

## **I. INTRODUCCIÓN**

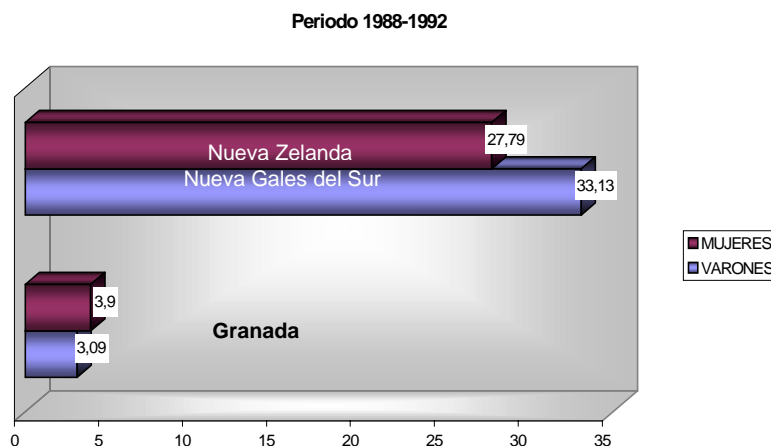
### **MELANOMA CUTANEO**

#### **I.1.EPIDEMIOLOGIA**

El melanoma es una forma de cáncer que, en ausencia de una intervención eficaz, constituye en la actualidad un problema de salud pública. Aunque sólo representa el 3% de todas las neoplasias malignas de la piel, es la causa del 65% de las muertes por cáncer cutáneo y el 1% de todas las muertes por cáncer (Schreiber MM, 1981).

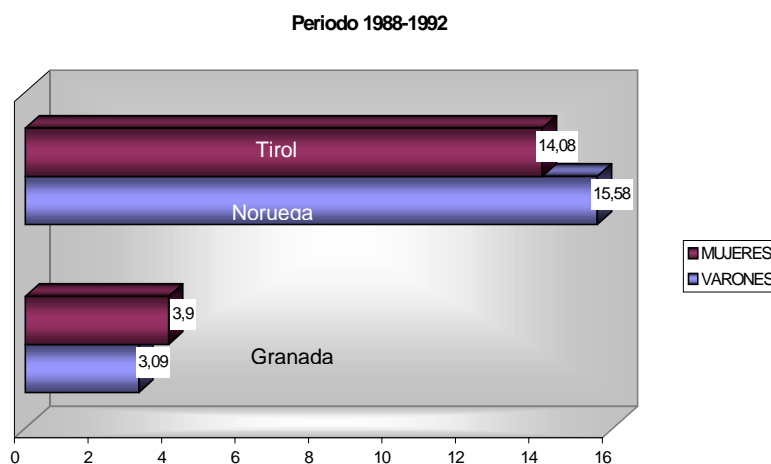
Su incidencia está aumentando en todos los países del mundo, incluso en aquellos con tasas bajas, con una tendencia a duplicarse en un periodo de 10 a 15 años (Grin-Jorgensen CM, 1992), sin que ello se deba a una mejoría de la vigilancia sanitaria o de los registros de tumores, ni tampoco a cambios en los criterios diagnósticos histopatológicos de la neoplasia (Parker SL, 1996).

Desde el punto de vista epidemiológico vamos a considerar la incidencia del melanoma cutáneo desde el ámbito mundial al medio en el que hemos realizado nuestro estudio, Granada. En Australia el melanoma maligno (MM) es uno de los cánceres más frecuentes. En el periodo comprendido entre 1988 y 1992 (**Fig.1.**) la máxima tasa mundial se observaba en Nueva Zelanda en el caso de los varones (27,79 casos al año por 100.000 hab.) y en Nueva Gales del Sur en el caso de las mujeres (33,13 casos por 10.000 hab. al año). En 1993, un año más tarde, se estimaba el riesgo de desarrollo de MM antes de los 75 años de edad en 1 por cada 27 hombres y 1 por cada 36 mujeres (Jelfs PL, 1995). El riesgo actual de desarrollar un MM en Estados Unidos se calcula de 1 entre 87 frente a 1 por 1500 en 1930. El MM es el cáncer más frecuente en varones de raza blanca entre 35 y 44 años y en mujeres blancas entre 25 y 29 años de edad y el segundo, después del cáncer de mama, entre mujeres de 30 a 34 años (Devesa SS, 1987).



