

## **V. DISCUSION**

La discusión de los resultados obtenidos en el análisis de la muestra estudiada se realizará de forma ordenada y análoga a la exposición previa de los mismos, y comparándolos con los resultados de la serie de cabeza y cuello, presentada anteriormente en nuestro Servicio (Serrano Falcón MM, 2001).

A pesar de que la bibliografía sobre melanomas es extraordinariamente amplia, no hemos encontrado ningún estudio específico sobre melanomas de extremidades, a diferencia de otras localizaciones, por lo que nos basaremos en las series epidemiológicas generales referidas a la totalidad de localizaciones y formas anatomoclínicas, que reflejan los principales factores pronósticos implicados.

La muestra de la presente serie está formada por pacientes hospitalarios atendidos en la Unidad de Melanomas del Servicio de Dermatología del Hospital Clínico de Granada a lo largo de 9 años (1987-1996). En este periodo se diagnosticaron 105 pacientes de Melanoma Cutáneo en extremidades, lo que representa una media de 11 melanomas/año, siendo lo suficientemente amplia para plantear el estudio estadístico realizado.

### **1. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS**

#### **Edad**

La edad media de nuestros pacientes fue de 53,66 años, con un rango amplio (15-83 años) y un predominio entre los 40 y 50 años (24,3%, Fig.4).

En el análisis bivalente comprobamos como la **edad** se asocia estadísticamente con un *mayor número de horas de fotoexposición total* ( $p < 0,001$ ) y *profesiones asociadas a fotoexposición crónica* ( $p = 0,003$ ), lo cual es lógico teniendo en cuenta la población de referencia de nuestro medio. El riesgo de melanoma aumenta con la exposición solar acumulada a lo largo de la vida y ésta es mayor en las personas de mayor edad (Green A, 1984).

Por otro lado, las personas de más edad son personas que presentan melanomas con *elastosis* ( $p=0,03$ ; que refleja los daños acumulativos de la radiación solar, previamente referidos). La relación con otras variables, como *celularidad fusocelular* ( $p=0,013$ ) y *forma anatomoclínica MLA* y *localizaciones acrales* ( $p=0,005$  y  $p<0,001$  respectivamente no tienen relación con la fotoexposición y aunque no hemos encontrado en la literatura referencias que relacionen la edad con la celularidad fusocelular, nuestros datos sí concuerdan con la relación ya descrita entre edad y forma anatomoclínica MLA (Kuchelmeister C, 2000).

Los melanomas de las personas de más edad son de *mayor tamaño* en conjunto, al presentar tanto un mayor diámetro mayor como menor ( $p=0,001$  y  $p>0,001$ ), *menor tiempo libre de enfermedad* ( $p=0,091$ ), *expresión más intensa de Ki-67* ( $p=0,157$ , sig. bilateral) y *mayor espesor* ( $p=0,062$ ). La relación existente entre el tamaño del tumor y la edad ya había sido descrita previamente en la serie de melanomas de cabeza y cuello presentada por nuestro grupo (Serrano Falcón MM, 2001), mientras que la relación entre edad y espesor ya había sido puesta de manifiesto con anterioridad, bien por el retraso al consultar de las personas mayores y por tanto con una evolución más prolongada, bien por la incapacidad física y o psíquica de los mismos y la falta de atención prestada por los cuidadores en los pacientes institucionalizados. (Balch CM, 1992).

Por todas las características previamente referidas, las personas de más edad presentan una asociación estadísticamente significativa con la posibilidad de *aparición de metástasis* ( $p=0,091$ ). Esta asociación es clara teniendo en cuenta que en nuestro medio, clásicamente las personas de mayor edad han tenido un nivel socioeconómico más bajo, con profesiones vinculadas al sector primario (agricultura,...) y han demorado siempre los motivos de consulta “banales”, en el contexto de la deficiente educación sanitaria que recibieron.

En el análisis multivariante realizado, la edad no es considerada un factor de pronóstico independiente, a diferencia de los resultados presentados por otros autores, tanto europeos (Retsas, 2002) como americanos (Balch, 2001a), pero si se deduce claramente de nuestros resultados, que la edad es un factor pronóstico

importante asociado a numerosas variables de mal pronóstico, sin llegar a alcanzar independencia de éstas.

En relación con la serie de Melanomas metastásicos de cabeza y cuello (Serrano Falcón, 2001), los pacientes de nuestra serie presentan una media de edad sensiblemente inferior (58,6 años vs. 64,1 años), sin que esta diferencia llegue a ser estadísticamente significativa.

### **Sexo**

Encontramos un claro predominio del **sexo** femenino (77,1% vs. 22,9%, Fig.5) lo cual es un dato concordante con otras series presentadas previamente (Ródenas JM, 1996; Retsas S, 2002; Balch CM, 2001).

En el análisis bivalente el **sexo masculino** se asocia con tumores de *mayor tamaño* (Diámetro mayor y menor;  $p=0,079$  y  $p=0,005$  respectivamente), con *menor tiempo libre de enfermedad* ( $p=0,032$ ) y *profesiones fotoexpuestas* ( $p=0,001$ ). Asimismo presenta una asociación estadísticamente significativa con la *forma anatomoclínica MLA* ( $p=0,012$ ), *presencia de ulceración* ( $p=0,051$ ), *celularidad fusocelular* ( $p=0,066$ ) y *espesor de Breslow superior a 2 mm* ( $p=0,04$ ). Por otro lado el **sexo femenino** presenta asociación estadísticamente significativa con la *forma clínica SSM* ( $p=0,012$ ) y las *profesiones relacionadas con las tareas del hogar* ( $p<0,001$ ). Todos estos factores están asociados estadísticamente con la aparición de metástasis ( $p=0,064$ ), que sin embargo cuando realizamos el análisis multivariante, pierde su valor. En la serie de Retsas (Retsas, 2002), el sexo no se considera factor de pronóstico independiente, aunque presenta una correlación importante sin llegar a ser estadísticamente significativa ( $p=0,053$ ), sin embargo Balch (Balch, 2001), sí considera el sexo masculino como factor de mal pronóstico independiente ( $p=0,001$ ).

Resulta interesante comprobar como en nuestra serie existe una diferencia significativa en el espesor tumoral entre hombres y mujeres, siendo éste mayor en el sexo masculino. En otras series, también se observa esta diferencia (Osborne JE, 2001, Balch CM 1999).

