente consideran que la BSGC en estos casos es además de diagnóstica, terapéutica, y que se podría evitar la disección ganglionar posterior (Stebbins W, 2010) con la consiguiente disminución de la morbilidad asociada a la intervención y disminución del costo. Hay diferentes estudios que proponen la realización de la disección ganglionar en función del tipo de afectación del GC (espesor y localización de la masa tumoral en el ganglio), y de otras variables como la edad y el espesor de Breslow (Satzger I, 2008; Cadili A, 2009; Lee JH, 2004). Recientemente, los estudios de Govindarajan y cols, y de Van Akkooi y cols, observan que cuando la carga tumoral en el GC es menor o igual a 0.2 mm y 0.1 mm respectivamente, se podría considerar como un GC negativo, ya que en ningún caso encuentran otros ganglios invadidos en la disección ganglionar posterior ni desarrollo de metástasis a lo largo de la evolución (Van Akkoi AC, 2006; Govindarajan A, 2007). Satzger y cols, en un análisis de 169 pacientes observan que la masa tumoral mayor de 2 mm en el ganglio y la infiltración de la cápsula son factores de mal pronóstico (Satzger I, 2007). En la serie de Wright y cols, sobre 49 pacientes, las

metástasis ganglionares menores de 0.1 mm tienen un riesgo significativamente menor de disección ganglionar positiva y de muerte por melanoma, que en aquellos mayores de 0.1mm. Además, como en nuestro estudio, si el número de GC es superior a uno, aumenta el riesgo de disección ganglionar positiva, sin afectar a la supervivencia (Wright EH, 2009). Otros autores no encuentran ninguna característica histológica en el ganglio que sea predictora de afectación ganglionar (Page AJ, 2007). La significación de la afectación en forma de micro o macrometástasis es incierta y lo más frecuente es recomendarla a todos los pacientes con GC+ (Roka F, 2007; Stebbins W, 2010).

En el estudio MSLT-1, en el grupo con GC+ al que se realiza la disección ganglionar de forma inmediata, la supervivencia a los 5 años es del 72.3%, y del 52.4% en los pacientes que se retrasa la disección ganglionar hasta que hubiera ganglios demostrables clínicamente. La media de ganglios en la disección ganglionar fue de 1.4 en el primer grupo, y de 3.3 en el segundo. Todo ello indica la progresión de la enfermedad de forma silente a lo largo del tiempo (Morton DL, 2006; Morton DL 2007; Cochran A, 2008).

#### **Recidiva ganglionar.-**

En nuestro estudio el 5% tuvo recidiva ganglionar. De los pacientes con GC+ y disección ganglionar posterior tuvieron recidiva el 13.5% de los pacientes, y sólo un 3% de los pacientes con GC- tuvo recidiva ganglionar (falso negativo).

**Falsos negativos:** Se define un falso negativo como el paciente con GC- después del examen histopatológico del ganglio en la BSGC, y que desarrolla en el tiempo recidiva ganglionar confirmada con la disección ganglionar y estudio histopatológico. Cifras parecidas las encontramos en el estudio de Van Akkooi y cols (3%), en el de Ellis y cols (4%), y en el MSLT-1 (6.3%) (Van Akkooi AC, 2008; Ellis MC, 2010). Morton y cols, encuentran más frecuencia de falsos negativos en los MC de cabeza y cuello, probablemente por la existencia de múltiples vías de drenaje linfático y las dificultades técnicas en esta localización (Morton DL, 2005). Sin embargo, en otros estudios alcanzan cifras superiores al 15%-25%. Estos falsos negativos pueden ser debidos a la inexperiencia del cirujano, médico nuclear o patólogo, a extirpaciones previas amplias o colgajos en la zona del tumor primario que modifiquen el drenaje, a escisión incompleta del tumor primario dejando células que pueden migrar posteriormente por vía linfática, a obstrucción de la vía linfática por células del tumor, a la presencia de vías aberrantes de drenaje, y a metástasis en tránsito (Johnson T, 2006; Stebbins W, 2010).

#### **Desarrollo de metástasis.-**

El 9% de los pacientes desarrollaron metástasis. De los pacientes con GC+ desarrollaron metástasis el 22.3%, mientras que sólo lo hizo el 6.5% de los pacientes con GC-. Francken y cols, realizan un seguimiento a 9807 pacientes con MC. De los pacientes a los que realizan BSGC y presentan el GC- muestran recidiva de la enfermedad el 14.6% de los

pacientes y el 29.5% de los que tienen el GC+, siendo más frecuente las metástasis a distancia (64.9%), seguido de recidiva ganglionar (13.8%) y metástasis en tránsito (13.2%) (Francken AB, 2008). En el estudio de Wright y cols, con melanomas finos, la recidiva ocurre con más frecuencia entre los pacientes con GC+ (42%) que en los que tuvieron el GC- (3%), siendo en ambos grupos más frecuente la recidiva ganglionar, seguido de metástasis en piel y órganos (Wright BE, 2008). En el estudio de Ellis y cols, en el grupo de pacientes con GC+ la proporción de recidivas fue del 28% y en los pacientes con GC- sólo de un 9% (Ellis MC, 2010).

En el estudio de Van Akkooi y cols. sobre la influencia de la masa tumoral en pacientes con GC+, sólo el 10% (4 de 40) de los pacientes con afectación en forma de submicrometástasis (<0.1mm) presentaron enfermedad metastásica que se trató de metástasis en tránsito en 3 pacientes y recidiva ganglionar en otro. La masa tumoral en el GC+ influye sobre la supervivencia media (Van Akkooi AC, 2008). Previamente se había observado que cuanto mayor es la carga tumoral en el ganglio, medida por Ranieri y cols, con el diámetro mayor de depósito tumoral, y con el volumen de masa tumoral, mayor es el índice de recidivas y menor la supervivencia media (Ranieri JM, 2006). En el estudio MSLT-1, el tiempo libre de enfermedad es significativamente mayor en los pacientes con GC- (Phan CG, 2009).

**Situación actual del paciente:**

El 4.5% de nuestros pacientes han fallecido a la fecha de cierre del estudio. De los pacientes con GC+ el porcentaje de fallecidos fue del 7.6%, y del 3.9% en los pacientes con GC-. En el estudio de Ellis y cols, mueren durante el seguimiento un 8.5% de los pacientes. De los pacientes con GC+ mueren el 22%, mientras de los que tienen el GC- sólo un 5.7% (Ellis MC, 2010).

El ensayo MSLT-1 confirma la importancia pronóstica de la afectación el GC. Las cifras de mortalidad del MSLT-1 son algo mayores. Los pacientes con GC+ tienen un 27.2% de probabilidad de morir por el melanoma, mientras que los pacientes con GC- el porcentaje disminuye al 9.8%. La mayoría de autores coinciden en la importancia de la afectación ganglionar en el pronóstico de pacientes con MC. Sólo hay un estudio que sea negativo a considerar el GC como factor de pronóstico, con 309 pacientes y con un seguimiento sólo de 22 meses (Roka F, 2007).



### **1.3.- Descripción de las variables de los pacientes a los que se realizó disección ganglionar.-**

#### **Edad y sexo.-**

La disección ganglionar fue positiva más frecuentemente en los pacientes de más edad (edad media 55.8 años), probablemente porque consultan con melanomas más evolucionados, sin embargo en nuestro estudio la forma más frecuente con GC+ en los pacientes con edad avanzada fue el MES, en contra de lo que ocurre en otros grupos de edad con GC+ que es el MN. Ocurre lo mismo en el estudio de Xing y cols. con predominio en los mayores de 50 años (Xing Y, 2009).

La disección fue positiva en el 13% de las mujeres y en el 40% de los hombres.

No hubo diferencias en la edad ni el sexo en el estudio de Jakub y cols. (Jakub JW, 2009).

En el estudio de Wiener y cols, la edad media de pacientes con disección ganglionar positiva fue de 54.7 años, y en los pacientes con disección negativa de 51.7 años, y fue más frecuente la disección positiva en varones (20.7% vs 15.2%) (Wiener M, 2010). Lo mismo ocurre en el estudio de Ghaferi y cols. (Ghafer AA, 2009).

#### **Forma anatomoclínica.-**

En nuestros pacientes la disección fue positiva con más frecuencia en los MLA (62%), seguidos de MN (26%) y MES (19%). Sin embargo, llama la atención que la afectación del ganglio centinela es más frecuente en los MN, MES y MLA. En el estudio de Xing y cols. la forma más frecuente en todas las localizaciones fue el MN, seguido del MES (Xing Y, 2009). No se encuentran grandes diferencias en la localización en el estudio de Ghaferi y cols. (Ghaferi AA, 2009). En el estudio de Phan y cols, en la forma MLA la proporción de GC+ fue del 28%, y la proporción de disección positiva del 33% en éstos (Phan A, 2007).

#### **Nivel de Clark.-**

Conforme aumenta el nivel de invasión es más frecuente encontrar ganglios positivos en la disección ganglionar. Igual ocurre en nuestra muestra para la afectación del GC+. Coincide el estudio de Xing y cols. con un predominio del nivel III y IV, frente al I y II (Xing Y, 2009).

#### **Ulceración y regresión.-**

La presencia de ulceración confiere más riesgo de ganglios positivos en la disección. En nuestro estudio la disección fue positiva en el 35.5% de los pacientes con MCs ulcerados y sólo en el 13% de los pacientes con MCs sin ulceración.

Coincide el estudio de Jakub y cols. donde hubo mayor incidencia de melanomas ulcerados entre los pacientes con disección positiva, aunque las diferencias no fueron significativas (Jakub JW, 2009), con el de Xing y cols (Xing Y, 2009), y Ghaferi y cols, sólo significativo en el análisis univariante (Ghaferi AA, 2009). Sí se considera como factor predictivo en el estudio de Wiener y cols. (Wiener M, 2010).

La regresión se encontró en solo el 5.3% de los pacientes sometidos a disección ganglionar, y en todos fue negativa. Igual ocurre para la afectación del GC. En el estudio de Ghaferi y cols. la ausencia de regresión se asocia a mayor porcentaje de otros ganglios positivos (18.1% vs 12.5%) (Ghaferi AA, 2009).

#### **Espesor de Breslow.-**

Cuanto mayor fue el espesor y el volumen tumoral, mayor fue el porcentaje de pacientes con disección ganglionar positiva. La media de espesor de Breslow en pacientes con la disección positiva fue de 5.06mm y cuando fue negativa de 3.76. Ocurre lo mismo en el estudio de Ghaferi y cols, con significación en el análisis univariante, pero no en el multivariante (Ghaferi AA, 2009). Se considera como factor predictor de otros ganglios positivos en el estudio de Lee y cols, Sabel y cols, Pearlman y cols, y de Gershenwald y cols (Lee JH, 2004; Sabel MS, 2005; Pearlman NW, 2006; Gershenwald JE, 2008).

#### **Invasión ganglionar: Micrometástasis y Macrometástasis.-**

Cuando en el GC+ la afectación fue en forma de micrometástasis, la disección fue positiva en el 9.09%, mientras que en los que tenían macrometástasis fue del 51.61%.

En el estudio de Van Akkooi y cols, con 388 pacientes con GC+ a los que se les realizó una disección ganglionar, se observó que la masa tumoral (clasificada según los criterios de Róterdam) es un factor pronóstico de afectación ganglionar. El porcentaje de disección ganglionar positiva aumenta del 3% cuando hay sub-micrometástasis (<0.1 mm), al 32% en los casos de macrometástasis (>1 mm).

Igualmente, la localización de la masa tumoral en el ganglio imprime mejor o peor pronóstico. La localización subcapsular muestra el menor porcentaje de disecciones positivas. Afecta a la supervivencia a los 5 años, con una tasa del 91% si la afectación es en forma de submicrometástasis, y del 51% si se trata de macrometástasis (Van Akkooi AC, 2008).

Otros autores coinciden en que a mayor carga tumoral en el ganglio, medida normalmente por su diámetro máximo, mayor es el porcentaje de afectación en la disección ganglionar (Reeves ME, 2003; Pearlman NW, 2006; Govindarajan A, 2007; Scheri RP, 2007; Gershenwald JE, 2008, Van Akkooi CJ, 2009). La localización capsular muestra el menor porcentaje de afectación ganglionar (0 - 2%) mientras que la afectación multifocal o extensa del ganglio los mayores porcentajes (37- 42%) (Dewar DJ, 2004; Van Akkooi CJ, 2009).

#### **Recidiva ganglionar y Desarrollo de metástasis a distancia.-**

En nuestro estudio, cuando la disección ganglionar es positiva hay más riesgo de que exista posteriormente una recidiva ganglionar (33.3% vs 7.8%) y de que aparezcan metástasis a distancia (31.2% vs 17.6%). Es lógico pensar que cuando hay más de un ganglio positivo, la probabilidad de diseminación de la enfermedad por vía linfática y /o hemática sea mayor. Lo mismo ocurre en el estudio de Jakub y cols. El periodo libre de

enfermedad es menor en aquellos pacientes con disección ganglionar positiva, y es proporcional al número de ganglios afectados (Jakub JW, 2009). Los mismos resultados encuentran Wiener y cols, con un peor pronóstico cuanto mayor es el número de ganglios afectados (Wiener M, 2010).

Ariyan y cols, muestran el significado pronóstico de la afectación ganglionar en la disección después de un GC+. La supervivencia media es de 104 meses en los pacientes con la disección negativa, y de 36 meses en los pacientes con ganglios positivos en la disección, con significación estadística (Ariyan C, 2009).

Recientemente, ha reaparecido el ratio resultante de la división de ganglios linfáticos afectados entre el total de ganglios localizados en la disección ganglionar, y definido como “proporción de ganglios linfáticos” (*Lymph node ratio*), que algunos han considerado como el mejor indicador de afectación ganglionar y predictor de supervivencia. Sin embargo, el denominador y por tanto el ratio y pronóstico, va a estar influenciado por la habilidad y experiencia del cirujano, por la extensión y plano de la disección ganglionar (Xing, 2009), así como por la minuciosidad del patólogo en la búsqueda de ganglio en la pieza operatoria. Igualmente, se ha propuesto el “*índice de Shields*” que tiene en cuenta el espesor tumoral y la densidad e invasión de los vasos linfáticos, como un predictor de metástasis. Se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula donde LVD es la densidad de vasos linfáticos perivasculares (*Total peritumoural lymphatic vessel density*) y se multiplica por dos si hay invasión de vasos linfáticos y por uno si no es visible.

$\text{Shields Index} = (\text{LVD}^2 \times \text{invasión}) \times (\text{Breslow thickness})$
--

Este índice es mayor en pacientes con GC+ que con GC-, y algunos lo consideran previamente a realizar esta técnica (Emmett MS, 2010; Shield JD, 2004).

## **2.- ANÁLISIS BIVARIANTE.**

### **2.1.- Descriptivo bivariado respecto al sexo.**

No hay diferencias importantes en nuestro estudio respecto al sexo. La forma anatomoclínica predominante tanto en hombres como en mujeres fue el MES seguido del MN. El GC+ en los varones fue más frecuente en casos de MLA, y en las mujeres en MN. En el estudio de Lowey cols. predomina en ambos casos el MES, sin embargo la muestra se limita a estudiar melanomas finos, con un porcentaje total de MLA y MN del 0.9 y 1% respectivamente.

No hubo diferencias en el espesor de Breslow, y en ambos sexos fue más frecuente el nivel III de Clark, e independiente del sexo a mayor nivel de Clark la afectación del GC aumenta. Lo mismo ocurre con la presencia de ulceración. Lo más frecuente en hombres y mujeres es la ausencia de regresión en el MC y en ambos, la no regresión se asocia a mayor porcentaje de GC+.

Coincidimos con muchos autores en la localización del tumor primario en las extremidades inferiores en mujeres y en el tronco en varones (Lowe J, 2003). La positividad del ganglio centinela es mayor en los MC del tronco en los varones y de extremidad inferior en mujeres, Sin embargo, a pesar que es mas frecuente en mujeres en la extremidad inferior, el porcentaje de GC es mayor en el varón, posiblemente por el tipo de melanoma, más frecuente el MLA y MN en varones que en mujeres.