**Fig.1.** Máximas incidencias mundiales de MM en el periodo 1988-1992.

En Europa la incidencia ha seguido aumentando en la mayoría de los países hasta la actualidad y todavía este aumento es aún mayor en los países mediterráneos. Entre 1988 y 1992 (**Fig.2.**) las máximas incidencias correspondieron a Tirol en las mujeres (15,58 casos por año por 100.000 hab.) y Noruega (14,08 casos por 100.000 hab. por año) en el caso de los varones. En Asia no se ha detectado el espectacular aumento en la incidencia observado en las poblaciones de raza caucásica (Parkin DM, 1992).



**Fig.2.** Máximas incidencias europeas de MM en el periodo 1988-1992.

La incidencia de melanoma en España sigue una evolución similar a la del resto de poblaciones de raza blanca del mundo, habiéndose multiplicado por 10 en los últimos 20 años: De 0,3 casos/100.000 habs. en varones y 0,2 en mujeres en el periodo 1969-1972 había aumentado a 3 casos/100.000 en varones y 3,8 en mujeres según las cifras publicadas en 1992. De los 9 registros que existen en España en la actualidad (Albacete, Asturias, Granada, Mallorca, Murcia, Navarra, País Vasco, Tarragona y Zaragoza) las tasas más altas corresponden a Mallorca con 3,8/100.000 varones y Murcia 4,4/100.000 en mujeres, siendo las más bajas las de Albacete en ambos casos con 1,7 y 2,0 respectivamente. Estas cifras sitúan a España por debajo de los países europeos en la incidencia de melanoma. No obstante se acepta que los métodos actuales de registro de melanoma no son muy eficaces (Melia J, 1995), debido en parte a que los registros de cáncer se basan en datos hospitalarios y a que el melanoma es la única forma mayor de cáncer cuyos pacientes pueden no ser asistidos en un hospital en alguna fase del tratamiento. Por eso según algunos autores se considera que la incidencia de melanoma, aun a pesar de su incremento, esta siendo infraestimada (Rigel DS, 1996).

En Granada, según los datos del Registro de Cáncer, el MC representa el 2,90% del total del cáncer en general, con mayor incidencia en mujeres de edad media, de manera análoga a lo que sucede en el resto del mundo. El Melanoma de extensión superficial es el tipo anatomoclínico más frecuente en ambos sexos, seguido del Lentigo Maligno Melanoma (LMM). La tasa de incidencia en el periodo 1988-1992 fue de 3,09/100.000 habs. para los hombres y 3,9/100.000 habs. para las mujeres. El estudio de las tendencias en nuestro medio según datos del EUROCIM (IARC, 1999) pone de manifiesto un aumento considerable de la incidencia en los hombres en la década de los 90 y una tendencia a estabilizarse las tasas de incidencia de las mujeres (Serrano Falcón, 2001).

La mortalidad absoluta causada por el MM continúa incrementándose a pesar de que se diagnostican cada vez lesiones de bajo riesgo. La mejoría en el diagnóstico precoz ha supuesto un aumento de la supervivencia global del MM en el estadio I (enfermedad clínicamente localizada a nivel cutáneo). En este estadio la tasa de supervivencia en registros de EEUU ha pasado del 50% aproximadamente en los años 50 hasta un 90% en la actualidad (Parker SL, 1996). Sin embargo la

mortalidad del MM ha ido creciendo en este país aproximadamente un 2% anual desde 1950 y en el intervalo entre 1973 y 1991, ha sido la neoplasia con un aumento más rápido en la tasa de mortalidad junto al carcinoma de próstata. Esta paradójica discrepancia entre la mejoría en el diagnóstico precoz y el aumento de mortalidad, solo puede ser explicada si el aumento en la incidencia de la neoplasia resulta todavía mayor y el número absoluto de casos de MM de alto riesgo también sigue aumentando.

## **I.2. FACTORES DE RIESGO DE MELANOMA CUTÁNEO**

Para identificar y definir los grupos de riesgo, y conocer la posibilidad de desarrollar un melanoma en los individuos de una comunidad, es necesario conocer los factores de riesgo.