Por lo tanto concluimos que el sexo femenino se asocia a un mejor pronóstico, por presentar tumores de menor espesor, sin ulceración y de forma anatomoclínica SSM, situación ya descrita por otros autores (Schuchter L, 1996).

En nuestra serie, los pacientes que desarrollan metástasis son de sexo predominantemente masculino (61,9%) a diferencia de la serie de melanomas de cabeza y cuello (28,6%) siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p=0,053$ ) cuando comparamos ambas series. No encontramos datos bibliográficos que justifiquen estas diferencias, aunque podría explicarse por las diferencias de edad entre sexos en ambas series.

## 2. CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS

Las variables incluidas en este apartado, se refieren más a factores de riesgo para padecer melanomas que a factores pronósticos, ya que estas características determinan el comportamiento de la piel frente a la exposición solar (Ródenas JM, 1996<sup>a</sup>).

### Color de los ojos

El 67,1% son pacientes de ojos oscuros (negros o castaños) frente al 32,9% que presentan ojos claros (Fig.6), diferencia sensiblemente superior a la serie de cabeza y cuello (56,7% vs. 43,3%, Serrano Falcón MM, 2001). El **color de los ojos**, en estudios de casos y controles ha resultado ser un factor de riesgo débil, disminuyendo incluso al ajustar otros rasgos pigmentarios (Ródenas JM, 1996<sup>a</sup>). Creemos que el color de los ojos no puede considerarse como una variable independiente, ya que se asocia al fototipo. Esta situación en nuestro medio no es absolutamente cierta, ya que la mezcla de razas a lo largo de la historia ha posibilitado la existencia de personas de piel oscura y por tanto fototipo alto con color claro de ojos.

### Color del pelo

El 82,9% de nuestros pacientes presentaban cabello de color oscuro en contraposición al 17,1% que lo tenían claro (Fig.7). Esta diferencia es equivalente a la mostrada en la serie de cabeza y cuello (83,7% vs. 16,3%, Serrano Falcón MM, 2001). El **color del pelo** aparece en la mayoría de los estudios como un factor predictor de riesgo más fuerte que el color de ojos, pero pierde significación estadística cuando se valora en conjunto con el resto de rasgos pigmentarios, posiblemente por lo ya comentado en relación con color de ojos (Ródenas JM, 1996<sup>a</sup>).

### Fototipo

En nuestro estudio, ningún paciente presentó **fototipo** I ni fototipos superiores a IV, siendo el fototipo predominante el III (48,6%, Fig.8). El porcentaje de pacientes con fototipo III en la serie de cabeza y cuello fue sensiblemente superior (58,7%, Serrano Falcón MM, 2001). Estas diferencias se podrían explicar por la influencia de la exposición solar condicionada por la localización.

### Raza

A pesar de la importante población de individuos de **etnia** gitana en Andalucía y la creciente población de piel más oscura, debido a los fenómenos migratorios que experimentamos en la actualidad, todos los pacientes de nuestra serie fueron de raza blanca, al igual que sucedía en la serie de melanomas de cabeza y cuello (Serrano Falcón MM, 2001).

### Número de nevus

El 57,1% de los pacientes tenía más de 20 nevus en su superficie corporal, mientras que el 42,9% presentaban menos de 20 nevus (Fig.9). El porcentaje de pacientes con menos de 20 nevus en la serie de cabeza y cuello es sensiblemente superior (63,3%, Serrano Falcón MM, 2001).

En nuestra población, el número de nevus no presenta asociación estadísticamente significativa con la aparición de melanoma (Ródenas JM, 1996<sup>a</sup>). La aparición de nevus está asociada con la fotoexposición. A lo largo de la infancia la mayor exposición solar aumenta el número de nevus, mientras que la fotoprotección los disminuye. En nuestra serie existe una asociación estadísticamente significativa entre los pacientes con más de 20 nevus y antecedentes de quemaduras solares frecuentes en la infancia ( $p=0,001$ ).

### 3. CARACTERÍSTICAS SOCIOECONÓMICAS

#### Profesión

Para analizar esta variable, se agrupó la **profesión** de los pacientes según su exposición solar en profesiones fotoexpuestas, no fotoexpuestas y sus labores. El 40% de los pacientes eran amas de casa, seguido de un 35,7% de pacientes con profesiones sin fotoexposición crónica (Fig.10). Esta variable es difícil de analizar, puesto que la mayoría de las mujeres incluidas en la categoría *sus labores* realizan trabajos tanto dentro como fuera del hogar, implicando una exposición solar prolongada y difícil de valorar. Sin embargo comprobamos que los porcentajes no difieren sustancialmente de la serie de cabeza y cuello (SL= 46,2%, No expuesta= 30,2%; Serrano Falcón MM, 2001) y pueden resultar orientativos para considerar las características epidemiológica de nuestra población de referencia.

### 4. ANTECEDENTES PERSONALES Y FAMILIARES

#### Historia de Exposición solar

Consideramos dos formas de exposición solar características:

- a) La exposición solar profesional o crónica, que supone un mayor número de horas de fotoexposición y
- b) La exposición solar no profesional, aguda o con fines recreativos.

En nuestro análisis retrospectivo ha sido difícil determinar el número de horas de fotoexposición atribuibles a cada una de las formas previamente referidas, ya que incluso en personas con profesiones no fotoexpuestas o SL no podían precisar adecuadamente las horas relacionadas con fotoexposición crónica o intermitente. El sistema de recogida de datos que seguimos es sólo orientativo, ya que sobreestima el recuerdo de las personas sobre sus actitudes en años pasados. Por ello, no nos atrevimos a diferenciar entre los tipos de fotoexposición y agrupamos las tres categorías en una sola, la fotoexposición total acumulada.

El 37,1% de los pacientes presentó una exposición solar total superior a 10.000 horas, mientras que en el 62,9% ésta fue claramente inferior. Este porcentaje está representado claramente por personas de más edad, profesión fotoexpuesta y de sexo predominantemente masculino (Fig.11). Coincidimos con los trabajos desarrollados previamente por otros autores en el hecho de que el riesgo de melanoma aumenta con la exposición solar acumulada a lo largo de la vida y que su papel en la etiopatogenia del melanoma sea posiblemente más importante del que le ha sido atribuido hasta ahora, sobre todo en poblaciones meridionales del sur de Europa como la nuestra (Armstrong BK, 1996).