### **2.2.- Descriptivo bivariado respecto a la edad.**

Coincidimos con la mayoría de autores en el análisis descriptivo bivariado respecto a la edad. Para todas las edades el melanoma más frecuente fue el MES, y entre los pacientes con GC+ fue el MN. El nivel de Clark predominante fue el III, independientemente de la edad, y en los pacientes mayores de 57 años aumenta algo el nivel IV. En todas las edades al aumentar el nivel de Clark, aumenta la proporción de GC+. La ulceración fue más frecuente en los grupos de más edad.

En todas las edades, cuanto mayor es el número de GC localizados, mayor es el porcentaje de GC+. En el grupo de 48-56 años fue más frecuente encontrar 2 ganglios. El tamaño del tumor (espesor, volumen y diámetros) fue mayor en los pacientes con GC+ y mayores de 57años. La localización mas frecuente en todas las edades fue el tronco, excepto en los mayores de 65 que fue la extremidad inferior.

### **3.- MODELIZACIÓN ESTADÍSTICA DE LOS DATOS.**

#### **3.1.- Modelo de regresión logística para ganglio centinela positivo.**

Se han obtenido entre nuestros variables factores de riesgo para el GC+. El espesor de Breslow ( $p=0.058$ ), el nivel de Clark IV ( $p=0.090$ ) y V ( $p=0,037$ ), la presencia de ulceración ( $p=0.004$ ), y el número de ganglios centinelas localizados ( $p=0.006$ ), tienen un valor predictivo independiente para GC+. No se han encontrado interacciones significativas entre las distintas variables sobre el riesgo de GC+.

Hay muchos estudios que correlacionan distintas variables del paciente y del tumor primitivo con la probabilidad de afectación del ganglio centinela. Todos coinciden que el espesor de Breslow es determinante. A mayor espesor mayor probabilidad de afectación ganglionar, sin embargo el punto de corte aún es controvertido (Tabla 43).

	Espesor de Breslow	Nivel de Clark	Ulceración	Otros
Testori A, 2009	+			Regresión factor protector
Ellis MC, 2010	+		+	Localización en miembros superiores
Gershenwald JE, 1999	+		+	
Leong SP, 2006*			+	
Wong SL, 2006**				
Sondak FK, 2004	+			Índice mitótico Edad joven
Rousseau DL, 2003	+		+	Edad joven Localización axial del MC
Wagner JD, 2000	+		+	
Mc Master KM, 2001	+	+	+	Edad joven
Satzger I, 2008	+		+	
Van Akkooi AC, 2005	+		+	

Tabla 43.- Factores predictores de GC positivo

\*MC cabeza y cuello. \*\*Melanomas finos.

Coincidimos con el estudio de Mc Master y cols. (Mc Master KM, 2001). Encontramos significación para el nivel de Clark que en otros estudios no hemos encontrado. Generalmente hay asociación entre el porcentaje de GC+ y el nivel de Clark, de forma que a medida que aumenta el nivel de Clark aumenta el porcentaje de GC+, sin embargo en algunos estudios nos encontramos datos muy dispares, y en la mayoría en el análisis multivariante no se encuentra significación. El nivel de Clark puede estar influenciado por el tipo anatomopatológico, por la localización del tumor primitivo o por el espesor de Breslow. Sondak y cols, en el análisis univariante encuentran asociación a GC+ las variables edad joven, índice miótico, ulceración, espesor de Breslow, y localización en el tronco, sin embargo, en el análisis multivariante sólo hay significación estadística con el espesor de Breslow, la edad joven y el índice mitótico, como factores predictores de afectación del GC. En este estudio, la ulceración no se considera factor pronóstico y es una variable asociada

al índice mitótico, aunque si no se incluyera en el estudio el índice mitótico la ulceración sí mostraría significación por sí sola, como ocurre en la mayoría de estudios (Sondak VK, 2004). En nuestra muestra no se ha incluido el índice mitótico porque es un dato histológico que faltaba en la mayoría de los MC diagnosticados en los primeros años del estudio. Generalmente, se aconseja en pacientes jóvenes con melanomas finos e índice mitótico alto la realización de la BSGC. En este mismo estudio encuentran que la presencia de más de un factor de riesgo aumenta el riesgo total de GC+ (Sondak VK, 2004).

En el estudio multicéntrico italiano de Testori y cols, muestran asociación significativa en el análisis univariante con el espesor de Breslow, nivel de Clark, presencia de ulceración, sexo masculino, y ausencia de regresión. Cuando se realiza el análisis multivariante sólo el espesor de Breslow es predictivo de GC+, y la presencia de regresión es un factor protector (Testori A, 2009).

Recientemente se ha publicado que la regresión no se considera como factor de riesgo para la invasión ganglionar en tumores menores de 1mm. Algunos autores desaconsejan realizar la BSGC en tumores finos, a pesar que muestren signos de regresión (Kramkimel N, 2010). El estudio valenciano en su análisis univariante encuentra que a mayor espesor de Breslow y a mayor T (clasificación TNM), mayor es el porcentaje de GC+ de forma significativa ( $p < 0.01$ ). Igualmente, encuentran significación estadística para el nivel de Clark, la presencia de ulceración, y el tipo histológico ( $p < 0.05$ ) (Tomas-Mallebrera L, 2010). El otro estudio español de Avilés-Izquierdo y cols, encontraron significación para el espesor de Breslow y la forma nodular (Avilés-Izquierdo JA, 2009).

El estudio de Rousseau y cols, coinciden con nuestro estudio en considerar el espesor y la presencia de ulceración como los mejores predictores de afectación del GC. Además incluyen la localización axial y la edad joven. Respecto a la edad, llama la atención que en los jóvenes hay un riesgo mayor de GC+, y en los pacientes de edad menos riesgo mientras que el pronóstico de la enfermedad es peor. Puede explicarse por una historia natural de la enfermedad diferente según la edad. En el análisis univariante, el nivel de Clark se asoció con mayor proporción de GC+. El nivel de Clark ha mostrado significación en algunos estudios y en otros no. Puede estar en relación a qué tipo de pacientes se incluyan en los diferentes estudios, a la selección de pacientes según el espesor de Breslow, ya que hay muchos estudios que no incluyen melanomas finos (Rousseau DL, 2003).

Coincidimos con Ellis y cols, en el espesor y la presencia de ulceración, aunque ellos incluyen la localización en miembros superiores como factor predictor de GC+ (Ellis Mc, 2010).

Nosotros encontramos que el número de ganglios centinela localizados durante la BSGC es un factor predictor de afectación de GC. Esta asociación no la hemos encontrado en otros

estudios previos. Hemos utilizado la proporción del 10% para la identificación del segundo ganglio. Si aparece un segundo o tercer ganglio podemos pensar que igual que ha difundido el contraste utilizado, ha podido difundir la enfermedad saltándose el “efecto barrera” del primer ganglio centinela, y que sería más probable que éste fuera positivo.

### **3.2.- Modelo de regresión logística para otros ganglios positivos (disección ganglionar positiva).**

Este punto lo consideramos importante ya que si podemos predecir con escaso margen de error la situación de los restantes ganglios linfáticos de la cadena donde se localizó el ganglio centinela, realizaríamos la disección ganglionar sólo en algunos casos, en los que existe riesgo de encontrar otros ganglios invadidos, evitando realizar intervenciones innecesarias y someter al paciente a los riesgos de la morbilidad asociada a la intervención. Algunos autores opinan sobre el poco beneficio de la disección ganglionar en algunos casos después de la BSGC con GC+. La disección es positiva entre el 13% y el 28% de los casos. En la literatura hay datos controvertidos sobre los factores de pronóstico para encontrar otros ganglios positivos, y la mayoría incluye datos histológicos del ganglio centinela como principal factor pronóstico. La masa tumoral medida con diferentes parámetros es el factor predictor dominante.

En la tabla 44 se resumen estudios previos de factores predictivos de afectación de otros ganglios en la disección ganglionar (Wiener M, 2010).

En nuestra muestra, aunque de forma individual, el sexo, la forma anatomoclínica, la presencia de ulceración, el nivel de Clark, y el fototipo, se asocian con un porcentaje mayor de disecciones ganglionares positivas, aunque debido a los pocos pacientes incluidos en este subgrupo de nuestro estudio no se pudo comprobar la asociación estadística e independiente con otro tipo de análisis ya que cuando introducimos la variable “invasión del ganglio centinela” las anteriores variables perdieron su significación estadística al 5%.

Nosotros encontramos que la invasión del ganglio centinela en forma de micrometástasis o macrometástasis es un factor de riesgo para la afectación de otros ganglios en la disección ganglionar. La presencia de macrometástasis tienen 10,67 veces más riesgo que los pacientes con micrometástasis ( $p=0,0000$ ).

Coincidimos con el estudio de Cadili y cols, en el análisis multivariante, en que la carga tumoral del GC es un predictor de afectación de otros ganglios. En el análisis univariante, la edad, la presencia de ulceración, y el espesor de Breslow, se asoció a mayor número de disecciones positivas (Cadili A, 2010).

	<b>Factores predictores de disección positiva</b>
Salti, 2003	>2 GC
Reeves, 2003	-
Stara, 2004	Localización tumor primario
Lee, 2004	Espesor de Breslow Masa tumoral/ invasión en el GC+
Cochran, 2004	Espesor de Breslow Masa tumoral/invasión en el GC+
Sabel, 2005	Sexo masculino Espesor de Breslow Extensión extranodal en el GC >2 GC+
Vuylsteke, 2005	Masa tumoral /invasión del GC
Pearlman, 2006	Espesor de Breslow Masa tumoral/invasión en el GC+ Localización del tumor primario
Van Akkooi, 2006	Ausencia de ulceración Número de GC+
Govindarajan, 2007	Masa tumoral/invasión en el GC+
Debarbieux, 2007	Edad Diámetro mayor de l GC+ mayor
Page, 2007	-
Rossi, 2008	Masa tumoral/profundidad en el GC+
Roka, 2008	-
Satzger, 2008	Masa tumoral/invasión en el GC+ > 10% GC+ por H&E Extensión extranodal
Gershenwald, 2008	Espesor de Breslow Masa tumoral/invasión en el GC+ Número de GC
Wiener, 2010	Ulceración
Cadili A, 2010	Masa tumoral en el GC+

Tabla 44.- Factores predictores de disección ganglionar positiva (modificada de Cadili A, 2010)

En el análisis univariante de Ghaferi y cols, el espesor tumoral, la presencia de ulceración y la invasión angiolinfática se asociaron de forma significativa a disección positiva (Ghaferi AA, 2009).

En el estudio de Satzger y cols, un área mayor de 10% de masa tumoral en el ganglio y la invasión perinodal son factores predictores de afectación de otros ganglios, pero no encuentran ninguna influencia de la características del tumor primario (Satzger I, 2008). Cochrane y cols. son los primeros que establecen como factor predictor de afectación de otros ganglios el área afectada del GC mayor 4% (calculado mediante un programa de análisis de imagen informático) (Cochrane AJ, 2004). El examen histológico del ganglio se debe realizar con H&E y técnicas de inmunohistoquímica ya que ofrece información pronóstica. Se ha comprobado que hay un 2% de riesgo adicional sólo de GC+ utilizando inmunohistoquímica de rutina (Sabel MS, 2005).



#### **4.- MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA PARA GC POSITIVO. NOMOGRAMA Y CURVA ROC.-**

Hemos construido un modelo de regresión logística que nos permite conocer la probabilidad que tienen nuestros pacientes de que el GC sea positivo. Nos hemos basado en el nomograma del MSCKK y en la representación gráfica del modelo de regresión logística del estudio de Wong y cols. (Wong SL, 2005), con la intención de predecir de una forma fácil, rápida y segura la afectación del GC, y poder estimar qué individuos tienen mayor o menor riesgo, y poder ofrecer esta información a nuestros pacientes.

La principal diferencia de nuestro modelo con el MSCKK es el número de variables que incluimos. Mientras que el MSCKK lo hacen con variables que en diferentes estudios han tenido significación en el análisis multivariante, como el espesor de Breslow, el nivel de Clark, la presencia de ulceración, el sexo, la edad y la localización, nosotros sólo incluimos nuestras cuatro variables significativas, el espesor de Breslow, nivel de Clark, presencia de ulceración y el número de ganglios localizados en la BSGC que son datos objetivos, fácilmente obtenibles y reproducibles, y los únicos que han sido independientes en el estudio multivariante.

No hay consenso sobre qué variables predicen mejor la afectación del GC. Parece que cuantas más variables se utilicen, más puede aumentar el diagnóstico de certeza, sin embargo es más difícil de utilizar. El problema es que existen pocos estudios, y la mayoría no coinciden ni corroboran los datos de estudios previos. Esto puede ocurrir porque los análisis estadísticos que se emplean son diferentes y las poblaciones de estudio muy heterogéneas. En la actual clasificación de la AJCC se tiene en cuenta el espesor de Breslow, la presencia de ulceración, el índice mitótico, el número de ganglios afectados, y la invasión del ganglio (macro o micro metástasis), y retiran el nivel de Clark. Estos factores son predictores de supervivencia y además, predictores de GC+. Nosotros sin embargo, hemos encontrado significación estadística en la predicción del GC con el nivel de Clark por lo que lo incluimos en nuestro modelo que tiene como principal ventaja respecto al anterior el menor número de variables haciéndolo más cómodo.

#### **¿Cómo se realiza el nomograma?**

El nomograma predice la probabilidad que un paciente tiene de que el GC sea positivo. Se le asigna a cada variable una puntuación según el nomograma, y se hace una suma manual del total de puntos, que se correlaciona con la línea inferior que nos ofrece la probabilidad. El uso de estos nomogramas como representación gráfica de los modelos de regresión logística se viene empleando en medicina desde el año 1958 y hasta la fecha ha sido en el cáncer de pulmón, de próstata, esófago, y melanoma, donde más se ha desarrollado (Dreiseitl S, 2005; Houvenaeghel G, 2008; Kohrt HE, 2008; Katz A, 2008). En

las últimas décadas se tiende a sustituir por programas estadísticos de uso informático mucho más ágiles y rápidos para el uso por el clínico. En nuestro estudio se ha realizado basándonos en el modelo de regresión logística un nomograma de fácil uso, y se ha ejecutado un programa informático más cómodo y rápido que predice con exactitud la probabilidad del GC+ en nuestros pacientes, y que puede ser extendido su uso a otros.

En el estudio de Dreiseitl y cols, se establece un modelo para identificar pacientes con riesgo de desarrollar un melanoma cutáneo, por la importancia del diagnóstico precoz en el pronóstico del MC. Observan que empleando ocho preguntas relacionadas a características físicas del paciente, hábitos de exposición solar, nevus, etc... obtienen una discriminación muy similar a si emplean sólo tres preguntas. Empleando variables ordinales. En nuestro caso, igualmente se han empleado variables ordinales.

Para establecer una correlación entre nuestro modelo y otros ya validados comparamos las posibilidades que tienen nuestros paciente de tener el GC+ de acuerdo con nuestro modelo y el del MSCKK. Para ello los datos obtenidos en nuestro pacientes con nuestro modelo de regresión se ha evaluado gráficamente junto al MSCKK y se observa que el nuestro sobreestima levemente las probabilidades de GC+ para los pacientes respecto al MSCKK. La línea en el ángulo de 45° indica el nomograma ideal que predice perfectamente. El MSCKK se encuentra por encima de la línea, por lo que tiende a predecir probabilidades más bajas que las reales. Nuestro modelo se encuentra por debajo de la línea, por lo que sobreestima la probabilidad.

La curva ROC nos indica cómo de probable es el acierto con el modelo empleado. En nuestro caso el área bajo la curva es 0.762 e indica que la probabilidad de clasificar a un par de pacientes con y sin GC+ es correcto en el 76% de los casos. Es algo mayor que con el modelo MSCKK que es de 0.751.

La mayoría de nomogramas en la literatura se sitúan entre el 0.7 y 0.83.

Una vez establecido el modelo, validado con el del MSCKK y comprobada su fiabilidad con la curva ROC podemos concluir que nuestro modelo es válido y de utilidad para predecir la situación del GC en nuestros pacientes con MC.