### **1. Factores de riesgo individuales**

#### **Factores genéticos**

Un 8-12% de los casos de melanoma presentan predisposición familiar, con una elevada incidencia de nevus atípicos, que constituyen lesiones precursoras de melanoma. Esta predisposición ha impulsado la investigación genética para identificar los genes implicados en la transmisión o predisposición a padecer melanoma, así como las mutaciones que los mismos experimentan.

Se han desarrollado dos métodos principales en el estudio de la genética del melanoma (Ródenas JM, 1998):

1. Estudios citogenéticos y de pérdida de heterocigosidad. Tratan de identificar los genes que intervienen en la evolución de la neoplasia estudiando células tumorales de melanoma.
2. Análisis de segregación o estudios de ligamiento. Estudian a familias con melanoma familiar con objeto de identificar las localizaciones cromosómicas de los genes que predisponen a los individuos a desarrollar melanoma.

Aunque existen datos a favor de herencia de transmisión autosómico dominante (Bale et al, 1989), el patrón exacto no se ha definido todavía. Las características generales de los loci estudiados son:

1. Cromosoma 1p. Parecía existir un ligamiento significativo en los marcadores D1S47 y PND del cromosoma 1, que posteriormente sólo se ha corroborado en algunas familias, lo que da idea de la heterogeneidad genética existente.
2. Cromosoma 9p. En este caso el ligamiento parece afectar a la región 9p13-9p22, si bien recientemente se ha identificado al antioncogen u oncogen supresor MTS1 en el cromosoma 9p21 que codifica a la proteína p16, inhibidor de la ciclina dependiente de la kinasa 4. Algunas de las mutaciones que se producen en este gen, son producto de la radiación ultravioleta y su alteración determina ruptura del equilibrio entre p16 y ciclina D dando lugar a un crecimiento celular anormal. Sin embargo no está claro el porcentaje de melanomas familiares que pueden atribuirse a este gen (Newton JA, 1994).
3. Cromosoma 6p. En él se encuentran los genes que codifican el sistema HLA. Se ha descrito un aumento del riesgo de melanoma asociado a la presencia del alelo DQB1\*301 de HLA clase II (Bale SJ, 1986) y cambios en la expresión de moléculas HLA en las células de melanoma primitivo y metastásico (Lopez Nevot MA, 1986).
4. Cromosoma 11p. En él se localiza el locus que codifica al oncogén H-ras, si bien su papel no se ha establecido definitivamente en los procesos implicados en la iniciación del melanoma. (Gerhard DS 1987).

En cualquier caso y tal y como se ha reseñado recientemente, si bien la historia familiar de melanoma es un factor de riesgo significativo, el melanoma hereditario es menos frecuente de lo que actualmente se considera (Cutler C, 1996). No debemos sin embargo olvidar que este riesgo se traduce en un diagnóstico en edades más tempranas en relación con resto de la población general (Barnhill et al, 1992)

## **Sexo**

El melanoma afecta por igual a ambos sexos, aunque esta igualdad no se mantiene cuando se estudian algunas comunidades por separado. Parece ser que la incidencia y la supervivencia es mayor en mujeres que en hombres, hipotéticamente explicado por una menor demora en la consulta al especialista (Martín Casañez, 1997).

Sin embargo, existen notables diferencias entre ambos sexos en cuanto a la localización anatómica del tumor primario, con predominio de las extremidades inferiores en las mujeres y del tronco en el caso de los varones (Crombie IK, 1981). La incidencia de melanoma por unidad de área corporal es aproximadamente similar en los sitios totalmente expuestos al sol, como en la cara, que en los expuestos parcialmente, como las piernas de las mujeres y la espalda de algunos varones. En el sur de España se ha encontrado una incidencia de melanoma en las piernas de las mujeres significativamente mayor que para los varones ( $p < 0.03$ ), no hallándose diferencias respecto a otras localizaciones (Rodenas JM, 1996).