### **Antecedentes de quemaduras solares**

El 57,7% de nuestros pacientes afirmaban haber sufrido **quemaduras solares frecuentes en la infancia** frente al 44,3% que no las referían (Fig.12). Estos porcentajes son mayores de los hallados en la serie de cabeza y cuello (23% vs. 77%; Serrano Falcón MM, 2001). Hemos reflejado su relación con el número de nevus superior a 20, mientras que no hallamos relación estadísticamente significativa con profesiones de fotoexposición crónica ni número de horas de fotoexposición total consideradas. El antecedente de quemaduras solares en la infancia-adolescencia ya ha sido relacionado con un aumento significativo del riesgo de desarrollar MC en nuestro medio (Ródenas JM, 1996<sup>a</sup>) así como por otros autores (Osterlind A, 1998), sin embargo en la bibliografía consultada, no existe una asociación estadísticamente significativa con la aparición de metástasis en los pacientes que han desarrollado un melanoma.

### **Antecedentes de tumor previo**

El 80% de los pacientes refirieron la presencia de un **tumor pigmentario previo** a la aparición del melanoma (Fig.13). La veracidad de esta variable es dudosa, ya que se basa en el recuerdo del paciente sobre si tenía o no un tumor previo en el mismo sitio en el que posteriormente apareció un melanoma. Este porcentaje es diametralmente opuesto al hallado en la serie de melanomas de cabeza y cuello (14% presentaban tumor previo, Serrano Falcón MM, 2001), resultando la diferencia significativa entre los melanomas metastásicos de ambos estudios ( $p=0,053$ ).

En nuestra serie existe una asociación estadísticamente significativa entre la aparición de novo del tumor y el desarrollo de metástasis ( $p= 0,013$ ; OR= 4,41), lo que supone una probabilidad 4 veces superior desarrollar melanoma en los pacientes que no recordaban tener tumor previo. Esta asociación queda refrendada en el análisis multivariante en la que un individuo sin tumor previo incluso, tiene casi 7 veces más de probabilidad de desarrollar metástasis que otro con tumor previo e idénticas características del resto de parámetros ( $p= 0,028$ ). Este resultado, no obstante siempre hay que valorarlo en el contexto del significado de la propia variable como ya hemos comentado y por ello no es una variable que sea considerada por otros autores cuando se analizan los factores pronósticos del MC (Retsas S, 2002). Massi y Carli (Massi D, 1999) demostraron que cuando se encontraban restos de nevus en el estudio anatomopatológico del MC, el pronóstico era mejor. Esta situación refuerza nuestro resultado, ya que al basarse sólo en el recuerdo, puede tener incluso más valor, puesto que a medida que progresa un melanoma, pueden desaparecer los restos de nevus.

### **Cáncer visceral asociado. Antecedentes de carcinoma visceral familiar.**

En nuestra serie el 8,6% de los pacientes estudiados presentaban un **cáncer visceral** asociado (3 pacientes habían presentado Cáncer de mama, 2 pacientes Cáncer de pulmón y 1 último paciente un Linfoma No Hodking, Fig.14). Por otro lado, el 10% presentaban antecedentes de carcinoma visceral.

### **Cáncer cutáneo no melanoma asociado**

El hallazgo de otro **cáncer cutáneo no melanoma** lo encontramos en tres pacientes, cada uno de los cuales presentaba un Carcinoma Basocelular, Carcinoma Espinocelular y Queratoacantoma respectivamente. Este porcentaje tan bajo podría deberse a defectos en la recogida de datos, ya que parece clara la relación en nuestras latitudes de la presencia de Carcinoma Basocelular con exposición solar crónica, siendo el tumor de piel de mayor prevalencia, con lo cual sería esperable un mayor porcentaje de estos tumores tal y como sucede en la serie de cabeza y cuello (14%, Serrano Falcón MM, 2001). De todas formas, al tratarse de una localización distinta y menor la agresión solar, también podría ser menor la asociación del MC de las extremidades con CCNM en las diferentes localizaciones.

### **Antecedentes personales y familiares de melanoma**

Ningún paciente había presentado un melanoma previamente diagnosticado y tratado a la aparición del tumor por el cual se le incluyó en el presente estudio, mientras que un 2,9% de pacientes referían **antecedentes familiares de melanoma** y en ninguno de estos casos existía una asociación con el Síndrome del nevus displásico.

## **5. CARACTERÍSTICAS CLINICO-EVOLUTIVAS**

### **Forma anatomoclínica**

El 59,2% de los tumores eran SSM, seguidos de la forma MLA (21,1%) y MN (20,7%) tal y como se aprecia en la Fig.15. Tan sólo un paciente fue diagnosticado de Melanoma sobre nevus (0,5%). Aunque el MP es una forma clínica evolutiva de las formas clásicas, en el análisis estadístico, consideramos el MP como **forma anatomoclínica** independiente, para valorar aquellos factores pronósticos ligados a él con independencia de las restantes formas anatomoclínicas. Los resultados descriptivos previos coinciden con las series anteriormente descritas que atribuyen un mayor porcentaje de SSM en extremidades (Balch CM, 1999).

La forma anatomoclínica MLA presentó asociaciones estadísticamente significativas con diferentes parámetros entre los que destacamos, la relación con personas de mayor edad ( $p=0,005$ ), tumores de mayor tamaño con diámetro mayor y menor más grande ( $p=0,04$  y  $p=0,011$  respectivamente), sexo masculino ( $p=0,011$ ), fotoexposición crónica ( $p<0,001$ ), espesor de Breslow intermedio ( $p<0,001$ ), niveles de Clark elevados ( $p<0,001$ ) y al tratarse la mayoría de ellos de factores de mal pronóstico, aparece claramente relacionado con una mayor probabilidad de desarrollar metástasis ( $p<0,001$ ). Resulta curioso que se trate de tumores de alto nivel de Clark y Breslow intermedio, pero este es un claro ejemplo del fallo de la consideración del nivel de Clark, ya que no considera los tumores según su localización y el espesor dérmico en cada área corporal.

La asociación de los MLA con tumores de mayor tamaño, edad y espesor fue descrita por Kutchelmeister, pero en la misma se relaciona con pacientes de sexo femenino a diferencia de nuestra serie donde existe una asociación significativa con el sexo masculino. (Kutchelmeister C, 2000). Coincidimos con Shaw en señalar que el MLA es una forma anatomoclínica con características epidemiológicas específicas y un patrón histológico distintivo, del que son necesarios nuevos estudios para determinar la influencia de otros factores en su etiopatogenia, ya que, por ejemplo, los MLA situados en planta de pie no presentan el mismo nivel de fotoexposición que otras localizaciones (Shaw JHF, 1998).