**Ejemplos de cálculo con nuestro nomograma y programa informático.-**

<b>Puntos</b>	-5,3	-4,6	-3,9	-2,9	-2,2	-1,4	-0,8	-0,4	0,0	0,4	0,8	1,4	2,2	2,9	3,9	4,6	5,3
<b>Probabilidades</b>	0,005	0,010	0,020	0,050	0,100	0,200	0,300	0,400	0,500	0,600	0,700	0,800	0,900	0,950	0,980	0,990	0,995

- Ejemplo de cálculo 1:

1. Paciente sin melanoma ulcerado
2. Con 1 ganglio.
3. Con espesor 4mm
4. Nivel de clark III

$$\text{Puntos} = -2,723 + 0,843 \cdot (\text{Ulcerado}) + 0,924 \cdot (\text{Numero Glanglios}) + 0,119 \cdot (\text{Espesor}) + 0,754 \cdot (\text{Nivel Clark IV}) + 1,106 \cdot (\text{Nivel Clark V}) = -2,723 + 0,843 \cdot 0 + 0,924 \cdot 0 + 0,119 \cdot 4 + 0,754 \cdot 0 + 1,106 \cdot 0 = -2.247$$

Aproximadamente la probabilidad de que el ganglio centinela sea positivo es 0.1.

El resultado coincide con el que muestra el programa informático (figura 7).

**Cálculo de probabilidad Ganglio Centinela**

Paciente con melanoma ulcerado

Número de Ganglios Centinela localizados

Espesor (mm)

Nivel de Clark

**La probabilidad de ganglio centinela positivo en un paciente con dichas características es 0.0956**

2010

Figura 7.- Uso del programa informático en el ejemplo 1.

- Ejemplos de cálculo 2:

1. Paciente con melanoma ulcerado
2. Con 2 o más ganglios localizados
3. Con espesor 6mm
4. Nivel de clark V

$$\text{Puntos} = -2,723 + 0,843 * (\text{Ulcerado}) + 0,924 * (\text{Numero Glanglios}) + 0,119 * (\text{Espesor}) + 0,754 * (\text{Nivel Clark IV}) + 1,106 * (\text{Nivel Clark V}) = -2,723 + 0,843 * 1 + 0,924 * 1 + 0,119 * 6 + 0,754 * 0 + 1,106 * 1 = 0.864$$

Aproximadamente la probabilidad de que el ganglio centinela sea positivo es 0.7.

El resultado coincide con el que muestra el programa informático (figura 8).

**Cálculo de probabilidad Ganglio Centinela**

Paciente con melanoma ulcerado

Número de Ganglios Centinela localizados

Espesor (mm)

Nivel de Clark

**La probabilidad de ganglio centinela positivo en un paciente con dichas características es 0.7035**

2010

Figura 8.- Uso del programa informático en el ejemplo 2.

## **VI- CONCLUSIONES.**

- 1.- Las características clínicas, anatomopatológicas y evolutivas de nuestra serie, con ligeras diferencias, coinciden con lo publicado en otras series.
- 2.- Los factores independientes para GC + son el espesor del tumor, los niveles IV y V de Clark, la presencia de ulceración y el número de ganglios centinelas.
- 3.- Como representación gráfica de nuestro modelo predictivo hemos construido un nomograma y un programa informático con los que podemos establecer, de una forma fácil y rápida, el riesgo de GC +.
- 4.- A pesar de que se incluyen variables distintas los resultados obtenidos con nuestro modelo son idénticos a los obtenidos con el del MSCKK.
- 5.- Por limitaciones del tamaño de la muestra no hemos podido establecer el modelo predictor de “otros ganglios positivos” en el que continuaremos trabajando.

VI.- BIBLIOGRAFÍA.

Abdel-Wahab Z, Li WP, Darrow T, Nudelman ED, Towell A, Seigler HF. Cell surface reactive human monoclonal antibody directed to human melanoma-associated gangliosides. *Melanoma Res* 1993; 3:415-423.

Ackermann AB, Magaña-García M. Naming acquired melanocytic nevi. Unna's, Miescher's, Spitz's, Clark's. *Am J Dermatopathol* 1990;12:193-209.

Acland KM, O'Doherty MJ, Russell JR. The value of positron emission tomography scanning in the detection of subclinical metastatic melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1999; 42:606-611.

Acland K, Evans AV, Abrahá H, Healy CM, Roblin P, Calonje E, Orchard G, Higgins E, Sherwood R, Russell-Jones R.. Serum S-100 concentrations are not useful in predicting micrometastatic disease in cutaneous malignant melanoma. *Br J Dermatol* 2002; 146:832-835.

Almazán-Fernández FM, Serrano-Ortega S, Moreno-Villalonga JJ. Estudio descriptivo del costo del diagnóstico y tratamiento del melanoma cutáneo. *Actas Dermosifiliogr* 2009;100:785-791.

Alvarez-Mon Soto M, Camacho Martínez F, Díaz Pérez JL, Díaz-Rubio E, Gonzalez Larriba JL, Guillen Porta JJ, Lopez Lopez JJ, Moreno Nogueira JA, Serrano Ortega S, Toribio Pérez J. Panorámica actual del melanoma. *Accion Médica* ed. Madrid 1997.

Amersi F, Morton DL. The role of sentinel lymph node biopsy in the management of melanoma. *Adv Surg* 2007; 41:241-256.

Aránega A, Carrillo E., Marchal JA, Melguizo C, Prados JC, Serrano Ortega S. Detección de células tumorales circulantes en pacientes con melanoma mediante RT-PCR de la enzima tirosinasa: un nuevo marcador para la valoración de la progresión de la enfermedad. *Consejería de Salud de la Junta de Andalucía*. 2001.

Argenziano G, Fabrocini G, Carli P, De Giorgi V, Sammarco E, Delfino M. Epiluminiscence microscopy for the diagnosis of doubtful melanocytic skin lesions. Comparison of the ABCD rule dermatoscopy and a New 7-point checklist based on pattern analysis. *Arch Dermatol*, 1998;134:1563-1570.

Argenziano G, Soyer H. Dermoscopy of pigmented skin lesions. A valuable tool for early diagnosis of melanoma. *Lancet Oncol* 2001; 2:443-449

Argenziano G, Soyer HP, Chimenti S, Talamini R, Corona R, Sera F, Binder M, Cerroni L, De Rosa G, Ferrara G, Hofmann-Wellenhof R, Landthaler M, Menzies SW, Pehamberger H, Piccolo D, Rabinovitz HS, Schiffner R, Staibano S, Stolz W, Bartenjev I, Blum A, Braun R, Cabo H, Carli P, De Giorgi V, Fleming MG, Grichnik JM, Grin CM, Halpern AC, Johr R, Katz B, Kenet RO, Kittler H, Kreuzsch J, Malvey J, Mazzocchetti G, Oliviero M, Ozdemir F, Peris K, Perotti R, Perusquia A, Pizzichetta MA, Puig S, Rao B, Rubegni P, Saida T, Scalvenzi M, Seidenari S, Stanganelli I, Tanaka M, Westerhoff K, Wolf IH, Braun-Falco O, Kerl H, Nishikawa T, Wolff K, Kopf AW. Dermoscopy of pigmented skin lesions: results of a consensus meeting via the Internet. *J Am Acad Dermatol* 2003; 48:679-693.

Ariyan C, Brady MS, Gönen M, Busam K, Coit D. Positive nonsentinel node status predicts mortality in patients with cutaneous melanoma. *Ann Surg Oncol* 2009;16:186-90.

Armijo M, Camacho F, Aliaga A. Tumores pigmentarios. Nevus pigmentocelulares. Coristomas melanocíticos. *Melanomas*. En. Armijo M, Camacho F. *Tratado de Dermatología*. Aula Médica. Madrid, 1998. pp 493.

Arranz Sanchez DM, Pizarro A, Valencia Delfa JL, et al. Características clínico patológicas de los melanomas cutáneos diagnosticados en un hospital terciario mediterráneo entre 1990 y 2004: comparación entre sexos, por grupos de edad y evolución a lo largo del tiempo. *Actas dermatosifiliogr* 2009; 100: 476-85.

Arumi-Uria M. Dysplastic nevus:the eye of the hurricane. *J Cut Pathol* 2008;35:16-19.

Australian Cancer Network. Guidelines for the management of cutaneous melanoma. The Stone Press. Sydney, 1997

Avilés Izquierdo JA, Lázaro Ochoa P. Biopsia del ganglio centinela como factor pronóstico en el melanoma cutáneo. *Actas Dermosifiliogr* 2009; 100:486-492.

Balch CM, Soong SJ, Bartolucci AA, Urist MM, Karakousis CP, Smith TJ, Temple WJ, Ross MI, Jewell WR, Mihm MC, Barnhill RL, Wanebo HJ.. Efficacy of an elective regional lymph node dissection of 1 to 4 mm thick melanomas for patients 60 years of age and younger. *Ann Surg* 1996; 224:255-263.

Balch CM, Buzaid AC, Atkins MB, Cascinelli N, Coit DG, Fleming ID, Houghton A Jr, Kirkwood JM, Mihm MF, Morton DL, Reintgen D, Ross MI, Sober A, Soong SJ, Thompson JA, Thompson JF, Gershenwald JE, McMasters KM. A new American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma. *Cancer* 2000; 88:1484-1491.

Balch CM, Soong SJ, Gershenwald JE, Thompson JF, Reintgen DS, Cascinelli N, Urist M, McMasters KM, Ross MI, Kirkwood JM, Atkins MB, Thompson JA, Coit DG, Byrd D, Desmond R, Zhang Y, Liu PY, Lyman GH, Morabito A Prognostic factors analysis of 17 600 melanoma patients: validation of the American Joint Committee on Cancer melanoma staging system. *J Clin Oncol* 2001; 19:3622-3634. (a)

Balch CM, Buzaid AC, Soong SJ, Atkins MB, Cascinelli N, Coit DG, Fleming ID, Gershenwald JE, Houghton A Jr, Kirkwood JM, McMasters KM, Mihm MF, Morton DL, Reintgen DS, Ross MI, Sober A, Thompson JA, Thompson JF. Final version of the American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 2001;19:3635-3648. (b)

Balch CM, Soong SJ, Smith T, Ross MI, Urist MM, Karakousis CP, Temple WJ, Mihm MC, Barnhill RL, Jewell WR, Wanebo HJ, Desmond R. Long-term results of a prospective surgical trial comparing 2 cm vs. 4 cm excision margins for 740 patients with 1–4 mm melanomas. *Ann Surg Oncol* 2001; 8:101–108. (c)

Balch CM, Buzaid AC, Soong SJ, Atkins MB, Cascinelli N, Coit DG, Fleming ID, Gershenwald JE, Houghton A Jr, Kirkwood JM, McMasters KM, Mihm MF, Morton DL, Reintgen DS, Ross MI, Sober A, Thompson JA, Thompson JF. New TNM Melanoma staging system: Linking biology and natural history to clinical outcomes. *Semin Surg Oncol* 2003;21:43-52

Balch CM, Soong SJ, Atkins MB, Buzaid AC, Cascinelli N, Coit DG, Fleming ID, Gershenwald JE, Houghton A Jr, Kirkwood JM, McMasters KM, Mihm MF, Morton DL, Reintgen DS, Ross MI, Sober A, Thompson JA, Thompson JF. An evidence-based staging system for cutaneous melanoma. *Cancer J Clin* 2004;54:131-149.

Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, Thompson JF, Atkins MB, Byrd DR, Buzaid AC, Cochran AJ, Coit DG, Ding S, Eggermont AM, Flaherty KT, Gimotty PA, Kirkwood JM, McMasters KM, Mihm MC Jr, Morton DL, Ross MI, Sober AJ, Sondak VK. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J Clin Oncol* 2009; 27:6199-206. (a)

Balch CH, Morton DL, Gershenwald JE, McMasters KM, Nieweg OE, Powell B, Ross MI, Sondak VK, Thompson JF. Sentinel node biopsy and standard of care for melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2009; 60:872-875. (b)

Ball NJ, Yohn JJ, Morelli JG, Norris DA, Golitz LE, Hoeffler JP. Ras mutations in human melanoma: A marker of malignant progression. *J Invest Dermatol* 1994; 102:285-290.

Barbacid M. Ras gene. *Annu Rev Biochem*, 1987; 56:779-827.

Barnhill RL, Gupta K. Unusual variants of malignant melanoma. *Clin Dermatol*. 2009;27:564-587.

Benacerraf B, Unanue ER. *Inmunología*, 2ª Ed Panamericana Buenos Aires 1986.

Bennicelli JL, Elias J, Kern J, Guerry D. Production of interleukin 1 activity by cultured human melanoma cells. *Cancer Res* 1989;49:930-935.

Berk DR, Johnson DL, Uzieblo A, Kiernan M, Swetter SM. Sentinel lymph node biopsy for cutaneous melanoma: the Stanford experience, 1997-2004. *Arch Dermatol*. 2005;14: 1016-1022.

Bermudez MC, Burgos D, Serrano Ortega S. Normas de protección radiológica en la cirugía radioguiada del ganglio centinela en el melanoma cutáneo. *Piel* 2000; 15:400-403.

Blaheta HL. Examination of regional lymph nodes by sentinel node biopsy and molecular analysis provides new staging facilities in primary cutaneous melanoma. *J Invest Dermatol* 2000;114:637-642.

Blum A, Rassner G, and Garbe C. Modified ABC-point list of dermatoscopy: A simplified and highly accurate dermoscopic algorithm for the diagnosis of cutaneous melanocytic lesions. *J Am Acad Dermatol* 2003; 48:672-678.

Bilimoria KY, Balch CM, Bentrem DJ, Talamonti MS, Ko CY, Lange JR, Winchester DP, Wayne JD. Complete lymph node dissection for sentinel node-positive melanoma: assessment of practice patterns in the United States. *Ann Surg Oncol* 2008;15:1566-1576.

Bonfrer Jm, Korse CM. Monitoring malignant melanoma with the S-100B tumour marker. *Recent Results Cancer Res* 2001; 158:149.

Bos J. The ras gene family and human carcinogenesis. *Tutation Res*. 1988; 195:255-271.

Bosserhoff AK, Dreau D, Hein R, Landthaler M, Holder WD, Buettner R. Melanoma inhibitory activity, a serological marker of malignant melanoma. *Recent results cancer Res* 2001; 158: 158-168.

Brady MS. Sentinel lymph node mapping in patients with cutaneous melanoma. *Dermatol Surg* 2004; 30:272-278.

Brown M. Staging and prognosis of melanoma. *Semin Cutan Med Surg*. 1997; 16:113-121.

Brochez L, Naeyaert JM, serological markers for melanoma. *Br J Dermatol* 2000; 143:256-268.

Bub JL, Berg D, Slee A, Odland PB. Management of lentigo maligna and lentigo maligna melanoma with staged excision. *Arch Dermatol* 2004; 140:552-558.

Buendía A, Ortega RM, Serrano S. ¿Han cambiado nuestros melanomas? *Actas Dermosifiliogr* 1997; 88:13-17.



Burgdorf SK, Claesson MH, Nielsen HJ, Rosenberg J. Changes in cytokine and biomarker blood levels in patients with colorectal cancer during dendritic cell-based vaccination. *Acta Oncol* 2009; 48:1157-1164.

Busam KJ, Kucukgol D, Sato E, Frosina D, Teruya-Feldstein J, Jungbluth AA. Immunohistochemical analysis of novel monoclonal antibody PNL2 and comparison with other melanocyte differentiation markers. *Am J Surg Pathol* 2005; 29: 400-408.

Cabañas RM. An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer* 1977; 39:456–466.

Cadili A, Smylie M, Danyluk J, Dabbs K. Prediction of nonsentinel lymph node metastasis in malignant melanoma. *J Surg Res* 2009; 154: 324-9.

Cadili A, Scolyer RA, Brown PT, Dabbs K, Thompson JF. Total sentinel lymph node tumor size predicts nonsentinel node metastasis and survival in patients with melanoma. *Ann Surg Oncol*. 2010 Jun 15. [Epub ahead of print]

Campos EI, Cheung KJ, Murria A, Li S, and Li G. The novel tumour suppressor gene ING1 is overexpressed in human melanoma cell lines. *British J Dermatol* 2002; 146:574-580.