## **Edad**

El melanoma cutáneo es un tumor que puede aparecer en cualquier momento de la vida, si bien su incidencia es superior en la edad media (Alvarez de Mon-Soto, M 1997). Es sumamente interesante que las curvas de incidencia por edades son similares en las diferentes estadísticas con independencia de que las tasas de incidencia sean distintas. Esto indica que existe un factor desconocido que actúa de la misma forma sobre poblaciones diferentes con niveles distintos de incidencia (Berwick, 1998). De todas formas, y tomando las cifras en la mano, es el cáncer con mayor tasa de incidencia en los individuos de 25 a 29 años y entre los varones de 35 a 39 años (Parkin DM, 1997). El melanoma de cara presenta un aumento en la incidencia casi exponencial conforme aumenta la edad, en tanto que

en otras localizaciones el número de casos se incrementa rápidamente hasta hacerse máximo a los 50 años. La incidencia de melanoma en la infancia es baja, pero los factores de riesgo en esta edad parecen ser similares a los del adulto (Whiteman DC, 1997). No obstante, el aumento de exposición solar de tipo recreativo puede estar implicado en el aumento de la incidencia en personas cada vez más jóvenes sobre todo en áreas no fotoexpuestas (Augutsson A, 1991).

### **Medidas antropométricas**

Ocasionalmente se ha comunicado una asociación entre **talla y/o peso** e incidencia de cáncer en general o bien de melanoma en particular (Holly EA, 1995). Thune et al (Thune et al, 1995) han comunicado un aumento del riesgo de melanoma paralelo al aumento de la talla de 1,6 en varones y 1,5 en mujeres. Los autores reflejan que este aumento podría estar en relación con una estatura mayor, debida a factores nutricionales en clases sociales más altas y a diferentes hábitos de exposición solar, si bien, es un estudio con posibles sesgos al no considerar algunos factores relacionados con el riesgo de melanoma. Otros trabajos tratan de relacionar el riesgo de melanoma con el tamaño de **superficie corporal** y el número de nevus melanocíticos, sobre todo en áreas fotoexpuestas (Rieger E, 1995).

### **Raza**

El melanoma cutáneo es mas frecuente en la **raza** blanca, que en individuos de raza negra, orientales o hispanoamericanos (Cress RD, 1997). Un dato que incluso, resulta llamativo es la afectación de las zonas menos pigmentadas de la piel en individuos de raza negra, pe. palmas y plantas. El menor riesgo de presentar MC en pacientes de raza negra y oriental parece deberse a que en estas razas prácticamente no existe LMM y MES, en tanto que la menor supervivencia se relaciona con el desarrollo de MLA y MN en manos y pies, mucosas y ojos (Alvarez Mon Soto et al 1997). No obstante el riesgo atribuido a este factor se puede modificar sustancialmente cuando se ajustan los rasgos pigmentarios como factor de confusión (color de piel, ojos y pelo y reacción cutánea a la exposición solar).



## Fototipo

Se acepta que existe un **fototipo** especial asociado a una mayor predisposición para desarrollar melanoma: Personas que toleran mal el sol (Cabello rubio o pelirrojo, ojos y piel de color claro), se queman con facilidad y se broncean con dificultad. La importancia de estos factores había sido bien estudiada en el mundo anglosajón (Holman CD, 1984), pero su aplicación al fenotipo mediterráneo no se había puesto de manifiesto hasta la mitad de la pasada década (Ródenas JM, 1996). Hay que señalar que los rasgos pigmentarios relativos al color de la piel, pelo y ojos y la facilidad para quemarse o broncearse se correlacionan fuertemente. Por tanto separar sus efectos es difícil:

- a) Color de la piel: En nuestro medio los individuos que poseen piel clara en áreas fotoexpuestas presentan un riesgo de 3,4 cuando se controlan los diversos factores de confusión (Ródenas JM, 1996) similar al de otros estudios realizados (Cristofolini et al, 1987). Curiosamente si se comparaban las áreas no fotoexpuestas, controlando los diferentes factores de confusión se perdía la significación estadística.
- b) Color de ojos: El color de ojos, parece ser un factor de riesgo débil, con riesgos relativos menores de 2 y que sigue disminuyendo cuando se estudia en conjunción con otros rasgos pigmentarios.
- c) Color de pelo: El color de pelo parece aparecer en la mayoría de estudios ya comentados como un predictor de riesgo más fuerte que el color de ojos, si bien, una vez más se pierde la significación estadística cuando se valora en conjunto con el riesgo de rasgos pigmentarios (Ródenas JM, 1996).