En cualquier caso, si bien hasta hace relativamente poco tiempo, el pronóstico del MLA en relación a otras formas anatomoclínicas no estaba perfectamente determinado (Wells KE 1992), en la actualidad sí podemos afirmar, que este es peor que el de SSM y MN como sucede en nuestra serie y en otras presentadas (Kutchelmeister C, 2000)

La forma SSM se relacionó con las variables: Tiempo libre de enfermedad mayor ( $p=0,014$ ); tumores de menor espesor ( $p<0,001$ ), sexo femenino ( $p=0,011$ ), menos de 20 nevus en la superficie corporal ( $p=0,024$ ); localización en brazos y piernas y fotoexposición intermitente ( $p<0,001$ ), niveles de Clark bajos ( $p<0,001$ ), ausencia de ulceración ( $p=0,003$ ), número de mitosis inferior a 1 ( $p<0,001$ ) y

espesor tumoral inferior a 1 ( $p < 0,001$ ), factores de buen pronóstico, situación similar a la encontrada por Kutchelmeister en su serie (Kutchelmeister C, 2000).

La forma clínica MP presentó asociación estadísticamente significativa con la presencia de ulceración ( $p = 0,003$ ) y elevado número de mitosis ( $p < 0,001$ ) y aunque no llegó a alcanzar los niveles de significación estadística con la variable *aparición de metástasis*, sí se apreciaron diferencias importantes que pueden servirnos desde el punto de vista clínico y considerar en lo sucesivo a la forma polipoide como signo de mal pronóstico aunque no haya sido reflejada como tal en otros estudios (Kiene P, 1995; Rosenberg L, 1981).

En las últimas series consideradas (Retsas S, 2002; Balch CM, 2001), no se concede especial importancia a la forma anatomoclínica como factor pronóstico independiente, pero de nuestro estudio, sí podemos deducir que existe una clara predisposición al desarrollo de metástasis en los MLA, sobre todo en relación a la forma clínica más frecuente, el SSM, lo cual confiere importantes matices de orden clínico cuando diagnosticamos esta forma anatomoclínica y que influye en el plan terapéutico a adoptar. No obstante, esta variable pierde su valor pronóstico independiente en el análisis multivariante, por lo que coincidimos en los datos encontrados en la bibliografía (Kutchelmeister C, 2000).

La comparación con los melanomas de la serie de cabeza y cuello no es factible debido a la existencia de formas anatomoclínicas diferentes (LMM en cabeza y cuello y MLA en extremidades), pero si es pertinente afirmar que la forma LMM, dominante en los melanomas de cabeza y cuello es de buen pronóstico, mientras que en extremidades la forma MLA se considera de mal pronóstico. Creemos oportuno señalar, que en ambas series, la forma anatomoclínica no es un factor de pronóstico independiente y por tanto no es considerada en el modelo predictivo.

### **Pigmentación**

El 91,4% de los tumores eran **pigmentados**, mientras que tan sólo en un 8,6% de los casos el tumor fue amelanótico (Fig.24). Encontramos asociación

estadísticamente significativa entre tumores de espesor elevado (>4 mms) y ausencia de pigmento, lo cual ya ha sido descrito previamente puesto que el melanoma amelanótico es conceptualmente una variante de rápida invasión tumoral y crecimiento en profundidad (Barnhill RL, 1995).

### **Localización**

Encontramos un predominio de melanomas **localizados** en miembros inferiores (n=45) en relación con los situados en miembros superiores (n=35). La distribución de los mismos se aprecia en la Fig.26. Tan sólo el 8,6% de los melanomas descritos se situaron en la mano, localización clásica de fotoexposición permanente.

Como ya hemos mencionado previamente existe una asociación de los melanomas situados en localizaciones acrales con la forma clínica MLA ( $p<0,001$ ), el sexo masculino y localizaciones de fotoexposición continua, mientras que los melanomas situados en zonas de extensión (piernas y brazo) se relacionan con la forma clínica SSM y el sexo femenino. La asociación entre SSM y localización en las zonas de extensión de los brazos y las piernas de las mujeres podría explicarse por la mayor fotoexposición de estas localizaciones, habitualmente descubiertas en las mujeres, y quizá por la tendencia a broncearse éstas ya desde los primeros días de la primavera.

### **Tamaño del tumor (Diámetro mayor y diámetro menor)**

La principal variable relacionada con el tamaño del tumor y que se tiene en cuenta en todos los estudios es el espesor, para cuya determinación es necesaria la extirpación y análisis histológico del mismo. No obstante el tumor es tridimensional y por ello creemos también interesante la determinación del diámetro mayor y menor, que no sólo tienen influencia en el pronóstico sino también en los planteamientos terapéuticos a desarrollar.

El diámetro mayor medio fue de 1,854 mm, mientras que el diámetro menor medio fue de 1,353 mm tal y como se aprecia en la Fig.25.

Si consideramos todas y cada una de las variables analizadas en el análisis bivariante, comprobaremos como el tamaño del tumor y por tanto, los diámetros mayor y menor, tienen una gran relevancia pronóstica. Los tumores de mayor tamaño se presentan en varones de mayor edad, con mayor presencia de ulceración, en formas anatomoclínicas MLA, y mayor espesor, siendo todas ellas variables de mal pronóstico. Esta asociación entre los diámetros mayor y menor y el espesor del tumor ya fue descrita anteriormente por Smolle (Smolle J, 1998), que en lugar de los diámetros, establecía la relación con el área del tumor.

Esta importancia queda también reflejada cuando comparamos el tamaño de los tumores metastásicos de dos localizaciones diferentes, extremidades y cabeza y cuello donde el diámetro mayor ( $p=0,016$ ) y el diámetro menor ( $p=0,096$ ) de los tumores localizados en extremidades es significativamente superior. En ambas series el tamaño tumoral se relaciona con factores de mal pronóstico: Espesor y Ulceración (Serrano Falcón MM, 2001) y si bien en melanomas de cabeza y cuello esta relación ha sido estudiada por algunos autores (Woods JE, 1978), no sucede igual con los melanomas de extremidades.

### **Características evolutivas**

La media de **tiempo de evolución al consultar** fue de 26,11 meses (2,17 años) con un rango amplio (1-120 meses). Aunque esta variable esta sujeta a errores, ya que se trata del recuerdo del paciente, los resultados que obtenemos tienen gran importancia clínica.