Carli P, Massi D, Santucci M, Biggeri A, Giannotti B. Cutaneous melanoma histologically associated with a nevus and melanoma de novo have a different profile of risk: Results from a case-control study. *J Am Acad Dermatol* 1999;40:549-557.

Carlie G, Entusi NB, Hulley PA, Kidson SH. Kuva (khelin plus ultraviolet A) stimulates proliferation and melanogenesis in normal human melanocytes and melanoma cells in vitro. *Br J Dermatol* 2003;149:707-717.

Carlson GW. Age and the incidence of sentinel lymph node metastases in melanoma. *Ann Surg Oncol* 2004; 11:236-237.

Carlson JA, Ross JS, Slominski A, Linette G, Mysliborski J, Hill J, Mihm M Jr. Molecular diagnostics in melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2005; 52:743-775.

Carlson GW, Page AJ, Cohen C, Parker D, Yaar R, Li A, Hestley A, Delman KA, Murria D. Regional Recurrence After Negative Sentinel Lymph Node Biopsy for Melanoma. *Ann Surg* 2008; 248: 378–386.

Carrillo E, Prados J, Mercjal JA, Boulaiz H, Martínez A, Rodríguez-Serrano F, Caba O, Serrano S, Aranega A. Prognostic value of RT-PCR tyrosinase detection in peripheral blood of melanoma patients. *Dis Markers* 2006; 22:175-181.

Cascinelli N, Vaglini M, Nava M, Santinami M, Marolda R, Rovini D, Clemente C, Bufalino R, Morabito A. Prognosis of skin melanoma with regional node metastases (stage II). *J Surg Oncol* 1984; 25:240-247.

Cascinelli N, Morabito A, Santinami M, MacKie RM, Belli F. Immediate or delayed dissection of regional nodes in patients with melanoma of the trunk: a randomised trial. *WHO Melanoma Programme. Lancet* 1998; 351:793-6.

Cascinelli N, Belli F, Santinami M, Fait V, Testori A, Ruka W, Cavaliere R, Mozzillo N, Rossi CR, MacKie RM, Nieweg O, Pace M, Kirov K. Sentinel lymph node biopsy in cutaneous melanoma: the WHO Melanoma Program experience. *Ann Surg Oncol* 2000; 7:469–474.

Cecchi R, Pavesi M, Buralli L, Innocenti S, De Gaudio C. Tumour regression does not increase the risk of sentinel node involvement in thin melanomas. *Chir Ital* 2008; 60:257-260.

Chakera AH, Hesse B, Burak Z, Ballinger JR, Britten A, Caracò C, Cochran AJ, Cook MG, Drzewiecki KT, Essner R, Even-Sapir E, Eggermont AM, Stopar TG, Ingvar C, Mihm MC Jr, McCarthy SW, Mozzillo N, Nieweg OE, Scolyer RA, Starz H, Thompson JF, Trifirò G, Viale G, Vidal-Sicart S, Uren R, Waddington W, Chiti A, Spatz A, Testori A. EANM-EORTC general recommendations for sentinel node diagnostics in melanoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009; 36:1713-1742.

Christensen B, Blichert-Toft M, Siemssen OJ, Nielsen SL. Reliability of axillary lymph node scintiphography in suspected carcinoma of the breast. *Br J Surg* 1980; 67:667-668.

Chao C, Wong SL, Ross MI, Reintgen DS, Noyes RD, Cerrito PB, Edwards MJ, McMasters KM; Sunbelt Melanoma Trial Group. Patterns of early recurrence after sentinel lymph node biopsy for melanoma. *Am J Surg* 2002;184:520-524.

Chao C, Martin RC, Ross MI, Reintgen DS, Edwards MJ, Noyes RD, Hagendoorn LJ, Stromberg AJ, McMasters KM. Correlation between prognostic factors and increasing age in melanoma. *Ann Surg Oncol* 2004;11:259-264.

Cherpelis BS, Haddad F, Messina J, Cantor AB, Fitzmorris K, Reintgen DS, Fenske NA, Glass LF. Sentinel lymph node micrometastasis and other histologic factors that predict outcome in patients with thicker melanomas. *J Am Acad Dermatol*. 2001;44:762-766.

Chua R, Setzer S, Govindarajan B, Sexton D, Cohen C, Arbiser JL. Maspin expression, angiogenesis, prognostic parameters, and outcome in malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2009; 60:758-766.

Clark WH, Reimer RR, Greene M, Ainsworth AM, Mastrangelo MJ. Origin of familial malignant melanomas from heritable melanocytic lesions. The B-K mole syndrome. *Arch Dermatol* 1978;114:732-738.

Clark WH Jr, Elder ED, Guerry D, Epstein MN, Greene MH, Van Horn M. The precursor lesions of superficial spreading and nodular melanoma. *Hum Pathol* 1984;15:1147-151.

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; 81:1893-904.

Clary BM, Brady MS, Lewis JJ, Coit DG. Sentinel lymph node biopsy in the management of patients with primary cutaneous melanoma: review of a large single-institutional experience with an emphasis on recurrence. *Ann Surg* 2001;233:250-258.

Clegg LX, Reichman ME, Miller BA, Hankey BF, Singh GK, Lin YD, Goodman MT, Lynch CF, Schwartz SM, Chen VW, Bernstein L, Gomez SL, Graff JJ, Lin CC, Johnson NJ, Edwards BK. Impact of socioeconomic status on cancer incidence and stage at diagnosis: selected findings from the surveillance, epidemiology, and end results: National Longitudinal Mortality Study. *Cancer Causes Control* 2009;20:417-435.

Clemente-Ruiz de Almirón A, Almazán-Fernández FM, Serrano-Ortega, S. Acerca de la edad de malignización de los nevos melanocíticos congénitos. *Actas Dermosifiliogr* 2009;100:84-85.

Cochran AJ. Surgical pathology remains pivotal in the evaluation of sentinel lymph nodes. *Am J Surg Pathol* 1999; 23:1169-1172.

- Cochran AJ, Wen DR, Huang RR, Wang HJ, Elashoff R, Morton DL.. Prediction of metastatic melanoma in nonsentinel nodes and clinical outcome based on the primary melanoma and the sentinel node. *Mod Pathol* 2004; 17:747–55.
- Cochran AJ, Ohsie SJ, Binder SW: Pathobiology of sentinel node. *Curr opin oncol* 2008; 20:190-95.
- Cohn-Cedermark G, Rutqvist LE, Andersson R, Breivald M, Ingvar C, Johansson H, Jönsson PE, Krysander L, Lindholm C, Ringborg U. Long term results of a randomized study by the Swedish Melanoma Study Group on 2-cm versus 5-cm resection margins for patients with cutaneous melanoma with a tumor thickness of 0.8– 2.0 mm. *Cancer* 2000; 89:1495–1501.
- Coit DG, Rogatko A, Brennan MF. Prognostic factors in patients with melanoma metastatic to axillary or inguinal lymph nodes. A multivariate analysis. *Ann Surg* 1991; 214:627-636.
- Coit DG, Andtbacka R, Bichakjian CK, Dilawari RA, Dimaio D, Guild V, Halpern AC, Hodi FS, Kashani-Sabet M, Lange JR, Lind A, Martin L, Martini MC, Pruitt SK, Ross MI, Sener SF, Swetter SM, Tanabe KK, Thompson JA, Trisal V, Urist MM, Weber J, Wong MK; NCCN Melanoma Panel. Melanoma. *J Natl Compr Canc Netw*. 2009;7:250-275.
- Coldiron BM. Sentinel node biopsy. Who needs it?. *Intern J Dermatol* 2000; 39:807-811.
- Coldiron BM, Dinehart S, Rogers HW. Sentinel lymph node biopsy and completion lymph node dissection for malignant melanoma are not standard of care. *Clinics in Dermatology* 2009; 27: 350–354.
- Cook MG, Green MA, Anderson B, Eggermont AM, Ruiter DJ, Spatz A, Kissin MW, Powell BW; EORTC Melanoma Group. The development of optimal pathological assessment of sentinel lymph nodes for melanoma. *J Pathol* 2003; 200:314-319.
- Corsetti RL, Allen HM, Wanebo HJ. Thin  $\leq$  1 mm level III and IV melanomas are higher risk lesions for regional failure and warrant sentinel lymph node biopsy. *Ann Surg Oncol* 2000;7:456-460.
- Cuellar FA, Vilalta A, Rull R, Vidal-Sicart S, et al. Small cell melanoma and ulceration as predictors of positive lymph node in malignant melanoma patients. *Melanoma res* 2004; 14:277-82.
- Curado M.P, Edwards B, Shin H.R, Storm H, Ferlay J, Heanue M and Boyle P. (eds) *Cancer Incidence in Five Continents, Vol. IX. IARC Scientific Publications No. 160, Lyon. IARC, 2007.*
- Daryanani D, Plukker JT, De Hullu JA, Kuiper H, Nap RE, Hoekstra HJ. Pregnancy and early stage melanoma. *Cancer* 2003;97:2248-2253.
- Davids V, Kidson SH, Hanekom S. Melanoma patients staging: Histopathological versus molecular evaluation of the sentinel node. *Melanoma Res* 2003; 13:313-324.
- Dewar DJ, Newell B, Green MA, et al. The microanatomic location of metastatic melanoma in sentinel lymph nodes predicts nonsentinel lymph node involvement. *J Clin Oncol* 2004; 22:3345-9.
- De Braud F, Khayat D, Kroon BB, Valdagni R, Bruzzi P, Cascinelli N. Malignant Melanoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2003;47:35-63.
- De Waal RM, van Altena MC, Erhard H, Weidle UH, Nooijen PT, Ruiter DJ. Lack of lymphangiogenesis in human primary cutaneous melanoma. Consequences for the mechanism of lymphatic dissemination. *Am J Pathol* 1997;150:1951-1957.

- Diepgen TL, Mahler V. The epidemiology of skin cancer. *Br J Dermatol* 2002;146:1-6.
- Diffey BL, Farr PM. Tanning with UVB or UVA: An appraisal of risks. *J Photochem Photobiol* 1991;8:219-222.
- Diffey BL. A quantitative estimate of melanoma mortality from ultraviolet A sunbed in the U.K. *Br J Dermatol* 2003;149:578-581.
- Doting MH, Hoekstra HJ, Plukker JT, Piers DA, Jager PL, Tiebosch AT, Vermey A, Schraffordt Koops H. Is sentinel node biopsy beneficial in melanoma patients? A report on 200 patients with cutaneous melanoma. *Eur J Surg Oncol* 2002; 28:673-678.
- Doubrovsky A, De Wilt JH, Scolyer RA, McCarthy WH, Thompson JF. Sentinel node biopsy provides more accurate staging than elective lymph node dissection in patients with cutaneous melanoma. *Ann Surg Oncol* 2004; 11:829-836.
- Dummer R, Hauschild A, Jost L, ESMO Guidelines Working Group. Cutaneous malignant melanoma: ESMO Clinical Recommendations for diagnosis, treatment and followup. *Ann Oncol* 2008;19:86-88.
- Dummer R, Hauschild A, Pentheroudakis G. Cutaneous malignant melanoma: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2009; 20:129-131.
- Durrani AJ, Moir GC, Diaz-Cano SJ, Cerio R. Malignant melanoma in an 8-year-old Caribbean girl: diagnostic criteria and utility of sentinel lymph node biopsy. *Br J Dermatol* 2003; 148:569-572.
- Eggermont AMM, Keilholz U, Autier PH, Ruiters DJ, Lehmann F, Lienard D. The EORTC Melanoma Group: a comprehensive melanoma research programme by clinicians and scientists. *Eur J Cancer* 2002;38:S114-119.
- Egistelli L, Chichiarelli S, Gaucci E, Eufemi M, Schininà ME, Giorgi A, Lasco I, Turano C, Giartosio A, Cervoni L. IFI16 and NM23 bind to a common DNA fragment both in the P53 and the cMYC gene promoters. *J Cell Biochem* 2009; 106:666-672.
- Ellis MC, Weerasinghe R, Corless CL, Vetto JT. Sentinel lymph node staging of cutaneous melanoma: predictors and outcomes. *Am J Surg* 2010; 199:663-668.
- Elwood J.M. Melanoma and sun exposure. *Semin Oncol* 23: 650, *Semin Oncol*. 1996;23:650-666.
- Emmett MS, Symonds KE, Rigby H, Cook MG, Price R, Metcalfe C, Orlando A, Bates DO. Prediction of melanoma metastasis by the Shields index based on lymphatic vessel density. *BMC Cancer*. 2010;10:208-216
- Erickson JL, Velasco JM, Hieken TJ. Compliance with melanoma treatment guidelines in a community teaching hospital: time trends and other variables. *Ann Surg Oncol* 2008; 15:1211-1217.
- ESMO Guidelines Task Force. ESMO Minimum Clinical Recommendations for diagnosis, treatment and follow-up of cutaneous malignant melanoma. *Annals of Oncology* 14: 1012-1013, 2003.
- Essner R, Conforti A, Kelley MC, Wanek L, Stern S, Glass E, Morton DL. Efficacy of lymphatic mapping, sentinel lymphadenectomy, and selective complete lymph node dissection as a therapeutic procedure for early-stage melanoma. *Ann Surg Oncol* 1999;6:442-449
- Fazaa B, Zghal M, Bailly C, Zeglaoui F, Gaucha S, Mokhtar I, Kharfi M, Ezzine N, Kamoun MR. Melanoma in xeroderma pigmentosum: 12 cases. *Ann Dermatol Venereol*. 2001;128:503-506.

Fernández Pugnaire MA, Ortega del Olmo RM y Serrano Ortega S. Microscopía de Epiluminiscencia en el diagnóstico de los tumores pigmentados (I). *Piel* 1995;10:203-209 (a).

Fernández Pugnaire MA, Ortega del Olmo RM y Serrano Ortega S. Microscopía de Epiluminiscencia en el diagnóstico de los tumores pigmentados (II). *Piel* 1995;10:322-325 (b).

Ferrier CM, Suciú S, van Geloof WL, Straatman H, Eggermont AM, Koops HS, Kroon BB, Lejeune FJ, Kleeberg UR, van Muijen GN, Ruiter DJ. High tPA expression in primary melanoma of the limb correlates with good prognosis. *Br J Cancer* 2000; 83:1351.

Ferrone CR, Panageas KS, Busam K, Brady MS, Coit DG. Multivariate prognostic model for patients with thick cutaneous melanoma: importance of sentinel lymph node status. *Ann Surg Oncol* 2002; 9: 637-645.

Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the «seed and soil» hypothesis revisited. *Nat Rev Cancer* 2003; 3:453-458.

Findeisen P, Zapatka M, Peccerella T, Matzk H, Neumaier M, Schadendorf D, Ugurel S. Serum amyloid A as a prognostic marker in melanoma identified by proteomic profiling. *J Clin Oncol* 2009; 27:2199-2208.

Fontaine D, Parkhill W, Greer W, Walsh N. Partial regression of primary cutaneous melanoma: is there an association with sub-clinical sentinel lymph node metastasis? *Am J Dermatopathol* 2003; 25:371-376.

Francken AB, Accortt NA, Shaw HM, Colman MH, Wiener M, Soong SJ, Hoekstra HJ, Thompson JF. Follow up schedules after treatment for malignant melanoma. *Br J Surg* 2008; 95:1401-7.

Francken AB, Hoekstra HJ. Follow-Up of Melanoma Patients: The Need for Evidence-Based Protocols. *Ann Surg Oncol* 2009; 16:804-805.

Gajdos C, Griffith KA, Wong SL, Johnson TM, Chang AE, Cimmino VM, Lowe L, Bradford CR, Rees RS, Sabel MS. Is there a benefit to sentinel lymph node biopsy in patients with T4 melanoma? *Cancer* 2009; 115:5752-5760.

Gallagher RP, McLean DI, Yang P. Anatomic distribution of acquired melanocytic nevi in white children: a comparison with melanoma: The Vanvouver Mole Study. *Arch Dermatol* 1990;125:466-471.

Gannon CJ, Rousseau DL Jr, Ross MI, Johnson MM, Lee JE, Mansfield PF, Cormier JN, Prieto VG, Gershenwald JE. Accuracy of lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy after previous wide local excision in patients with primary melanoma. *Cancer* 2006; 107: 2647–2652.