### **Factores hormonales**

La influencia hormonal en el curso de la evolución clínica del MC es un tema que siempre ha suscitado gran controversia. No parece influir en la incidencia del melanoma, similar para ambos sexos, aunque algunos datos sugieren que pueden desempeñar un papel en la etiopatogenia. La base biológica de los efectos hormonales en el MC se sospecha por los cambios pigmentarios que suceden durante el embarazo y se considera que está en función de la presencia de receptores hormonales para estrógenos y progesterona (Driscoll MS, 1993).

Existe un consenso general que desaconseja el embarazo a la mujer que ha tenido un MC hasta 2 años después a la extirpación del mismo (Australian Cancer Network, 1997). En algunos estudios epidemiológicos se ha observado un aumento del riesgo de melanoma asociado al uso prolongado de ACO (Holly EA, 1983) no siempre confirmado (Osterlind A, 1988). El empleo de la terapia hormonal sustitutiva, también ha sido evaluado con resultados contradictorios sin que exista un estudio realmente concluyente al respecto (Holman CD, 1984; Beral V, 1984). También se han evaluado la influencia de factores reproductivos (paridad, edad de la menarquia y menopausia), en el sexo femenino, obteniendo resultados no concluyentes (Gallagher RP, 1985).

### **Factores inmunológicos**

La existencia de una respuesta inmunológica en el huésped frente al tumor se pone de manifiesto por diversos hechos clínicos, histológicos, inmunológicos y terapéuticos. Un déficit inmunitario se asocia a un aumento en la incidencia de varios tipos de neoplasias, incluidos carcinoma espinocelular, linfoma y MC. En trasplantes renales, aumenta la frecuencia de MC (Salvatella et al, 1989). Igual sucede en pacientes tratados por enfermedad de Hodgkin (Tucker, 1985). No obstante, el verdadero papel etiopatogénico que desempeña la inmunidad no se ha establecido, y se desconoce si interviene impidiendo la acción del factor carcinogénico que da lugar a la transformación maligna o bien impidiendo la progresión de los clones celulares malignizados (Castel, 1991).

### **Profesión y posición social**

Se ha descrito una asociación significativa entre la clase social y el riesgo de desarrollar melanoma (Goodman KJ, 1995, Mackie RM, 1996), siendo mayor el riesgo en las clases sociales más elevadas, lo que puede estar relacionado con conductas de riesgo para el desarrollo de melanoma como son la exposición solar aguda e intermitente y el uso de fuentes artificiales de rayos UVA. No obstante, si la incidencia es mayor, mejor también es el pronóstico, porque los individuos de clases sociales más altas tienen mayor nivel de conocimientos y mejor acceso a centros sanitarios especializados, que implican diagnósticos más precoces y tratamientos eficaces (Geller AC, 1996). Reflejar asimismo que existe una relación inversa, en un reciente estudio en la población mediterránea sobre la asociación entre los niveles de educación y el MC (Carli P, 1999).

### **Presencia de nevus**

El número de nevus, atípicos o banales, es un factor de riesgo importante para el desarrollo de MC (Berwick M, 1988). En la actualidad existen tres puntos esenciales a considerar a este respecto:

- a) Diferenciar el riesgo que representan los nevus atípicos y nevus comunes
- b) Determinar los riesgos para la aparición de nevus
- c) Determinar la existencia o no de un aumento de la prevalencia de los nevus.

Resaltamos los datos referidos a nuestra población de referencia en el que ni los nevus atípicos (OR= 3,4; CI: 0,9-12) ni los nevus comunes (OR= 2,6; CI: 0,8-8,3) tienen una asociación significativa con el MC (Ródenas JM, 1996; Ródenas JM 1997). Se ha visto que el número de nevus adquiridos, tanto comunes como atípicos, se relacionan con la exposición solar (Augustsson A, 1991). En general, el número de nevus está relacionado con la edad y el sexo y suelen aparecer alrededor de la pubertad, son más prevalentes en varones y disminuyen en las personas de edad.