En relación a los melanomas metastásicos existe una importante diferencia entre las dos localizaciones estudiadas (21,1 meses para extremidades y 66,86 meses para cabeza y cuello) aunque no se observaron diferencias significativas debido a la alta dispersión de los valores, lo cual es sumamente llamativo al tratarse de localizaciones de diferente modalidad de fotoexposición. Estos datos difieren significativamente de los estudios realizados hasta el momento que apuntaban a una mayor demora al consultar en los melanomas situados en zonas cubiertas (Hemo Y, 1999).

La **aparición de metástasis** es la principal característica evolutiva de la enfermedad y es la variable que nos ha servido de punto de referencia para determinar que otras variables clínicas o histológicas pueden influir en el pronóstico.

El 30% de los pacientes de nuestra serie desarrollaron metástasis a lo largo del tiempo de observación (Fig.27). Tomamos como periodo mínimo de observación, los 5 años siguientes a la intervención del primario. Los MC pueden desarrollar metástasis en cualquier momento (Serrano S, 1987) de su evolución pero es el periodo comentado cuando lo hacen con más frecuencia (Martín Casañez E, 1998).

La aparición de metástasis se relaciona de forma significativa con el tamaño del tumor (diámetro mayor y menor), espesor de Breslow, nivel de Clark, nº mitosis/cm<sup>2</sup>, infiltrado linfocitario, sexo varón, ausencia de tumor previo, forma clínica MLA, localizaciones acrales y celularidad fusocelular. En el análisis multivariante sólo tienen valor pronóstico independiente el espesor de Breslow, el nº de mitosis, infiltrado linfocitario, ausencia de tumor previo y celularidad fusocelular. Estos resultados varían considerablemente de la serie de cabeza y cuello (Serrano Falcón MM, 2001), donde sólo el sexo y el espesor eran considerados factores de pronóstico independiente. En las series presentadas recientemente (Retsas S, 2002; Balch CM, 2001) la ulceración se considera como factor pronóstico fundamental junto al espesor tumoral, suceso no contemplado en nuestro estudio, junto a otros factores como la edad (avanzada), el sexo (varón), la localización del melanoma (axial) o la actividad mitótica (>6).

Es difícil determinar cual de las dos localizaciones estudiadas presenta peor pronóstico y por tanto, mayor probabilidad de desarrollar metástasis. En nuestro grupo los melanomas de extremidades desarrollaron metástasis en el 30% de los pacientes estudiados, mientras que en cabeza y cuello el porcentaje fue sensiblemente inferior (13,16%). Estos datos no concuerdan con los expuestos previamente por Balch (Balch CM, 2001b), en los que los melanomas localizados en cabeza y cuello y en tronco tienen peor pronóstico que los melanomas situados en extremidades. En cualquier caso, no debemos olvidar que existen formas

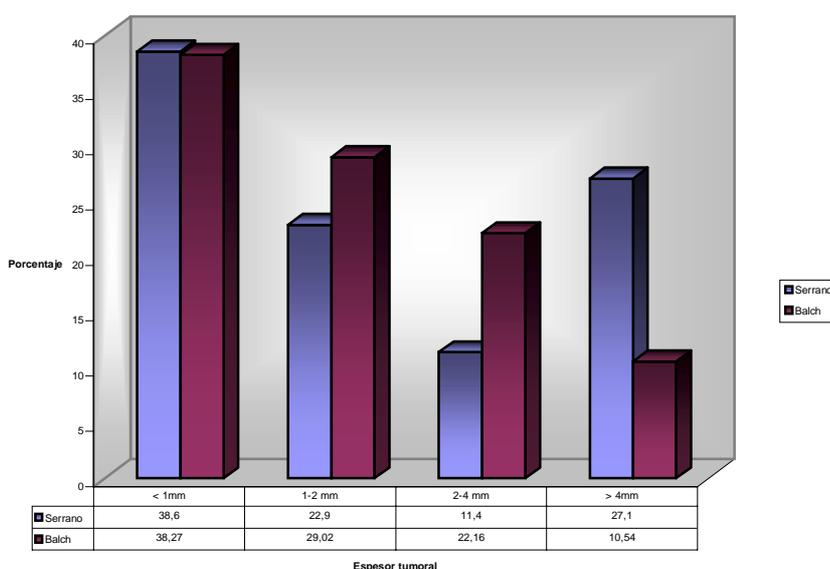
clínicas diferentes, con pronóstico diferente, que puede dificultar la comparación entre estas dos localizaciones.

## 6. CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS

### Espesor de Breslow

El **espesor medio** de los melanomas de extremidades estudiados fue de 2,85 mms. El 27,1% de los pacientes tenían más de 4 mms. de espesor y el 38,6% tenían menos de 1 mm. de espesor (Fig.28). Para comparar el espesor tumoral tomamos los rangos establecidos según la nueva categorización establecida por la AJCC, por lo que es factible tan sólo la comparación con la serie de Balch que incluye la totalidad de localizaciones y una cohorte de 17.600 pacientes (Fig.70).

Existe una gran similitud en los porcentajes de melanomas de < 1mm y formas intermedias hasta 2mm, aunque sí existen diferencias sustanciales en los tumores de espesor superior a 4mm. Estas diferencias se deben sobre todo a que si bien cada día se consulta antes y con tumores de menos espesor, en nuestro medio el cambio que se está produciendo y que se inició a mediados de la década de los 70, se está efectuando de manera más lenta (Buendía A, 1997).



**Fig.70.** Comparación del Espesor entre nuestra serie y Balch-2001.

Los tumores de bajo espesor (<1mms) presentaron asociación estadísticamente significativa con: el tamaño del tumor (menor diámetro mayor y menor), sexo femenino, individuos sin tumor previo, forma clínica SSM, pigmentados, no ulcerados y con baja actividad mitótica siendo todas ellas características de buen pronóstico, características coincidentes con el estudio desarrollado por Fearfield (Fearfield LA, 2001).

Los tumores de mayor espesor (> 4mms) eran mayoritariamente de forma clínica MP, mayor porcentaje de tumores amelanóticos, ulcerados, con elevada actividad mitótica y con mayor nivel de Clark, siendo todas ellas características de mal pronóstico y por ello presentan asociación estadísticamente significativa con la aparición de metástasis. Otras variables que mostraron asociación estadísticamente significativa y que se pusieron de manifiesto cuando se consideró el espesor de Breslow de forma continua fueron el sexo varón, el tamaño del tumor y la expresión de p53 y Ki-67.