Garbe C, Leiter U, Ellwanger U, Blaheta HJ, Meier F, Rassner G, Schittek B. Diagnostic value and prognostic significance of protein S-100, Melanoma inhibitory activity, and tyrosinase/Mart-1 reverse transcription polymerase Caín reaction in the follow up of high risk melanoma patients. *Cancer* 2003; 97:1737-1745.

Garbe C, Eigentler TK. Diagnosis and treatment of cutaneous melanoma: state of the art 2006. *Melanoma Res* 2007;17:117-127.

Garbe C, Schadendorf D, Stolz W, Volkenandt M, Reinhold U, Kortmann RD, Kettelhack C, Frerich B, Keilholz U, Dummer R, Sebastian G, Tilgen W, Schuler G, Mackensen A, Kaufmann R, Hauschild A. Short German guidelines: malignant melanoma. *J Dtsch Dermatol Ges* 2008; 6:S9-S14.

García Lora E. Expresión de antígenos HLA de Clase I y II en Melanomas Malignos Cutáneos. Tesis Doctoral Universidad de Granada. 1989.

Geller AC, Miller DR, Lew RA, Clapp RW, Wenneker MB, Koh HK. Mortality of cutaneous melanoma among lower socioeconomic status in Massachusetts. *Am J Public Health* 1996;86:538-544.

Geller AC, Annas GD. Epidemiology of melanoma and nonmelanoma skin cancer. *Oncol Nurs*. 2003;19:2-11.

Gennari R, Bartolomei M, Testori A, Zurrada S, Stoldt HS, Audisio RA, Geraghty JG, Paganelli G, Veronesi U. Sentinel node localization in primary melanoma: Preoperative dynamic lymphoscintigraphy, intraoperative gamma probe, and vital dye guidance. *Surgery* 2000; 127:19-25.

Gershenwald JE, Tseng CH, Thompson W, Mansfield PF, Lee JE, Bouvet M, Lee JJ, Ross MI. Improved sentinel lymph node localization in patients with primary melanoma with the use of radiolabeled colloid. *Surgery* 1998; 124:203-210.

Gershenwald JE, Thompson W, Mansfield PF, Lee JE, Colome MI, Tseng CH, Lee JJ, Balch CM, Reintgen DS, Ross MI. Multi-institutional melanoma lymphatic mapping experience: the prognostic value of sentinel lymph node status in 612 stage I or II melanoma patients. *J Clin Oncol* 1999; 17:976-983.

Gershenwald JE, Andtbacka RH, Prieto VG, Johnson MM, Diwan AH, Lee JE, Mansfield PF, Cormier JN, Schacherer CW, Ross MI. Microscopic tumor burden in sentinel lymph nodes predicts synchronous nonsentinel lymph node involvement in patients with melanoma. *J Clin Oncol* 2008;26:4296-4303.

Ghaferi AA, Wong SL, Johnson TM, Lowe L, Chang AE, Cimmino VM, Bradford CR, Rees RS, Sabel MS. Prognostic significance of a positive nonsentinel lymph node in cutaneous melanoma. *Ann Surg Oncol* 2009;16:2978-2984.

Globocan 2002. <http://www-dep.iarc.fr/>

Govindarajan A, Ghazarian DM, McCready DR, Leong WL. Histological features of melanoma sentinel lymph node metastases associated with status of the completion lymphadenectomy and rate of subsequent relapse. *Ann Surg Oncol*. 2007;14:906-912.

Golddenhersh MA, Savin RC, Barnhill RL, Stenn KS. Malignant blue nevus: case report and literature review. *J Am Acad Dermatol* 1988; 19:712-722.

Goldstein BG, Goldstein A. Diagnosis and Management of malignant melanoma. *Am Fam Physician* 2001; 63:1359-1368.

Gonzalez Barón M, Ordoñez Gallego A. Melanoma. Masson Ed. Madrid, 1998.

González-Larriba JL, Serrano S, Alvarez-Mon M, Camacho F, Casado MA, Díaz-Pérez JL, Díaz-Rubio E, Fosbrook L, Guillem V, López-López JJ, Moreno-Nogueira JA, Toribio J. Cost-effectiveness analysis of interferon as adjuvant therapy in high-risk melanoma patients in Spain. *Eur J Cancer*. 2000;36:2344-2352.

Gould EA, Winship T, Philbin PH, Kerr HH: Observations on a 'sentinel node' in cancer of the parotid. *Cancer* 1960; 13:77– 78.

Graus A, Masat L, Jonson JP. Análisis of the expresión of intercellular adhesion molecule 1 and MUC18 on benign and malignant melanocytic lesions using monoclonal antibodies directed against distinct epitopes and recognizing denatured, non glycosylated antigen. *Melanoma Res* 1997; 7:S75.

Greene F. "AJCC cancer staging manual". 6th ed. New York: Springer-Verlag, 2002.

Greene MH, Young TI. Malignant melanoma in renal trasplant recipients. *Lancet* 1981; 1:1196-1199.

Gutzmer R, Kaspari M, Brodersen JP, Mommert S, Völker B, Kapp A, Werfel T, Kiehl P.. Specificity of tyrosinase and HMB-45 PCR in the detection of melanoma metastases in sentinel lymph node biopsies. *Histopathology* 2002; 41:510-518.

Hafner J, Schmid MH, Kempf W, Burg G, Künzi W, Meuli-Simmen C, Neff P, Meyer V, Mihic D, Garzoli E, Jungius KP, Seifert B, Dummer R, Steinert H. Baseline staging in cutaneous malignant melanoma. *Br J Dermatol* 2004; 150:677-686.

Halsted WS. The results of operations for the cure of cancer of the breast performed at the Johns Hopkins Hospital from June 1889 to January 1894. *Johns Hopkins Hosp Bull* 1894; 4: 297-323.

Handley WS. The genesis of cancer. London: Paul, Trench, Trubner; 1931. p. 222. *Opus cit:* Coldiron BM, Dinehart S, Rogers HW. Sentinel lymph node biopsy and completion lymph node dissection for malignant melanoma are not standard of care. *Clinics in Dermatology*.2009; 27: 350-354

Harlow SP, Krag DN, Ashikaga T, Hoefnagel CA, Olmos RA, Kroon BB. Gamma probe guided biopsy of the sentinel node in malignant melanoma: a multicentre study. *Melanoma Res* 2001;11:45-55.

Haro V, Simón F, Rodenas JM, Ortega R, Serrano Ortega S. Disección ganglionar linfática regional en el tratamiento del melanoma maligno cutáneo. Experiencia de 7 años. *Actas Dermosifogr* 1993; 84: 169-172.

Hatta N, Morita R, Yamada M, Takehara K, Ichianagi K, Yokoyama K.. Implications of popliteal lymph node detected by sentinel lymph node biopsy. *Dermatol Surg* 2005; 31: 327-30.

Hayes IM, Thompson JF, Quinn MJ. Malignant melanoma of the toenail apparatus. *J Am Coll Surg* 1995;180:583-588.

Hazen BP, Bhatia AC, Zaim T, Brodell RT. The clinical diagnosis of early malignant melanoma expansion of the ABCD criteria to improve diagnosis sensivity. *Dermatol Online* 1999, 5:3.

Hearn RMR, Kerr AC, Rahim KF, Ferguson J, Dawe RS. Incidente of skin cancers in 3867 patients treated with narrow-band ultraviolet B phototherapy. *Br J Dermatol* 2008; 159:931-935.

Heidorn SJ, Milagre C, Whittaker S, Nourry A, Niculescu-Duvas I, Dhomen N, Hussain J, Reis-Filho JS, Springer CJ, Pritchard C, Marais R. Kinase-dead BRAF and oncogenic RAS cooperate to drive tumor progression through CRAF. *Cell* 2010; 140:209-221.

Hershko DD, Robb BW, Lowy AM, Ahmad SA, Ramadas GH, Soldano DA, Sussman JJ.. Sentinel lymph node biopsy in thin melnoama patients. *J Surg Oncol* 2006;93:279-85.

Hicks MJ, Flaitz CM. Oral mucosal melanoma: epidemiology and pathobiology. *Oral Oncol* 2000; 36:152-159.

Hieken TJ, Ronan SG, Farolan M, Shilkaitis AL, Das Gupta TK.. Molecular prognostic marker in intermediate thickness cutaneous malignant melanoma. *Cancer* 1999; 85:375.

Holly EA, Cress RD, Ahn DK. Cutaneous melanoma in women: Reproductive factors and oral contraceptive use. *Am J Epidemiol* 1995, 141:943-950.

Holly EA, Cress RD. Melanoma and pregnancy. In: Gallagher RP, Elwood JM. Epidemiological aspects of cutaneous malignant melanoma. Eds Kluwer. Boston 1994, pp.209-221.

Holzmann B, Bröcker EB, Lehmann JM, Rüter DJ, Sorg C, Riethmüller G, Johnson JP. Tumor progression in human malignant melanoma: five stages defined by their antigenic phenotypes. *Int J Cancer*. 1987;39:466-471

Houghton AN, Real FX, Davis LJ, Cordon-Cardo C, Old LJ. Phenotypic heterogeneity of melanoma: Relation to the differentiation program of melanoma cell. *J Exp Med*, 1987; 165:1986.

Houghton AN, Herlyn M, Ferrone S. Melanoma antigens. En: Balch CM, Houghton AN, Milton GW, Sober A, Soong S. Cutaneous melanoma. 2 Edición. Philadelphia Lippincott 1992; pp 130-143.

Itoh K, Houghton AN, Balch CM. Immune response to melanoma. En: Balch CM, Houghton AN, Milton GW, Sober A, Soong S. Cutaneous melanoma. 2 Edition. Philadelphia Lippincott 1992: pp 144-162.

Jacobs IA, Chang CK, DasGupta TK, Salti GI. Role of sentinel node biopsy in patients with thin primary melanoma. *Ann Surg Oncol* 2003; 10: 558-561.

Jakub JW, Huebner M, Shivers S, Nobo C, Puleo C, Harmsen WS, Reintgen DS. The number of lymph nodes involved with metastatic disease does not affect outcome in melanoma patients as long as all disease is confined to the sentinel lymph node. *Ann Surg Oncol* 2009; 16:2245-2251.

Jansen L, Niegew OE, Peterse JL, Hoefnagel CA, Olmos RA, Kroon BB. Reliability of sentinel lymph node biopsy for staging melanoma. *Br J Surg* 2000; 87: 484-489.

Johnson TM, Sondak VK, Bichakjian CK, Sabel MS. The role of sentinel lymph node biopsy for melanoma: Evidence assessment. *J Am Acad Dermatol* 2006;54:19-27.

Jost LM, Jelic S, Purkalne G; ESMO Guidelines Task Force. ESMO Minimum Clinical Recommendations for diagnosis, treatment and follow-up of cutaneous malignant melanoma. *Ann Oncol* 2005; 16:66-68.

Kageshita T, Hamby CV, Hirai S, Kimura T, Ono T, Ferrone S. Differential clinical significance of alpha (v) beta3 expression in primary lesions of acral lentiginous melanoma and other melanoma histotypes. *Int J Cancer* 2000; 89:153-159.

Kalady MF, White RR, Johnson JL, Tyler DS, Seigler HF. Thin melanomas: predictive lethal characteristics from a 30-year clinical experience. *Ann Surg* 2003; 238:528-535.

Kramkimela N, Maubecb E, Boitier F, Cavalcanti A, Beldid M, Mamellec G, Kolbc F, Duvillard P, Avril F. La régression tumorale n'est pas un facteur de risque d'atteinte du ganglion sentinelle dans les mélanomes fins (indice de Breslow  $\leq 1$  mm). *Ann Dermatol Venereol* 2010; 137:276-280.

Karakousis GC, Gimotty PA, Botbyl JD, Kesmodel SB, Elder DE, Elenitsas R, Ming ME, Guerry D, Fraker DL, Czerniecki BJ, Spitz FR. Predictors of regional nodal disease in patients with thin melanomas. *Ann Surg Oncol* 2006; 13:533-541.



Kärnell R, Kågedal B, Lindholm C, Nilsson B, Arstrand K, Ringborg U. The value of cysteinyl-dopa in the follow-up of disseminated malignant melanoma. *Melanoma Res.* 2000; 10:363-369.

Kaskel P, Kina P, Sander S, Peter RU, Krähn G. Trauma and melanoma formation: a true association?. *Br J Dermatol* 2000; 143:749-753.

Kaur C, Thomas RJ, Desai N, Green MA, Lovell D, Powell BW, Cook MG. The correlation of regression in primary melanoma with sentinel lymph node status. *J Clin Pathol* 2008; 61:297-300.

Kelly JW. Following lentigo maligna may not prevent the development of life-threatening melanoma. *Arch Dermatol* 1992;128: 657-660.

Kennedy C, Bajdik CD, Willemze R, De Grujil FR, Bouwes B. Leiden Skin Cancer Study. The influence of painful sunburns and lifetime sun exposure on the risk of actinic keratoses, seborrheic warts, melanocytic nevi, atypical nevi, and skin cancer. *J Invest Dermatol* 2003;120:1087-1093.

Kesmodel SB, Karakousis GC, Botbyl JD, Canter RJ, Lewis RT, Wahl PM, Terhune KP, Alavi A, Elder DE, Ming ME, Guerry D, Gimotty PA, Fraker DL, Czerniecki BJ, Spitz FR. Mitotic rate as a predictor of sentinel lymph node positivity in patients with thin melanomas. *Ann Surg Oncol* 2005;12:449-458.

Kett K, Varga G, Lukács L. Direct lymphography of the breast. *Lymphology* 1970; 1:3-12.

Khayat D, Rixe O, Martin G, Soubrane C, Banzet M, Bazex JA, Lauret P, Vérola O, Auclerc G, Harper P, Banzet P. Surgical margins in cutaneous melanoma (2 cm versus 5 cm for lesions measuring less than 2.1-mm thick): long-term results of a large European multicentric phase III study. *Cancer* 2003; 97:1941-1946.

Kimsey TF, Cohen T, Patel A, Busam KJ, Brady MS. Microscopic satellitosis in patients with primary cutaneous melanoma: implications for nodal basin staging. *Ann Surg Oncol.* 2009;16:1176-1183

Kirkwood JM, Strawderman MH, Ernstoff MS, Smith TJ, Borden EC, Blum RH. Interferon alpha-2b adjuvant therapy of high-risk resected cutaneous melanoma: The Eastern Cooperative Oncology Group Trial EST 1684. *J Clin Oncol* 1996; 14:7-17.

Kirkwood JM, Ibrahim JG, Sondak VK, Richards J, Flaherty LE, Ernstoff MS, Smith TJ, Rao U, Steele M, Blum RH. High and low dose of interferon alpha 2b in high risk melanoma: First analysis of intergroup trial E1690/S9111/C9190. *J Clin Oncol* 2000; 18:2444-2448.

Kirkwood JM, Ibrahim JG, Sosman JA, Sondak VK, Agarwala SS, Ernstoff MS, Rao U. High dose interferon alpha 2b significantly prolongs relapse free and overall survival compared with the GM2-KLH/QS-21 vaccine in patients with resected stage IIB-III melanoma: Results of Intergroup trial E1694/S9512/C509801. *J Clin Oncol* 2001; 19:2370-2380.

Kittler H, Seltenheim M, Dawid M, Pehamberger H, Wolff K, Binder M. Morphologic changes of pigmented skin lesions: A useful extension of the ABCD rule for dermatoscopy. *J Am Acad Dermatol* 1999;40:558-562.

Kovalyshyn I, Braun R, Marghoob A. Congenital melanocytic naevi. *Australas J Dermatol.* 2009;50:231-40.

Kruger SB, Raymond LB, Stenn KS, Roush GC. Nevomelanocytic proliferations in association with cutaneous malignant melanoma: a multivariate analysis. *J Am Acad Dermatol* 1989;21:773-778.