No obstante es importante considerar el número de nevos como un marcador de melanoma que se emplea para identificar a las personas de riesgo a las que es pertinente enfocar la prevención secundaria (MacKie RM, 1993).

No debemos olvidar que la presencia de nevos pigmentocelulares congénitos gigantes, es un factor de riesgo para MC sobre todo cuando se localizan en áreas paravertebrales y requieren un especial seguimiento (Bouffard, 1994).

## **2. Factores de riesgo ambientales**

### **Luz solar**

La epidemiología descriptiva considera que la exposición solar es el principal factor etiológico del melanoma en poblaciones susceptibles. Existen numerosos estudios que demuestran una asociación positiva entre exposición solar y riesgo de melanoma. La cantidad e intensidad de radiación solar a que los individuos están expuestos depende en gran medida de su lugar de nacimiento, residencia y forma de vida (Ródenas JM, 1999). Los nativos residentes en Australia, de origen británico en su mayoría, tienen tasas de incidencia y mortalidad por melanoma, que duplican a las de los británicos que han emigrado a estos países con posterioridad (Cooke KR, 1985). Sin embargo debemos tener en cuenta que la cantidad de radiación que llega hasta la superficie cutánea depende de diversos factores climáticos y geográficos:

- a) *Ozono atmosférico*. El espesor de la capa de ozono varía según las estaciones aunque está sufriendo un deterioro importante. Una reducción del 1% conlleva un aumento del 3% en la radiación UV en la superficie, lo cual posiblemente redundará en un aumento de la tasa de incidencia de melanomas en próximas fechas.

- b) *Altitud*: Para una misma latitud se ha señalado un aumento de la incidencia de melanoma conforme aumentamos la altitud (Henriksen K, 1989).
  
- c) *Latitud*: En casi todo el mundo, la incidencia de melanoma en sujetos de raza blanca se relaciona inversamente con la latitud. Las tasas de incidencia y mortalidad por melanoma son generalmente mayores cerca del ecuador y disminuyen progresivamente en áreas cercanas a los polos. Estos hechos epidemiológicos podrían explicarse porque la radiación UVB aumenta con el ángulo de los rayos solares, aunque en zonas con distinta latitud puede haber la misma incidencia de melanoma por la influencia de otros parámetros como altitud, presión atmosférica, intensidad de la radiación solar, espesor de la capa de ozono,... . (Henriksen K, 1989).

Los efectos nocivos de la radiación ultravioleta confieren importancia a la localización anatómica del melanoma. La localización en cabeza y cuello es similar en ambos sexos, en tanto que en las mujeres predomina en las extremidades inferiores y en el tronco en los varones, lo que podría reflejar diferencias en el hábito de vestir y actividades recreativas que condicionan una exposición solar más intensa en dichas localizaciones para cada sexo (Elwood JM, 1974). Curiosamente excepto en la forma clínica de Lentigo maligno melanoma, el melanoma no ocurre regularmente en la piel más expuesta al sol, que sería la cara (Elwood JM, 1990).

### **Fotoexposición solar**

#### **Laboral (Exposición solar crónica)**

Las relaciones entre la fotoexposición laboral y el aumento de riesgo de desarrollar melanoma son controvertidas. De un lado existen autores que han hallado una correlación estadísticamente significativa entre el aumento de riesgo de melanoma y años de trabajo fotoexpuestos (Ródenas JM, 1996; Zanetti R, 1988) y por otra parte existen estudios donde se ha constatado una disminución del riesgo

al aumentar la exposición profesional (Holman CDJ, 1986). Todo esto parece indicar que la relación entre el tipo de exposición solar (Crónica o intermitente) es compleja y puede tener efectos diferentes en el riesgo de melanoma, debido posiblemente a un efecto acumulativo a lo largo de los años.