Nuestros hallazgos coinciden con los expresados por otros autores, en los que los melanomas de grosor superior a 4 mm se presentan con mayor frecuencia en varones (si bien la asociación es débil) y suelen tener crecimiento polipoide (Osborne JE, 2001), elevada actividad mitótica y ulceración (Zetttersen E, 2002), con aumento en la expresión de p53 y Ki-67 (Serrano Falcón MM, 2001).

El espesor de Breslow, considerado clásicamente como el parámetro más importante de cara al pronóstico del melanoma, sigue siendo un factor pronóstico independiente cuando se realiza el análisis multivariante en nuestra serie al igual que en otros trabajos considerados (Osborne JE 2001; Retsas S, 2001; Balch CM 2001<sup>a</sup>).

Cuando comparamos las series de melanomas metastásicos de extremidades y cabeza y cuello no encontramos diferencias estadísticamente significativas en relación el espesor, dato no compartido por otros autores que expresan mayor espesores tumorales en los melanomas de cabeza y cuello (Osborne JE, 2001), si bien los hallazgos de nuestra serie estarían determinados por una mayor precocidad en el momento de consultar. Estos datos concuerdan

con la hipótesis enunciada por nuestro grupo en relación con el cambio de características experimentadas en los melanomas estudiados (Buendia Eisman A, 1997).

### **Nivel de Clark**

El 34,3% de los melanomas de extremidades estudiados presentaban un **nivel de Clark** III, seguido de los niveles IV y II con el 25,7% y 22,9% respectivamente (Fig.30). El nivel de Clark desde su descripción en 1969 (Clark JW, 1969) se ha considerado como el principal factor pronóstico. En la clasificación de la AJCC de 1997 (AJCC, 1998), se sigue considerando como un factor pronóstico de primer orden, imprescindible para el estadiaje del tumor primitivo. Múltiples estudios han comprobado que el nivel de Clark, es un factor pronóstico dependiente del espesor tumoral, por lo que ha perdido su valor inicial y en la actual clasificación de la AJCC (Balch CM, 2001), sólo se considera en la clasificación de los tumores de 1mm de espesor.

En la serie de melanomas de cabeza y cuello presentada por nuestro grupo, el nivel de Clark, es una variable dependiente del espesor, que carece de utilidad al igual que sucede con los MC de extremidades.

### **Ulceración**

En un 41,4% de los melanomas de extremidades existía **ulceración** (Fig.31).

En el análisis bivalente comprobamos que existía una asociación estadísticamente significativa entre los tumores ulcerados y diferentes variables: Espesor de Breslow ( $p=0,001$ ), nivel de Clark ( $p=0,005$ ), actividad mitótica ( $p<0,001$ ), positividad para Ki-67 ( $p=0,015$ ), sexo varón ( $p=0,05$ ) y forma clínica MP ( $p=0,004$ ). La asociación de la ulceración con variables que indican mal pronóstico (Espesor y actividad mitótica) había sido descrita previamente por otros autores (Reintgen DS, 1992)

A diferencia de lo que sucede en otras series, cuando realizamos el análisis multivariante, la ulceración no alcanzó la independencia pronóstica. La presencia de ulceración se ha considerado como una variable de mal pronóstico clásicamente, 2000 se introduce como segundo factor pronóstico, después del espesor, en la clasificación de la AJCC, tras poner de manifiesto su importancia por Balch (Balch CM, 2001<sup>a</sup>) en el análisis de los factores pronósticos de su serie, así como por Retsas en la validación de la nueva clasificación en la cohorte europea más amplia descrita hasta el momento (Retsas S, 2002). En nuestra serie existe un claro predominio de ulceración en los tumores que desarrollaron metástasis y ausencia de ulceración en los que no la hicieron. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas, posiblemente por la dependencia en relación con el espesor. A pesar de ello, consideramos que la ulceración es una variable de mal pronóstico de suma importancia en la valoración diagnóstica y planteamiento terapéutico de los MC, aunque no alcance la significación estadística.

### **Celularidad**

En el 70% de los pacientes estudiados, la **celularidad** del tumor era epitelioide, seguido de un 15,7% de tumores de celularidad mixta y un 10% de celularidad fusocelular (Fig.33).

En el análisis bivalente, la variable aparición de metástasis se relacionó con la morfología fusocelular de las células tumorales ( $p=0,008$ ). Esta variable, ha sido posteriormente considerada como factor pronóstico independiente en el análisis multivariante realizado. En la literatura consultada, la celularidad no es un factor pronóstico considerado en los estudios pronósticos de las diferentes series (Balch CM, 2001<sup>a</sup>, Retsas S, 2002, Zettersen E, 2002).

En la serie presentada de cabeza y cuello (Serrano Falcón MM, 2001) ya encontramos que la celularidad epitelioide era considerada como factor de buen pronóstico al correlacionarse con factores de buen pronóstico (sexo femenino, menos espesor de Breslow y menor nivel de Clark), pero es curiosamente en nuestra serie cuando un tipo de celularidad es considerado como factor pronóstico independiente. Estos datos difieren de los referidos por otros autores (Day CL,

1992) donde la celularidad fusocelular era considerada un factor de buen pronóstico, pero si consideramos que este tipo de células se presentan sobre todo en dos formas anatomoclínicas principales: LMM y MLA (Lever K, 1983), es lógico que este tipo celular se vincule a un peor pronóstico en nuestro estudio.

### **Actividad mitótica**

En el 54% de los casos estudiados el número de mitosis fue inferior a 1, mientras que en el resto de casos la **actividad mitótica** fue superior (Fig.39).

La aparición de metástasis presentó asociación estadísticamente significativa con la actividad mitótica del tumor ( $p=0,012$ ) en el análisis bivalente y en el análisis multivariante se comporta como factor pronóstico independiente ( $p=0,053$ ). Este hallazgo ha sido recientemente confirmado por algunos autores, en el que la actividad mitótica se considera después del espesor el factor pronóstico más importante, acentuándose esta diferencia en tumores de espesor superior a 4mm (Retsas S, 2002; Zettersen E, 2002). Otros autores consideran igualmente su importancia aunque la supeditan a la presencia de ulceración tumoral (Ostmeier H, 1999). En nuestro estudio y en la serie de cabeza y cuello existe una correlación con la expresividad de Ki-67 y dado que su determinación es más sensible al abarcar el grado de proliferación en todas las fases del ciclo celular, tiende a ser sustituido por éste, ya que es más sencillo que el conteo de mitosis por  $\text{mm}^2$ . De todas formas, no todos los autores encuentran el paralelismo que nosotros observamos. (Moretti S, 2001).