- Kruper LL, Spitz FR, Czerniecki BJ, Fraker DL, Blackwood-Chirchir A, Ming ME, Elder DE, Elenitsas R, Guerry D, Gimotty PA. Predicting sentinel node status in AJCC stage I/II primary cutaneous melanoma. *Cancer* 2006; 107:2436-2445.
- Kunte C, Geimer T, Baumert J, Konz B, Volkenandt M, Flaig M, Ruzicka T, Berking C, Schmid-Wendtner MH. Prognostic factors associated with sentinel lymph node positivity and effect of sentinel status on survival: an analysis of 1049 patients with cutaneous melanoma. *Melanoma Res.* 2010;20:330-337.
- Landi G, Polverelli M, Moscatelli G, Morelli R, Landi C, Fiscelli O, Erbazzi A. Sentinel lymph node biopsy in patients with primary cutaneous melanoma: study of 455 cases. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2000; 14:35-45.
- LeBoit PE, Burg G, Weedon D, Sarasin A. Pathology and Genetics of Skin Tumours. Cap. 2. pp48-120. IARC Press. Lyon, 2006.
- Lee JY, Kapadia SB, MUsgrave RH. Neurotopic malignant melanoma occurring in stable burn scar. *J Cutaneous Pathol* 1992;19:145-150.
- Lee JH, Essner R, Torisu-Itakura H, Wanek L, Wang H, Morton DL. Factors predictive of tumor-positive nonsentinel lymph nodes after tumor-positive sentinel lymph node dissection for melanoma. *J Clin Oncol* 2004; 22: 3677-84.
- Leiter U, Meier F, Schittek B, Garbe C. The natural course of Cutaneous melanoma. *J Surg Oncol* 2004; 86: 172-178.
- Lens MB, Rosdahl I, Newton-Bishop J. Cutaneous melanoma during pregnancy: is the controversy over?. *J Clin Oncol* 2009;27:11-12.
- Lens MB, Dawes M, Newton-Bishop JA, Goodacre T. Tumour thickness as a predictor of occult lymph node metastases in patients with stage I and II melanoma undergoing sentinel lymph node biopsy. *Br J Surg* 2002; 89:1223-1227.
- Leong SP, Accortt NA, Essner R, Ross M, Gershenwald JE, Pockaj B, Hoekstra HJ, Garberoglio C, White RL Jr, Chu D, Biel M, Charney K, Wanebo H, Avisar E, Vetto J, Soong SJ; Sentinel Lymph Node Working Group. Impact of sentinel node status and other risk factor on the clinical outcome of head and neck melanoma patients. *Arch Otolaryngol head neck surg* 2006; 132: 370-3.
- Li W, Stall A, Shivers SC, Lin J, Haddad F, Messina J, Glass LF, Lyman G, Reintgen DS. Clinical relevance of molecular staging for melanoma: comparison of R<sub>t</sub>-PCR and immunohistochemistry in sentinel lymph nodes of patients with melanoma. *Ann Surg* 2000; 231:795-803.
- Li N, Manzini J, Bhawan J. New prognosis factors of cutaneous melanoma: a review of the literatura. *J Cutan Pathol* 2002; 29:324-340.
- Longo MI, Lázaro P, Bueno C, Carreras JL, Montz R. Fluorodeoxyglucose positron emission tomography imaging versus sentinel node biopsy in the primary staging of melanoma patients. *Dermatol Surg* 2003; 29:245-248.
- Lopez Nevot MA, Garcia E, Pareja E., Bonal J, Martin J, Ruiz Cabello F, Serrano Ortega S, Garrido, F. Differential expression of HLA class I and II antigens in primary and metastatic melanomas. *J Immunogenetics* 1986;13: 219-227.
- Lowe JB, Hurst E, Moley JF, Cornelius LA. Sentinel lymph node biopsy in patients with thin melanoma. *Arch Dermatol* 2003; 139: 617-621.

Lowes MA, Bishop GA, Crotty K, Barnetson RS, Halliday GM. T Helper 1 Cytokine mRNA Is increased in spontaneously regressing primary melanomas. *J Invest Dermatol* 1997; 108: 914-919.

Mackie RM. Clinical recognition of early invasive malignant melanoma. *Br Med J* 1990; 301:1005-6.

Mandalà M, Imberti GL, Piazzalunga D, Belfiglio M, Labianca R, Barberis M, Marchesi L, Poletti P, Bonomi L, Novellino L, Di Biagio K, Milesi A, Guerra U, Tondini C. Clinical and histopathological risk factors to predict sentinel lymph node positivity, disease-free and overall survival in clinical stages I-II AJCC skin melanoma: outcome analysis from a single-institution prospectively collected database. *Eur J Cancer* 2009; 45:2537-2545.

Mangas C, Hilari JM, Paradelo C, Rex J, Fernández-Figueras MT, Fraile M, Alastrue A, Ferrándiz C. Prognostic significance of molecular staging study of sentinel lymph nodes by RTPCR for tyrosinase in melanoma patients. *Ann Surg Oncol*. 2006;13: 910-918.

Mangas C, Paradelo C, Rex J, Ferrándiz C. La biopsia del ganglio centinela: su papel diagnóstico y pronóstico en el melanoma maligno. *Actas Dermosifiliogr*. 2008;99:331-348

Markovic SN, Erickson LA, Rao RD, Weenig RH, Pockaj BA, Bardia A, Vachon CM, Schild SE, McWilliams RR, Hand JL, Laman SD, Kottschade LA, Maples WJ, Pittelkow MR, Pulido JS, Cameron JD, Creagan ET. Melanoma Study Group of the Mayo Clinic Cancer Center. Malignant melanoma in the 21st century, part 1: epidemiology, risk factors, screening, prevention, and diagnosis. *Mayo Clin Proc* 2007;82:364-380.

Marks R, Dorevitch AP, Mason G. Do all melanomas come from "moles"? A study of the histological association between melanocytic naevi and melanoma. *Australas J Dermatol* 1990;31:77-80.

Marks R: Epidemiology of melanoma. *Ann Epidemiol* 2000;3:192-197.

Martín Casáñez AE. Melanoma Maligno. Factores de pronóstico clínico. Tesis Doctoral Universidad de Granada. 1997.

Mayr B, Wilhelm B, Reifinger M, Brem G. Absence of p21 WAF1 and p27 kip1 gene mutations in various feline tumours. *Vet Res Commun* 2000; 24:115-124.

Maza S, Valencia R, Geworski L, Zander A, Guski H, Winzer KJ, Munz DL. Peritumoural versus subareolar administration of technetium-99m nanocolloid for sentinel lymph node detection in breast cancer: preliminary results of a prospective intra-individual comparative study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003; 30:651-656.

McCarthy JT. ABCDs of Melanoma. *Cutis* 1995; 56: 313.

McKenna DB, Lee RJ, Prescott RJ, Doherty VR. A retrospective observational study of primary cutaneous malignant melanoma patients treated with excision only compared with excision biopsy followed by wider local excision. *Br J Dermatol* 2004; 150:523-530.

McKinnon JG, Qin Yu X, McCarthy WH, Thompson JF. Prognosis for patients with thin cutaneous melanoma. *Cancer* 2003; 98:1223-1231.

McMaster KM, Edwards MJ, Ross M. Sentinel-Lymph-Node Biopsy. *New Eng J Med* 1999; 340:318-319.

McMasters KM, Sondak VK, Lotze MT, Ross MI. Recent advances in melanoma staging and therapy. *Ann Surg Oncol* 1999; 6:467-475.

McMasters KM, Wong SL, Edwards MJ, Ross MI, Chao C, Noyes RD, Viar V, Cerrito PB, Reintgen DS. Factors that predict the presence of sentinel lymph node metastasis in patients with melanoma. *Surgery* 2001;130:151-156.

McMasters KM, Wong SL, Edwards MJ, Chao C, Ross MI, Noyes RD, Viar V, Cerrito PB, Reintgen DS. Frequency of nonsentinel lymph node metastasis in melanoma. *Ann Surg Oncol* 2002; 9:137-141.

McMasters KM, Swetter SM. Current management of melanoma: Benefits of surgical stagint and adjuvant therapy. *J Surg Oncol* 2003; 82:209-216.

McMasters KM. Melanoma controversies: clinical significance of nodal micrometastases and the future of melanoma vaccines. *World J Surg* 2005; 29:681-682.

Medalie NS, Ackerman AB. Sentinel lymph node biopsy has no benefit for patients with primary cutaneous melanoma metastatic to a lymph node: an assertion based on comprehensive, critical analysis: part II. *Am J Dermatopathol* 2003; 25:473-484.

Medalie NS, Ackerman AB. Sentinel lymph node biopsy has no benefit for patients with primary cutaneous melanoma metastatic to a lymph node: an assertion based on comprehensive, critical analysis: part I. *Am J Dermatopathol* 2003; 25:399-417.

Medalie N, Ackerman AB. Sentinel node biopsy has no benefit for patients whose primary cutaneous melanoma has metastasized to a lymph node and therefore should be abandoned now. *Br J Dermatol* 2004;151:298-307.

Meier F, Will S, Ellwanger U, Schlagenhauff B, Schittek B, Rassner G, Garbe C. Metastatis pathway and time courses in the orderly progression of cutaneous melanoma. *Br J Dermatol* 2002; 147:62-70.

Meier A, Satzger I, Völker B, Kapp A, Gutzmer R. Comparison of classification systems in melanoma sentinel lymph nodes-An analysis of 697 patients from a single center.*Cancer* 2010; 116:3178-3188.

Menzies SW, Ingvar C, McCarthy WH. A sensitivity and specificity analysis of the surface microscopy features of invasive melanoma. *Melanoma Res*, 1996; 6:55-62.

Meriño R, Martínez E, Marcos M, Villafranca E, Domínguez MA, Illarramendi JJ, Arias F. Factores pronóstico en el melanoma maligno cutáneo. *ANALES Sis San Navarra* 2001; 24:167-172.

Metcalf JS, Maize JC. Clark's nevus. *Sem Cut Med Surg* 1999;18:43-46.

Meyers MO, Yeh JJ, Frank J, Long P, Deal AM, Amos KD, Ollila DW. Method of detection of initial recurrence of stage II/III cutaneous melanoma: analysis of the utility of follow-up staging. *Ann Surg Oncol*. 2009;16:941-947.

Miescher G, von Albertini A. Histologie de 100 cas de naevi pigmentaires d'après les methodes de Masson. *Bull Soc Fr Dermatol Syph*. 1935;42:1265-1273.

Mihm MC, Jr George PB. Probematic pigmented Lesions: A Case Method Approach. Philadelphia, Lea & Febiger, 1990;pp241-247.

Miller E, Barnea Y, Gur E, Leshem D, Karin E, Weiss J, Schneebaum S. Malignant melanoma and pregnancy: second thoughts. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2010;63:1163-1168.

Morris KT, Busam KJ, Bero S, Patel A, Brady MS. Primary cutaneous melanoma with regression does not require a lower threshold for sentinel lymph node biopsy. *Ann Surg Oncol* 2008; 15:316-322.

Morton DL, Wen DR, Cochran AJ: Pathophysiology of regional lymph node metastases in early melanoma studied by intraoperative mapping of the cutaneous lymphatics. Second International Conference on Melanoma. October 1989, Venice: 131.

Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FK, Foshag LJ, Cochran AJ. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992; 127:392-399.

Morton DL, Thompson JF, Essner R, Elashoff R, Stern SL, Nieweg OE, Roses DF, Karakousis CP, Mozzillo N, Reintgen D, Wang HJ, Glass EC, Cochran AJ. Validation of the accuracy of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma: a multicenter trial. Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial Group. *Ann Surg* 1999; 230:453-463

Morton DL, Hoon DS, Cochran AJ, Turner RR, Essner R, Takeuchi H, Wanek LA, Glass E, Foshag LJ, Hsueh EC, Bilchik AJ, Elashoff D, Elashoff R. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early stage melanoma: therapeutic utility and implications of nodal microanatomy and molecular staging for improving the accuracy of detection of nodal metastases. *Ann Surg* 2003; 238:538-549.

Morton DL, Cochran AJ. The case for lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy in the management of primary melanoma. *Br J Dermatol* 2004; 151:308-319.

Morton DL, Cochran AJ. The case for lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy in the management of primary melanoma. *Br J Dermatol*. 2004;151:308-319

Morton DL, Thompson JF, Cochran AJ, Mozzillo N, Elashoff R, Essner R, Nieweg OE, Roses DF, Hoekstra HJ, Karakousis CP, Reintgen DS, Coventry BJ, Glass EC, Wang HJ; MSLT Group. Immediate versus delayed lymphadenectomy in the management of primary melanoma. *N Engl J Med* 2006; 355:1307-1317.

Morton DL, Thompson JF, Cochran AJ, Mozzillo N, Elashoff R, Essner R, Nieweg OE, Roses DF, Hoekstra HJ, Karakousis CP, Reintgen DS, Coventry BJ, Glass EC, Wang HJ; MSLT Group. Sentinel-node biopsy or nodal observation in melanoma. *N Engl J Med* 2006; 355:1307-1317.

Morton DL, Cochran AJ, Thompson JF. Authors' response to a letter to the editor re: Sentinel node biopsy for early-stage melanoma. *Ann Surg* 2007; 245:828-829.

Morton RL, Craig JC, Thompson JF. The role of surveillance chest X-rays in the follow-up of high-risk melanoma patients. *Ann Surg Oncol* 2009; 16:571-577.

Morton D. Phase III randomized study of complete lymph node dissection versus observation in patients with localized cutaneous melanoma and sentinel node metastasis who have undergone sentinel lymphadenectomy. 2006. <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00389571?term¼MSLTpII%2Cpmelanoma&rank¼1>. Acceso en Enero, 2010.

Mraz-Gernhard S, Sagebiel RW, Kashani-Sabet M, Miller JR, Leong SP. Prediction of sentinel lymph node micrometastasis by histological features in primary cutaneous malignant melanoma. *Arch Dermatol* 1998; 134:983-987.

Murali R, Sharma RN, Thompson JF, Stretch JR, Lee CS, McCarthy SW, Scolyer RA. Sentinel lymph node biopsy in histologically ambiguous melanocytic tumors with spitzoid features (so-called atypical spitzoid tumors). *Ann Surg Oncol* 2008;15:302-309.

Nachbar F, Stolz W, Merkle T, Cognetta AB, Vogt T, Landthaler M, Bilek P, Braun-Falco O, Plewig G. The ABCD rule of dermatoscopy: High prospective value in the diagnosis of doubtful melanocytic skin lesions. *J Am Acad Dermatol* 1994;30:551-559.

Nahabedian MY, Tufaro AP, Manson PN. Sentinel lymph node biopsy for the T1 (thin) melanoma: is it necessary?. *Ann Plast Surg* 2003; 50: 601-606.

Nathanson SD. Insights into the mechanisms of lymph node metastasis. *Cancer* 2003; 98:413-423.

NCCN. Practice Guidelines in Oncology V.2. 2009. Melanoma. J National Comprehensive Cancer Network, 2009; 7. [www.nccn.org](http://www.nccn.org).

Nestle FO, Kerl H. Neoplasm of the skin: Melanoma. In: *Dermatology*. Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP. Ed. Mosby. 2003;pp 1789-1815.

Nguyen CL, McClay EF, Cole DJ, O'Brien PH, Gillanders WE, Metcalf JS, Maize JC, Baron PL. Melanoma thickness and histology predict sentinel lymph node status. *Am J Surg* 2001; 181:8-11.

Nieweg OE, Tanis PJ, Kroon BB. The definition of a sentinel node. *Ann Surg Oncol*. 2001; 8:538-541.

Nieweg OE, Tanis PJ, De Vries JDH, Kroon BBR. Sensitivity of sentinel node biopsy in melanoma. *J Surg Oncol* 2001; 78:223-224.

Nieweg OE. False-Negative Sentinel Node Biopsy. *Ann Surg Oncol* 2009;16:2089-2091.

NIH Consensus Conference. Diagnosis and treatment of early melanoma *JAMA* 1992;268:1314-1319.

Nowecki ZI, Rutkowski P, Nasierowska-Guttmejer A, Ruka W. Survival analysis and clinicopathological factors associated with false-negative sentinel lymph node biopsy findings in patients with cutaneous melanoma. *Ann Surg Oncol* 2006;13:1655-1663.

Ohsie SJ, Sarantopoulos GP, Cochran AJ, Binder SW. Immunohistochemical characteristics of melanoma. *J Cutan Pathol* 2008; 35:433-444.