### **Recreativa (Exposición solar aguda o intermitente)**

Según la denominada *hipótesis de la exposición intermitente*, la piel expuesta al sol con regularidad esta protegida por su bronceado, mientras que la piel expuesta intermitentemente está menos pigmentada e indefensa frente a la radiación UV. Por ello se ha pensado, que periodos cortos e intermitentes de exposición UV intensa son más peligrosos que la exposición moderada regular (Armstrong BK, 1988). De este modo quedarían explicado algunos aspectos aparentemente discordantes en la epidemiología del melanoma; Primero, la incidencia en muchas poblaciones es igual en mujeres y hombres, aunque estos trabajen con mayor frecuencia al aire libre; segundo: la incidencia es máxima en edades medias, lo que no corresponde con el patrón que cabía esperar de una exposición durante toda la vida a un agente ambiental; tercero: es más frecuente en la espalda de los varones y en las piernas en las mujeres, que habitualmente no son las áreas más fotoexpuestas y cuarto: en algunas poblaciones el melanoma es más frecuente en personas que no trabajan al aire libre y con mayor nivel socio económico.

### **Quemaduras solares**

Es un hecho conocido que en los individuos de raza blanca con tendencia a padecer quemaduras solares, presentan mayores tasas de incidencia de melanoma. Según el trabajo recogido por diferentes autores anglosajones, parece ser que la primera etapa de la vida se establece como un periodo crítico para la acción de la radiación ultravioleta como factores de riesgo para desarrollar melanoma en la edad adulta (MacKie RM, 1982).

La tendencia a presentar quemaduras solares es una de las variables investigadas con más frecuencia sobre el tema. No obstante se trata de una variable que ha sido recogida de forma diferente según el estudio que consideremos, si bien los resultados suelen ser mucho más consistentes que con cualquier otra variable. Así, en el estudio de Ródenas y cols., referidos a nuestro medio, (Ródenas JM, 1996) el antecedente de quemaduras solares en la infancia demostró un aumento significativo del riesgo de melanoma. El riesgo presentado por los individuos que sufrían quemaduras de primer grado tras exposición solar en la infancia presentaron un riesgo de 2,4, y este se aumentaba hasta 3,6 si la quemadura era de segundo grado. Este riesgo resultaba independiente de la edad, el color de la piel y el fototipo.

Los datos obtenidos fueron coherentes con los obtenidos en otras poblaciones, pero sin perder de vista que el riesgo de melanoma se asocia con la tendencia a quemarse más que con la historia de quemadura solar per se (Holman CDJ, 1996).

### **Fuentes artificiales de radiación ultravioleta**

La moda de mantener el bronceado todo el año obliga a acudir regularmente a los llamados Centros de Bronceado (Wasterdahl J, 2000). Se ha demostrado que el bronceado artificial aumenta el riesgo de MC (Berwick M, 1998) y que se relaciona con la aparición de melanoma (Walter SD, 1992). El riesgo de MC en los individuos que hacen bronceado artificial es independiente de la exposición solar y de las características del paciente. Se calcula que este riesgo es de 7,7 (CI 1,0 a 63,6) en los menores de 30 años que toman 10 o más sesiones por año, situación análoga a aquellos pacientes que reciben PUVAterapia para el tratamiento de la dermatosis que presentan (Wasterdahl J, 2000).

También se ha descrito la aparición de MC en pacientes que se trataron con radiaciones ionizantes (Holman CD, 1996) y se debate sobre la posible influencia en la aparición de MC de ciertas lámparas fluorescentes capaces de emitir radiaciones UV con longitud de onda < 295 nm (Maxwell KJ, 1983).

### **I.3. LESIONES PRECURSORAS DE MELANOMA**

Por *lesión precursora* de melanoma se entiende a aquel tumor melánico benigno, que se sitúa en la misma localización donde posteriormente aparecerá un melanoma.

#### **1. Nevus pigmentocelulares**

Los nevus melanocíticos se consideran por muchos autores como precursores y marcadores de MC (Stadler, 1991). Un número elevado de nevus aumenta el riesgo y la mayoría de autores lo consideran el factor de riesgo personal más importante (MacKie, 1989). Muchos son congénitos, aunque la mayoría son adquiridos

#### **NEVUS MELANOCÍTICOS ADQUIRIDOS**

Todo individuo posee algún nevus de este tipo. La proporción de melanomas en los que se observan restos de nevus en el examen histológico puede variar del 18 al 85% (Skender-Kalnenas, 1995; Carli P, 1999). La exposición solar desempeña un papel importante en la formación de nevus, ya que su número máximo en áreas anatómicas es mayor que en las zonas cubiertas. Su prevalencia es más elevada en sujetos de raza blanca que en la raza negra y oriental.