### **Infiltrado linfocitario**

En el 57,2% de los tumores el **infiltrado linfocitario** fue ligero o nulo mientras que en el 42,8% restante fue moderado o intenso (Fig.42).

El análisis bivalente puso de manifiesto una correlación estadísticamente significativa entre la aparición de metástasis y la ausencia de infiltrado linfocitario ( $p=0,048$ ). Esta asociación incluso se refrenda en el análisis multivariante donde el infiltrado linfocitario es un factor de pronóstico independiente ( $p=0,033$ ), como así

pasa en algunas series anteriormente presentadas (Clark WH, 1989; Bachaud JM, 1992), si bien no todos lo consideran como tal (Stadelmann WK, 1998). Una vez más y tal y como afirma Rogers (Rogers GS, 2002) creemos que su interpretación debe ser cautelosa ya que la dificultad en la evaluación del infiltrado linfocitario como indicador pronóstico varía en la definición y cuantificación del mismo, aunque sí pone de manifiesto el estado de activación del sistema inmunológico del paciente.

No encontramos diferencias estadísticamente significativas en el infiltrado linfocitario de los melanomas metastásicos de cabeza y cuello y extremidades.

### **Elastosis**

Tan sólo en el 5,7% de los casos estudiados existía **elastosis** (Fig.44), situados en dos casos en manos y en otros dos en antebrazo. Cuando comparamos las series de cabeza y cuello y extremidades observamos una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ) a favor de los melanomas situados en cabeza y cuello, lo cual es lógico, al tratarse de una localización de fotoexposición permanente. No pensamos que sea un factor importante en relación con el pronóstico del melanoma cutáneo, pero su determinación es útil como dato complementario para conocer el daño solar acumulativo.

### **Satelitosis**

En el 2,9% de los tumores estudiados se describió la presencia de **satelitosis** (Fig.45). En nuestra serie no se relacionó con la aparición de metástasis. Dada la escasez de muestra no realizamos el análisis bivariante, pero en otras series si se ha demostrado su asociación con el espesor tumoral y menor tiempo de supervivencia (Zettersen E, 2002).

### **Invasión angiolinfática y perineural**

La **invasión angiolinfática y perineural** solo se ha descrito en un caso respectivamente (1,4% de los tumores estudiados). Al igual que con las variables

anteriores, dada la escasez de muestra no se realizó análisis bivalente de las mismas. En nuestro estudio no se ha relacionado con la aparición de metástasis. No obstante, estamos de acuerdo con su consideración como factor pronóstico importante en aquellos tumores de espesor elevado. (Kashani-Sabet M, 2001).

## 7. CARÁCTERÍSTICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS Y MOLECULARES

En los últimos años se han descrito numerosos marcadores inmunohistoquímicos de relevancia pronóstica en diferentes tumores, incluidos el melanoma cutáneo. El interés en el estudio de los mismos aumenta sobre todo para determinar el pronóstico, por lo que continuamente se estudian nuevos paneles de marcadores que amplíen la información sin que suponga un coste y esfuerzo añadido.

En virtud de los resultados obtenidos en la serie de cabeza y cuello, hemos estudiado básicamente 2 monoclonales: p53 y Ki-67 para determinar su valor pronóstico y en el caso de p53 para mostrar su expresión mediante técnicas de biología molecular (PCR). En los melanomas metastásicos el estudio se complementó con la determinación de los marcadores HMB-45 y S-100.

### **p53. Expresión inmunohistoquímica y molecular.**

En el análisis inmunohistoquímico realizado la **expresión de p53** fue positiva en el 8,5% de los pacientes estudiados (3/30 pacientes, Figs.47-48), mientras que su positividad se elevó al 68,6% del total cuando se determinó la pérdida de heterocigosidad mediante PCR (Fig.58).

A pesar del escaso tamaño de la muestra, existe una correlación estadísticamente significativa con el espesor de Breslow ( $p=0,013$ ). Aunque, por este tamaño, debemos interpretar estos resultados con cautela, coinciden con lo previamente reflejado por los estudios de Kaleem (Kaleem Z, 2000). De acuerdo con la asociación con el espesor de Breslow, la determinación inmunohistoquímica de la p53, podría emplearse como una técnica complementaria de utilidad en la valoración de la fase de crecimiento vertical del tumor. Este resultado lo

confirmamos mediante PCR observando también una asociación entre el espesor del tumor y la pérdida de heterocigosidad del gen que codifica p53.

Las mutaciones del antioncogen p53 son las alteraciones genéticas más comunes entre los diferentes tipos de cáncer (Essner R, 1998). La proteína p53 desarrolla numerosas funciones, que incluyen: Bloquear la progresión del ciclo celular, iniciar la apoptosis si el daño experimentado por el DNA es excesivo, actuar como factor regulador de la transcripción,... . Su papel como indicador pronóstico se ha determinado en numerosos tumores: cáncer de pulmón, colon, cáncer de pulmón de células no pequeñas, sarcomas de tejidos blandos y melanoma cutáneo (Li N, 2002).

La prevalencia de la inmunorreactividad para p53 en melanomas malignos cutáneos primarios en la literatura varía desde 0 al 97% de las lesiones estudiadas. En general, las primeras publicaciones indicaban un mayor porcentaje de lesiones que expresaban esta proteína, mientras que los últimos trabajos publicados, detectan mucha menor frecuencia de expresión, y por lo general, en una proporción baja de células tumorales marcadas (Whiteman DC, 1998) que cifran su expresión en una horquilla que oscila entre el 20 y el 40%. En nuestro estudio la expresión inmunohistoquímica oscila entre el 10% de su expresión en extremidades y el 50% en melanomas de cabeza y cuello.

La observación, en algunos estudios en los que se ha realizado PCR e inmunohistoquímica, de una adecuada correlación entre la mutación del gen que codifica p53 y la acumulación tisular de su proteína, ha llevado a realizar numerosos estudios inmunohistoquímicos. Sin embargo, no en todos los casos se ha comprobado la presencia de dicha asociación, como queda patente en nuestro estudio (Eeles RA, 1993).

En nuestro estudio, la pérdida de heterocigosidad también se relaciona con variables tales como el tamaño del tumor: Mayor diámetro menor ( $p=0,013$ ) y menor tiempo de evolución en meses ( $p=0,024$ ), asociaciones de las que no encontramos antecedentes bibliográficos.