Oláh J, Gyulai R, Korom I, Varga E, Dobozy A. Tumour regression predicts higher risk of sentinel node involvement in thin cutaneous melanoma. *Br J Dermatol* 2003; 149:662-663.

Orchard GE. Comparison of immunohistochemical labelling of melanocyte differentiation antibodies melan-A, tyrosinase and HMB45 with NKIC3 and S100 protein in the evaluation of benign naevi and malignant melanoma. *Histochem J* 2000; 32: 475.

Ordoñez NG, Xiaolong J, Hickey RC. Comparison of HMB-45 monoclonal antibody and S-100 protein in the immunohistochemical diagnosis of melanoma. *Am J Clin Pathol* 1988; 90: 385.

Osborne JE, Hutchinson PE. Clinical correlates of Breslow thickness of malignant melanoma. *Br J Dermatol* 2001; 144:476-483.

Ostmeier H, Fuchs B, Otto F, Mawick R, Lippold A, Krieg V, Suter L. Prognostic immunohistochemical marker of primary human melanomas. *Br J Dermatol* 2001; 145:203-209.

Otley CC. Sentinel lymph node biopsy for melanoma--standard of care? *Dermatol Surg*. 2000;26:1067-1069. Review.

Page AJ, Carlson GW, Delman KA, Murray D, Hestley A, Cohen C. Prediction of nonsentinel lymph node involvement in patients with a positive sentinel lymph node in malignant melanoma. *Am Surg* 2007; 73:674-678.

Paláu-Lázaro MC, Buendía-Eisman A, Serrano-Ortega S. Prevalencia de nevus congénitos en 1.000 recién nacidos vivos en la ciudad de Granada. *Actas Dermosifiliogr* 2008;99:81.

Palmieri G, Strazzullo M, Ascierto PA, Satriano SM, Daponte A, Castello G.. Polymerase Chain reaction-based detection of circulating melanoma cells as an effective marker of tumor progresión. *J Clin Oncol* 1999; 17:304-311.

Palmieri G, Ascierto PA, Perrone F, Satriano SM, Ottaiano A, Daponte A, Napolitano M, Caracò C, Mozzillo N, Melucci MT, Cossu A, Tanda F, Gallo C, Satriano RA, Castello G. Prognostic value of circulating melanoma cells detected by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Clin Oncol* 2003; 21:767-773.

Paradela S, Fernández-Torres R, Fonseca E. Controversias en el nevus congénito. *Actas. Dermosifiliogr* 2009; 100:548-561.

Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Teppo L, Thomas BD (eds). *Cancer incidence in Five Continents. Vol VIII. IARCH Scientific Pub. N° 155. Lyon. IARC, 2002.*

Pearlman NW, McCarter MD, Frank M, Hurtubis C, Merkow RP, Franklin WA, Gonzalez R, Lewis K, Roaten JB, Robinson WA. Size of sentinel node metastases predicts other nodal disease and survival in malignant melanoma. *Am J Surg* 2006;192:878-81.

Peric B, Zgajnar J, Besic N, Hocevar M. Changing biology of cutaneous melanoma. *Melanoma Res* 2008; 18:225-229.

Perrott RE, Glass LF, Reintgen DS, Fenske NA. Reassessing the role of lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy in the management of cutaneous melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2003; 49:567-588.

Phan A, Touzet S, Dalle S, Ronger-Savlé S, Balme B, Thomas L. Acral lentiginous melanoma: histopathological prognostic features of 121 cases. *Br J Dermatol* 2007; 157: 311-8.

Phan GQ, Messina JL, Sondak VK, Zager JS. Sentinel lymph node biopsy for melanoma: Indications and rationale. *Cancer Control*, 2009; 16:234-239.

Piepkorn M. Melanoma genetics: An update with focus on the CDKN2A(p16)/ARF tumor suppressors. *J Am Acad Dermatol* 2000; 42: 705-722.

Pierard GE, Pierard-Franchimont C, Arrese Estrada J. Cyanoacrylate skin surface stripping: an improved approach for distinguishing dysplastic nevi from malignant melanomas. *J Cutan Pathol* 1989; 16: 180-182.

Piérard-Franchimont C, Letawe C, Nikkels AF, Piérard GE. Patterns of the immunohistochemical expression of melanoma-associated antigens and density of CD45R0+ activated T lymphocytes and L1-protein positive macrophages in primary cutaneous melanomas. *Int J Mol Med* 1998;2:721-724.

Porras BH, Cockerell CJ. Cutaneous Malignant Melanomas: Clasification and Clinical Diagnosis. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery* 1997;16:88-96.

Proebstle TM, Jiang W, Högel J, Keilholz U, Weber L, Voit C. Correlation of positive RT-PCR for tyrosinase in peripheral blood of malignant melanoma patients with clinical stage, survival and other risk factors. *Br J Dermatol* 2000; 82:118.

Pu LL, Wells KE, Cruse CW, Shons AR, Reintgen DS.. Prevalence of additional positive lymph nodes in complete lymphadenectomy specimens after positive sentinel lymphadenectomy findings for early stage melanoma of the head and neck. *Plast Reconstr Surg* 2003;112:43-49.

Ranieri JM, Wagner JD, Wenck S, Johnson CS, Coleman JJ 3rd. The prognostic importance of sentinel lymph node biopsy in thin melanoma. *Ann Surg Oncol* 2006; 13: 927-932.

Redondo P, Sánchez Carpintero I, Bauzá A, Idoate M, Solano T, Mihm M. Immunologic escape and angiogenesis in human malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2003;49:255-263.

Reeves ME, Delgado R, Busam KJ, Brady MS, Coit DG. Prediction of nonsentinel lymph node status in melanoma. *Ann Surg Oncol* 2003; 10:27-31.

Reintgen D, Cruse CW, Wells K, Berman C, Fenske N, Glass F, Schroer K, Heller R, Ross M, Lyman G; Cox Ch, Rappaport D, Seigler HF, Balch Ch. The orderly progression of melanoma nodal metastases. *Ann Surg* 1994, 220:759-767.

Reintgen DS, Cruse CW, Glass F, Fenske N. In support of sentinel node biopsy as a standard of care for patients with malignant melanoma. *Dermatol Surg*. 2000;26:1070-1072

Requena C, Botella-Estrada R, Travesb V, Nagore E, Almenarb S, Guillén C. Regresión en el melanoma: problemas en su definición e implicación pronóstica. *Actas Dermosifiliogr* 2009; 100:759-766.

Rhodes AR, Melski JW. Small congenital nevocellular nevi and the risk of cutaneous melanoma. *J Pediatr* 1982; 100:219-224.

Rhodes AR, Weinstock MA, Fitzpatrick TB. Risk factors for cutaneous melanoma: A practical method of recognizing predisposed individuals. *JAMA* 1987;258: 3146-3154.

Ries LA, Wingo PA, Miller DS, Howe HL, Weir HK, Rosenberg HM, Vernon SW, Cronin K, Edwards BK. The annual report to the nation on the status of cancer. *Cancer* 2000;88:2398-2424.

Rimoldi D, Lemoine R, Kurt AM, Salvi S, Berset M, Matter M, Roche B, Cerottini JP, Guggisberg D, Krischer J, Braun R, Willi JP, Antonescu C, Slosman D, Lejeune FJ, Liénard D; Groupe Mélanome Lémanique. Detection of micrometastases in sentinel lymph nodes from melanoma patients: direct comparison of multimarker molecular and immunopathological methods. *Melanoma Res* 2003; 13:511-520.

Roberts DL, Anstey AV, Barlow RJ, Cox NH, Newton Bishop JA, Corrie PG, Evans J, Gore ME, Hall PN, Kirkham N; British Association of Dermatologists; Melanoma Study Group. U.K. Guidelines for the management of cutaneous melanoma. *Br J Dermatol* 2002; 146:7-17.

Roberts AA, Cochran AJ. Pathologic analysis of sentinel lymph nodes in melanoma patients: current and future trends. *J Surg Oncol* 2004; 85:152-161.

Ródenas JM, Delgado M, Herranz MT, Serrano S. Sun exposure, pigmentary traits and risk of cutaneous malignant melanoma: a case-control study in a Mediterranean population. *Cancer Causes Control* 1996; 7:275-83.



- Rodenas JM, Delgado M, Fariñas C, Herranz MT, Serrano S. Melanocytic nevi and risk of cutaneous malignant melanoma in southern Spain. *Am J Epidemiol*, 1997; 145:1020-1029.
- Roka F, Mastan P, Binder M, Okamoto I, Mittlboeck M, Horvat R, Pehamberger H, Diem E.. Prediction of non sentinel node status and outcome in sentinel node-positive melanoma patients. *Eur J Surg Oncol*. 2008;34:82-88.
- Rossi CR, Mocellin S, Scagnet B, Foletto M, Vecchiato A, Pilati P, Tregnaghi A, Zavagno G, Stramare R, Rubaltelli L, Montesco C, Borsato S, Rubello D, Lise M. The role of preoperative ultrasound scan in detecting lymph node metastasis before sentinel node biopsy in melanoma patients. *J Surg Oncol* 2003; 83:80-84.
- Rousseau DL Jr, Ross MI, Johnson MM, Prieto VG, Lee JE, Mansfield PF, Gershenwald JE. Revised American Joint Committee on Cancer staging criteria accurately predict sentinel lymph node positivity in clinically node-negative melanoma patients. *Ann Surg Oncol* 2003; 10:569-5674.
- Ruiz Maldonado R, Orozco Covarrubias ML. Abordaje y tratamiento de los nevos melanocíticos. *Arch Dermatol (Ed.Esp)* 1999;10:140-148.
- Ruiz Villaverde R. Factores pronóstico en melanoma de extremidades. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. 2003.
- Rutkowski P, Nowecki ZI, Nasierowska-Guttmejer A, Ruka W. Lymph node status and survival in cutaneous malignant melanoma. Sentinel lymph node biopsy impact. *Eur J Surg Oncol* 2003; 29:611-618.
- Sabel MS, Griffith K, Sondak VK, Lowe L, Schwartz JL, Cimmino VM, Chang AE, Rees RS, Bradford CR, Johnson TM. Predictors of nonsentinel lymph node positivity in patients with a positive sentinel node for melanoma. *J Am Coll Surg* 2005; 201:37-47.
- Sabel MS, Griffith KA, Arora A, Shargorodsky J, Blazer DG 3rd, Rees R, Wong SL, Cimmino VM, Chang AE. Inguinal node dissection for melanoma in the era of sentinel lymph node biopsy. *Surgery* 2007; 141:728-35.
- Saenz S, Conejo-Mir J, Cayuela A. Epidemiología del melanoma en España. *Actas Dermosifiliogr* 2005;96:411-8.
- Saez Castresana J. Bases genéticas y moleculares. En: Gonzalez-Baron M, Ordoñez-Gallego A. *Melanoma*. Barcelona. Masson SA, 1998, pp 43-57.
- Sagebiel RW. Melanocytic nevi in histologic association with primary cutaneous melanoma of superficial and nodular types: effect of tumor thickness. *J Invest Dermatol* 1993;100:322S-325S.
- Salti GI, Manougian T, Farolan M, Shilkaitis A, Majumdar D, Das Gupta TK. Microphthalmia transcription factor: a new prognostic marker in intermediate thickness cutaneous malignant melanoma. *Cancer Res* 2000; 60:5012-5016.
- Salti GI, Das Gupta TK. Predicting residual lymph node basin disease in melanoma patients with sentinel lymph node metastases. *Am J Surg*. 2003;186:98-101
- Sanchez-Conejo Mir J, Serrano Gotarredona A. Epidemiología, En: *Melanomas. Monografías. Aula Médica*. 2003: p. 9-13.

Satzger I, Völker B, Meier A, Schenck F, Kapp A, Gutzmer R. Prognostic significance of isolated HMB45 or Melan A positive cells in Melanoma sentinel lymph nodes. *Am J Surg Pathol* 2007; 31:1175-1180.

Satzger I, Völker B, Meier A, Kapp K, Gutzmer R. Criteria in Sentinel Lymph Nodes of Melanoma Patients that Predict Involvement of Nonsentinel Lymph Nodes. *Annals of Surgical Oncology* 2008; 15:1723-1732.

Schaffer JV, Rigel DS, Kopf AW, Bologna JL. Cutaneous melanoma. Past, present and future. *J Am Acad Dermatol* 2004;51:S65-69.

Scheri RP, Essner R, Turner RR, Ye X, Morton DL. Isolated tumor cells in the sentinel node affect long-term prognosis of patients with melanoma. *Ann Surg Oncol* 2007; 14:2861-6.

Schmid-Wendtner MH, Partscht K, Korting HC, Volkenandt M. Improved differentiation of benign and malignant lymphadenopathy in patients with cutaneous melanoma by contrast enhanced color doppler sonography. *Arch Dermatol* 2002; 138:491-497.

Schwartz JL, Mozurkewich EL, Johnson TM. Current management of patients with melanoma who are pregnant, want to get pregnant, or do not want to get pregnant. *Cancer* 2003;97:2130-2133.

Sera T, Mohos G, Papos M, Osvay M, Varga J, Lazar M, Kiss E, Kapitany K, Dobozy A, Csernay L, Pavics L. Sentinel node detection in malignant melanoma patients: radiation safety considerations. *Dermatol Surg* 2003; 29:141-145.

Serrano Falcón M<sup>a</sup>M. Melanoma de cabeza y cuello. Tesis Doctoral. Granada, 2001.

Serrano Ortega S, Ortega del Olmo R, Linares J. Malignant Blue Nevus. *Skin Cancer* 1986;4:309-313.

Serrano-Ortega S, Dulanto-Campos E, Dulanto-Campos C, Ortega R. The prognostic value of thermography in stage I cutaneous malignant melanoma. *Skin Cancer* 1987; 2: 287-289.

Serrano S, Ortega R, Trujillo J. Utilidad de la epiluminiscencia en el diagnóstico diferencial entre melanomas malignos y nevus pigmentocelulares. *Actas Dermosif* 1989; 80: 866-868.

Serrano Ortega S, Buendia Eisman A. Actitud frente a los nevus displásicos. *Piel* 1992;7:113-114.

Serrano Ortega S, Carrasco Sánchez S, Abad Romero-Balmas J. Tratamiento quirúrgico del Melanoma. Ganglio centinela. *Monogr Dermatol* 2001; 14:95-104.

Serrano Ortega S, Sánchez Hurtado G. Bronceado. En: Serrano Ortega S, Soto Delas J Moreno Gimenez JC. *Dermatología Cosmética*. Aula Medica. Madrid, 2002, PP 199-209.

Serrano-Ortega S, Ruiz-Villaverde R, Blasco-Melguizo J, Linares Solano J. Cutaneous melanoma extirpated with insufficient surgical margins. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2003;17:296-298.

Serrano Ortega S, Fernández Pugnaire MA, Serrano Falcón C. Guía de Dermoscopia. Aula Médica. Madrid, 2006.

Serrano Ortega S, Fernández Pugnaire M<sup>a</sup>A, Serrano Falcón C. Nevus y melanomas. *En*. Mascaró JM. *Pautas de Diagnóstico y terapéutica en Dermatología*. Cap. 20. Ed. Mayo, Barcelona, 2008.

Shields JD, Borsetti M, Rigby H, Harper SJ, Mortimer PS, Levick JR, Orlando A, Bates DO. Lymphatic density and metastatic spread in human malignant melanoma. *Br J Cancer* 2004; 90: 693-700.

Shikuma K, Omasa M, Yutaka Y, Okuda M, Taki T. Treatment of primary melanoma of the lung monitored by 5-S-cysteinyldopa levels. *Ann Thorac Surg* 2009; 87:1264-1266.

Silye R, Karayiannakis AJ, Syrigos KN, Poole S, van Noorden S, Batchelor W, Regele H, Segal W, Boesmueller H, Krausz T, Pignatelli M. E-cadherin/catenin complex in benign and malignant melanocytic lesions. *J Pathol* 1998; 186:350.

Sim FH, Taylor WF, Pritchard DJ, Soule EH. Lymphadenectomy in the management of stage I malignant melanoma: a prospective randomized study. *Mayo Clin Proc* 1986; 61:697-705.

Skelton HG, Smith KJ, Laskin WB, McCarthy WF, Gagnier JM, Graham JH, Lupton GP. Desmoplastic malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1995; 32:717-725.