De acuerdo con nuestros resultados, la mayor expresión de p53, que se correlaciona con el espesor, el tamaño y el menor tiempo de evolución, nos obliga a pensar que las alteraciones de esta proteína, se relacionan de forma positiva con la promoción tumoral. Por otro lado, hay estudios que demuestran que la expresión de la proteína p53 es mayor en epidermis de piel sana fotoexpuesta que en la no fotoexpuesta (Einspahr J, 1998). Igual ocurre en relación con nuestros resultados, ya que la expresión de p53 es mucho mayor en los melanomas de cabeza y cuello normalmente sujetos a fotoexposición crónica, que en los de extremidades, con un menor grado de fotoexposición. Estos resultados difieren de los estudios publicados con anterioridad en los que no hallaban esta diferencia (Essner R, 1998).

En resumen podemos afirmar que la expresión inmunohistoquímica de p53 en los melanomas cutáneos de extremidades es baja, pero aumenta cuando la medición se realiza con PCR. Esta observación podría explicarse bien por una menor sensibilidad de la técnica inmunohistoquímica para expresar todas las mutaciones de las que puede ser objeto el gen que codifica p53 o bien que dichas alteraciones genéticas no han llegado a producirse y por lo tanto no se pueden detectar mediante técnicas de inmunohistoquímica.

### **Ki-67**

El antígeno **Ki-67** es un marcador de proliferación con significado pronóstico y diagnóstico. En nuestra muestra fue positivo en los 30 pacientes analizados, con distribución difusa en el 34,3% y focal en el 65,7% restante (Figs.50-51).

En el análisis bivalente, existen asociaciones estadísticamente significativas entre la baja expresividad del antígeno Ki-67 y actividad mitótica escasa (<1), forma anatomoclínica SSM y celularidad epitelioides, todos ellos factores de buen pronóstico en el análisis previamente mencionado. Por otro lado la expresividad intensa del antígeno Ki-67 se asocia estadísticamente con el sexo varón, ojos claros, ulceración, presencia de tumor previo, nº nevus superior a 20, nº mitosis >1 y positividad para p53.

Existe una correlación entre la expresión de Ki-67 y p53 que queda patente en el análisis bivariante (aun cuando la inmunorreactividad hallada es escasa), así como con la pérdida de heterocigosidad del mismo, por lo que incidimos en la idea de considerar la expresión conjunta de ambos marcadores como factores indicadores de crecimiento vertical de melanoma tal y como postuló Kaleem (Kaleem Z, 2000), aunque en virtud a los análisis realizados no presentan potencia estadística suficiente para considerarlos como predictores conjuntos de mal pronóstico.

La relación entre la intensidad de expresión de Ki-67 y la ulceración observada en nuestra serie, ya se había descrito previamente (Balch CM, 1992) y parece deberse a la mayor proliferación que se produce en los tumores ulcerados y que ya han experimentado en su superficie fenómenos de necrosis celular. Cuando la actividad mitótica es baja, la expresión de Ki-67 es ligera y cuando es alta también su expresión es elevada, hallazgo también descrito con anterioridad en la literatura y en la serie de cabeza y cuello de nuestro grupo y que vuelve a producirse en la presente serie. (Ostmeier H, 1989; Serrano Falcon MM, 2001) aunque no todos los autores la reflejan (Moretti S, 2001).

En nuestro estudio, la reactividad de Ki-67 se asocia con el grosor del tumor de forma que hay mayor intensidad de expresión a medida que aumenta el espesor del tumor. Esta relación ya se había descrito previamente en la literatura (Soyer HO, 1991; Henrique P, 2000) y discrepa de uno de los últimos trabajos publicados donde se establece una clara relación entre la expresión de Ki-67 y el menor grosor tumoral (Moretti S, 2001). De todas formas, aunque la relación con el espesor tumoral se discuta, lo que sí parece cierto, es que la expresión de Ki-67 se relaciona con la aparición de clones celulares más agresivos y con mayor tendencia a metastatizar. La evaluación inmunohistológica de las fracciones celulares proliferativas en los melanomas primarios es un factor predictivo adicional de metástasis, aunque el comportamiento metastásico se asocia indudablemente con la mayoría de las actividades biológicas, como la producción de citocinas, la expresión de receptores y en el tramado autocrino y paracrino del microambiente tumoral.

La expresión de Ki-67 es independiente de la localización anatómica del tumor ya que en ambas localizaciones, cabeza y cuello y extremidades, se expresó en todos los pacientes estudiados (Serrano Falcón MM, 2001), aunque, hay sutiles diferencias en la intensidad de expresión, siendo más intensa en los Melanomas de cabeza y cuello aunque sin diferencias estadísticamente significativas (Fig.68).

### **HMB 45**

El anticuerpo monoclonal **HMB45** se usa en la mayoría de los laboratorios de dermatopatología, como técnica de rutina en el diagnóstico del melanoma por su gran sensibilidad y especificidad (Skelton HG, 1997). Todos los melanomas metastásicos mostraron expresión de este anticuerpo, con una expresión focal en el 81% de los tumores y una expresión difusa en el 19% restante (Fig.54).

La expresión focal en profundidad se relaciona con una pérdida parcial de la expresión del antígeno y se correlaciona con tumores más profundos y agresivos. En nuestra serie la expresión focal en profundidad fue superior en relación a los melanomas metastásicos de cabeza y cuello con una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ).

### **Proteína S-100**

El anticuerpo monoclonal **S-100** ha sido considerado recientemente de gran utilidad en la detección de la progresión a enfermedad metastásica (Bonfrer JM, 2001). En relación con su expresión inmunohistoquímica, todos los melanomas metastásicos lo expresaron, un 95,2% de forma focal y un 4,8% de forma difusa (Fig.56).

Su evolución es paralela al anticuerpo HMB-45 e indica una pérdida en la diferenciación de las células malignas y su capacidad de producir esta proteína. No encontramos, sin embargo diferencias significativas en la expresión focal en los melanomas de extremidades y cabeza y cuello.

Aunque en la práctica totalidad de las investigaciones realizadas, se considera la expresión de HMB45 y proteína S-100 como técnica de diagnóstico, cuando observamos la forma de expresión, difusa o focal y la localización preferente de la misma, encontramos que la localización en profundidad se asocia con la aparición de metástasis, sobrepasando los límites de significación estadística marcados en la serie de melanomas de cabeza y cuello y con altos índices de positividad en los datos descriptivos obtenidos en el subgrupo de melanomas metastásicos de la serie de extremidades presentada. Creemos de interés el hacer esta distinción en estudios con muestras más amplias para confirmar su valor pronóstico.