Smith KJ, Germain M, Skelton H. Perspectives in dermatopathology, telomeres and telomerase in ageing and cancer; with emphasis on cutaneous disease. *J Cutan Pathol* 2000; 27:2-18.

Snow H. Melanotic cancerous disease. *Lancet* 1892;ii:872-4. *Opus cit.* Coldiron BM, Dinehart S, Rogers HW. Sentinel lymph node biopsy and completion lymph node dissection for malignant melanoma are not standard of care. *Clinics in Dermatology*. 2009; 27: 350–354.

Sober A, Chuang T, Duvic M, Farmer E, Grichnik J, Halpern A, Ho V, Holloway V, Hood A, Johnson T, Lowery B. Guidelines of care for primary cutaneous melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2001; 45:579-586.

Sondak VK, Taylor JM, Sabel MS, Wang Y, Lowe L, Grover AC, Chang AE, Yahanda AM, Moon J, Johnson TM. Mitotic rate and younger age are predictors of sentinel lymph node positivity: lessons learned from the generation of a probabilistic model. *Ann Surg Oncol* 2004; 11:247-258.

Spats A, Ruiter D, Hardmeier T. Melanoma in childhood: An EORTC-MCG multicenter study on the clinico - pathological aspects. In *J Cancer* 1996; 68: 317-324.

Spillane AJ, Winstanley J, Thompson JF. Lymph node ratio in melanoma: A marker of variation in surgical quality? *Cancer*. 2009;115:2384-2387.

Spitz, S. Melanomas of childhood. *Am J Pathol* 1948; 24: 591-609.

Stam-Posthuma JJ, van Duinen C, Scheffer E, Vink J, Bergman W. Multiple primary melanomas. *J Am Acad Dermatol* 2001;44:22-27.

Starz H, Haas CJ, Schulz GM, Balda BR. Tyrosinase RT-PCR as a supplement to histology for detecting melanoma and nevus cells in paraffin sections of sentinel lymph nodes. *Mod Pathol* 2003; 16:920–9.

Starz H, Siedlecki K, Balda BR. Sentinel lymph node dissection and s-classification: a successful strategy for better prediction and improvement of outcome of melanoma. *Ann Surg Oncol* 2004; 11:162S–8S.

Stenius Muller MG, van Leeuwen PA, de Lange-De Klerk ES, van Diest PJ, Pijpers R, Ferwerda CC, Vuylsteke RJ, Meijer S. The sentinel lymph node status is an important factor for predicting clinical outcome in patients with stage I or II cutaneous melanoma. *Cancer* 2001;91:2401-2408.

Stebbins WG, Garibyan L, Sober AJ. Sentinel lymph node biopsy and melanoma: 2010 update. Part II. *J Am Acad* 2010; 62:737-48.

Stephen K, Richardson MD, Zeina S, Tannous MD, et al. Congenital and infantile melanoma: Review of the literature and report of an uncommon variant, pigment-synthesizing melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2002; 47:77-90.

Stern RS; PUVA Follow up Study. The risk of melanoma in association with long-term exposure to PUVA. *J Am Acad Dermatol*. 2001;44:755-61.

Stitzenberg KB, Groben PA, Stern SL, Thomas NE, Hensing TA, Sansbury LB, Ollila DW.. Indications for lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy in patients with thin melanoma. *Ann Surg Oncol* 2004;11:900-906.

Stolz W, Riemann A, Cognetta AB, Pillet L, Abmayr W. ABCD rule of dermatoscopy: a new practical method for early recognition of malignant melanoma. *Eur J Dermatol* 1994; 4:521-527.

Straume O, Sviland L, Akslen LA. Loss of nuclear p16 protein expression correlates with increased tumor cell proliferation (Ki 67) and poor prognosis in patients with vertical growth phase melanoma. *Clin Cancer Res* 2000; 6:1845-1853.

Taylor RC, Patel A, Panageas KS, Busam KJ, Brady MS. Tumor-infiltrating lymphocytes predict sentinel lymph node positivity in patients with cutaneous. Melanoma *J Clin Oncol* 2007; 25:869–875.

Tejera-Vaquerizo A, Barrera-Vigo MV, Fernández-Canedo I, Blázquez-Sánchez N, Mendiola-Fernández M, Fernández-Orland A, Bosch-García R, Troya-Martín M, Herrera-Ceballos E. Estudio temporal de los diferentes patrones metastásicos en la progresión del melanoma cutáneo. *Actas Dermosifiliogr* 2007; 98:531-538.

Testori A, De Salvo GL, Montesco MC, Trifirò G, Mocellin S, Landi G, Macripò G, Carcoforo P, Ricotti G, Giudice G, Picciotto F, Donner D, Di Filippo F, Soteldo J, Casara D, Schiavon M, Vecchiato A, Pasquali S, Baldini F, Mazzarol G, Rossi CR; Italian Melanoma Intergroup Ann Surg Oncol. Clinical considerations on sentinel node biopsy in melanoma from an Italian multicentric study on 1,313 patients (SOLISM-IMI). *Ann Surg Oncol* 2009; 16:2018-2027.

Thomas L, Tranchand P, Berard F, Secchi T, Colin C, Moulin G. Semiological value of ABCDE criteria in the diagnosis of cutaneous pigmented tumours. *Dermatology* 1998;197:11-17.

Thomas JM, Newton-Bishop J, A'Hern R, Coombes G, Timmons M, Evans J, Cook M, Theaker J, Fallowfield M, O'Neill T, Ruka W, Bliss JM. Excision margins in high-risk malignant melanoma. *N Engl J Med* 2004; 350:757–766.

Thomas JM, Giblin AV. Dermatologists should exert a greater influence over sentinel lymph node biopsy for melanoma in the U.K. *Br J Dermatol* 2005; 152:176-177.

Thompson JF, Shaw HM, Hersey P, Scoyler R. The history and future of melanoma staging. *J Surg Oncol* 2004; 86: 224-235.

Thompson JF, Shaw HM. Should tumor mitotic rate and patient age, as well as tumor thickness, be used to select melanoma patients for sentinel node biopsy?. *Ann Surg Oncol* 2004; 11:233-235.

Thompson JF, Scolyer RA, Kefford RF. Cutaneous melanoma in the era of molecular profiling. *Lancet* 2009;374:362-365.

Tomas Mallebrera L, Rojo España R, Marquina Vila M, Gimeno Clemente N, Morales Suarez Varelab MM. La técnica del ganglio centinela en pacientes con melanoma. *Actas Dermosifiliogr* 2010; 101:428–436.

Travers RL, Sober AJ, Berwick M. Increased thickness of pregnancy-associated melanoma. *Br J Dermatol* 1995; 132:876-883.

Tronnier M, Smolle J, Wolff HH. Ultraviolet irradiation induces acute changes in melanocytic nevi. *J Invest Dermatol*, 1995;104:475-478.

Tronnier M, Rudolph P, Koser T, Raasch B, Brinckmann J. One single erythemagenic UV irradiation is more effective in increasing the proliferative activity of melanocytes in melanocytic naevi compared with fractionally applied high doses. *Br J Dermatol* 1997;137:534-539.

Tsao H, Bevona C, Goggins W, Quinn T. The transformation rate of Moles into cutaneous melanoma. *Arch Dermatol* 2003;139:282-298.

Tucker MA, Crutcher WA, Hartage P, Sagebiel RW. Familial and cutaneous features of dysplastic nevi: a case control study. *J Am Acad Dermatol*, 1993;28:558-564.

van Akkooi AC, de Wilt JH, Verhoef C, Graveland WJ, van Geel AN, Kliffen M, Eggermont AM. High positive sentinel node identification rate by EORTC melanoma group protocol. Prognostic indicators of metastatic patterns after sentinel node biopsy in melanoma. *Eur J Cancer* 2006; 42:372–380.

van Akkooi AC, de Wilt JH, Verhoef C, Schmitz PI, van Geel AN, Eggermont AM, Kliffen M. Clinical relevance of melanoma micrometastases (<0.1 mm) in sentinel nodes: are these nodes to be considered negative?. *Ann Oncol* 2006; 17:1578-1585.

van Akkooi AC, Nowecki ZI, Voit C, Schäfer-Hesterberg G, Michej W, de Wilt JH, Rutkowski P, Verhoef C, Eggermont AM. Sentinel Node Tumor Burden According to the Rotterdam Criteria Is the Most Important Prognostic Factor for Survival in Melanoma Patients A Multicenter Study in 388 Patients With Positive Sentinel Nodes. *Ann Surg* 2008; 248:949-955.

van Akkooi AC, Spatz A, Eggermont AM, Mihm M, Cook MG. Expert opinion in melanoma: the sentinel node; EORTC Melanoma Group recommendations on practical methodology of the measurement of the microanatomic location of metastases and metastatic tumour burden. *Eur J Cancer* 2009; 45:2736-2742.

van Elsas A, Zerp SF, van der Flier S, Krüse KM, Aarnoudse C, Hayward NK, Ruiters DJ, Schrier PI. Relevance of ultraviolet-induced N-ras oncogene point mutations in development of primary human cutaneous melanoma. *Am J Pathol* 1996; 149:883-93.

Veronesi U, Adamus J, Bandiera DC, Brennhovd IO, Caceres E, Cascinelli N, Claudio F, Ikonopisov RL, Javorskij VV, Kirov S, Kulakowski A, Lacoub J, Lejeune F, Mechl Z, Morabito A, Rodé I, Sergeev S, van Slooten E, Szczygiel K, Trapeznikov NN. Inefficacy of immediate node dissection in stage 1 melanoma of the limbs. *N Engl J Med* 1977; 297:627-630.

Veronesi U, Cascinelli N. Narrow excision (1-cm margin): a safe procedure for thin cutaneous melanoma. *Arch Surg* 1991;126:438–441.

Vidal-Sicart S, Pons F, Puig S, Ortega M, Vilalta A, Martín F, Rull R, Palou JM, Castel T. Identification of the sentinel lymph node in patients with malignant melanoma: what are the reasons for mistakes? *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003;30:362-366.

Voza A, Borriello A, Criniti V, Voza G, Della Ragione F. New established melanoma cell lines: genetic and biochemical characterization of cell division cycle. *JEADV* 2003; 17:37-41.

Vuylsteke RJ, van Leeuwen PA, Stuijver ML, Gietema HA, Kragt DR, Meijer S. Clinical outcome of stage I/II melanoma patients after selective sentinel lymph node dissection: long-term followup results. *J Clin Oncol* 2003; 21:1057–65.

- Vuylsteke RJ, Borgstein PJ, van Leeuwen PA, Gietema HA, Molenkamp BG, Stadius Muller MG, van Diest PJ, van der Sijp JR, Meijer S. Sentinel lymph node tumor load: an independent predictor of additional lymph node involvement and survival in melanoma. *Ann Surg Oncol* 2005; 12:440–8.
- Wachsmuth RC, Gaut RM, Barrett JH, Saunders CL, Randerson-Moor JA, Eldridge A, Martin NG, Bishop TD, Newton Bishop JA. Heritability and gene-environment interactions for melanocytic nevus density examined in UK adolescent twin study. *J invest Dermatol* 2001;117:348-352.
- Wagner JD, Gordon MS, Chuang TY, Coleman JJ 3rd, Hayes JT, Jung SH, Love C.. Predicting sentinel and residual lymph node basin disease after sentinel lymph node biopsy for melanoma. *Cancer* 2000; 89: 453-62.
- Wagner JD, Ranieri J, Evdokimow DZ, Logan T, Chuang TY, Johnson CS, Jung SH, Wenck S, Coleman JJ. Patterns of initial recurrence and prognosis after sentinel lymph node biopsy and selective lymphadenectomy for melanoma. *Plast Reconstr Surg* 2003; 112:486-497.
- Wakamatsu K, Takasaki A, Kagedal B, Kageshita T, Ito S. Determination of eumelanin in human urine. *Pigment Cell Res* 2006; 19:163-169.
- Walsh P, Gibbs P, Gonzalez R. Newer strategies for effective evaluation of primary melanoma and treatment of stage III and IV disease. *J Am Acad Dermatol* 2000;42:480-489.
- Wang S, Setlow R, Berwick M, Polsky D, Marghoob AA, Kopf AW, Bart RS. Ultraviolet A and Melanoma: A review. *J Am Acad Dermatol* 2001;44:837-846.
- Warycha MA, Zakrzewski J, Ni Q, Shapiro RL, Berman RS, Pavlick AC, Polsky D, Mazumdar M, Osman I. Meta-analysis of sentinel lymph node positivity in thin melanoma (<or=1 mm). *Cancer* 2009; 115:869-879.
- Weedon. Factores pronósticos en el melanoma. En: *Patología. Piel*. Weedon D, Strutton G, Ed Marban 2002.
- Weinlich G, Bitterlich W, Mayr V, Fritsch PO, Zelger B. Metallothionein-overexpression as a prognosis factor for progression and survival in melanoma. A prospective study on 520 patients. *Br J Dermatol* 2003; 149:535-541.
- Weinstock MA, Colditz GA, Willett WC. Moles and site-specific risk of nonfamilial cutaneous malignant melanoma in women. *J Nat Cancer Inst* 1989;81:948-952.
- Weiss M, Kunte C, Schmid RA, Konz B, Dresel S, Hahn K. Sentinel node mapping in patients with malignant melanoma using melanoma Tc99m colloidal rhenium sulfide. *Clin Nucl Med* 2003; 28:379-384.
- Weissbach L, Boedefeld EA. Localization of solitary and multiple metastases in stage II nonseminomatous testis tumor as basis for a modified staging lymph node dissection in stage I. *J Urol* 1987; 138:77–82.
- Westerdhal J, Ingvar C, Masback A, Jonson N, Olsson H. Risk of cutaneous melanoma in relation to use of sunbeds: further evidence for UV-A carcinogenicity. *Br J Cancer*. 2000;82:1593-1599.
- Westermarck B, Johnson A, Paulsson Y, Betsholtz C, Heldin CH, Herlyn M. Human melanoma cell lines of primary and metastatic origin express the genes encoding the chains of platelet-derived growth factor (PDGF) and produce a PDGF-like growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:7197-7185.

Wiener M, Acland KM, Shaw HM, Soong SJ, Lin HY, Chen DT, Scolyer RA, Winstanley JB, Thompson JF. Sentinel node positive melanoma patients: prediction and prognostic significance of nonsentinel node metastases and development of a survival tree model. *Ann Surg Oncol* 2010;17:1995-2005.

Wright BE, Scheri RP, Ye X, Faries MB, Turner RR, Essner R, Morton DL. Importance of sentinel lymph node biopsy in patients with thin melanoma. *Arch Surg* 2008; 143:892-899.

Wong SL, Brady MS, Busam KJ, Coit DG. Results of sentinel lymph node biopsy in patients with thin melanoma. *Ann Surg Oncol* 2006; 13: 302-9.

Wong SL, Kattan MW, McMasters KM, Coit DG. A nomogram that predicts the presence of sentinel node metastasis in melanoma with better discrimination than the American Joint Committee on Cancer staging system. *Ann Surg Oncol* 2005; 12:282-288.

Xing Y, Badgwell BD, Ross MI, Gershenwald JE, Lee JE, Mansfield PF, Lucci A, Cormier JN. Lymph node ratio predicts disease specific survival in melanoma patients. *Cancer* 2009; 115:2505-13.

Yee VS, Thompson JF, McKinnon JG, Scolyer RA, Li LX, McCarthy WH, O'Brien CJ, Quinn MJ, Saw RP, Shannon KF, Stretch JR, Uren RF.. Outcome in 846 cutaneous melanoma patients from a single center after a negative sentinel node biopsy. *Ann Surg Oncol* 2005;12:429-439.

Zapas JL, Coley HC, Beam SL, Brown SD, Jablonski KA, Elias EG. The risk of regional lymph node metastases in patients with melanoma less than 1.0 mm thick: recommendations for sentinel lymph node biopsy. *J Am Coll Surg* 2003; 197:403-407.

Zubovits J, Buzney E, Yu L, Duncan LM. HMB-45, S-100, NK1/C3, and MART-1 in metastatic melanoma. *Hum Pathol* 2004; 35: 217.