La hipótesis más comúnmente aceptada es la que aboga por que nevus y melanomas se desarrollan en individuos con melanocitos genéticamente susceptibles sobre los que actúan estímulos ambientales, fundamentalmente la radiación UV.

La mayoría de los trabajos han comunicado un riesgo en torno a 3,0 en los individuos (Osterlind A 1988; Grobb JJ, 1990) con el número más elevado de nevus, si bien hay oscilaciones entre 1 y 64 según el autor consultado. El número medio de nevus melanocíticos varía entre poblaciones diferentes. En el



estudio de la población del sur de España (Ródenas López JM, 1994) se ha observado que el riesgo aumenta conforme lo hace el número de nevos como, sucede en otras áreas del mundo (Osterlind A, 1988).

Dentro de las formas anatomopatológicas de los nevos adquiridos distinguimos:

### **Nevus comunes**

- **Nevus juntural**: Los melanocitos proliferan hasta formar nidos localizados en la juntura dermo-epidérmica, expresión de crecimiento benigno. Son planos, suelen tener una pigmentación uniforme y tamaño variable.
- **Nevus intradérmicos**: Se trata de nevos elevados, planos o verrugosos, de superficie lisa, a veces fibrosa y que con frecuencia tienen pelos.
- **Nevus compuesto**: Las tecas de células névicas se sitúan en el espesor de la dermis y en la unión dermo-epidérmica, con un aspecto variable, intermedio entre las formas anteriores.

### **Nevus de Spitz**

Se define clásicamente como un tumor de evolución benigna y apariencia histológica maligna, descrito por Sophie Spitz en 1948 (Spitz S, 1948). Afecta por igual a ambos sexos y se suele localizar en piernas, tronco, cabeza y cuello. Es un nevus juntural o compuesto que se caracteriza por la presencia de melanocitos de gran tamaño, hiperqueratosis ortoqueratósica, hiperplasia epidérmica irregular, fisuras entre las tecas de melanocitos y otros cambios arquitecturales. En la mayoría se encuentran los cuerpos de Kamino. La asociación con melanomas está en entredicho (Ackermann AB, 1990).

### **Nevus de Reed**

Originalmente descrito por Reed como tumor fusocelular pigmentado, durante largo tiempo se ha considerado como una variedad del nevus de Spitz y aún muchos autores siguen considerándolo así. Clínicamente son nevus pequeños, bien delimitados, pigmentados uniformemente, situados a con mayor frecuencia a nivel de muslos en mujeres entre 20 y 30 años. Histológicamente se caracteriza por la presencia de células fusiformes agrupadas en tecas epidérmicas que pueden llegar hasta la dermis papilar sin sobrepasarla. Se acompaña de hiperplasia epidérmica e infiltrado linfocitario con melanófagos cargados de pigmento.

### **Nevus clínicamente atípicos (Nevus displásicos)**

Los nevus clínicamente atípicos o displásicos (ND) se consideran marcadores de riesgo y precursores de melanoma. La transición de nevus displásico a melanoma ha sido documentada clínica e histológicamente y se ha encontrado que en el 90% de los casos de melanoma familiar hay vestigios de ND en el tejido neoplásico (Greene MH, 1985). Sin embargo la falta de acuerdo acerca de la definición y correlación clinico-patológica del ND ha supuesto una dificultad para conocer su prevalencia exacta y criterios de tratamiento uniformes.

En la actualidad se acepta que son nevus de mayor tamaño que los nevus melanocíticos comunes, tienen una pigmentación desigual, bordes irregulares con escotadura y elevación, muy similares a los del melanoma, pero no tan marcados cuantitativamente. Aunque pueden presentarse en cualquier área se localizan con mayor frecuencia en el tronco. Comienzan a aparecer en la adolescencia y siguen desarrollándose en la edad adulta. La histología los diferencia de los nevus melanocíticos comunes por ser atípicos arquitectural y citológicamente y por las características del estroma (NIH,1992).

Se han clasificado en 4 grupos (Piepkorn M, 1989):

- ❑ Grupo A: Individuos con múltiples ND, sin historia personal de MC ni familiar de ND ni MC.
- ❑ Grupo B: Individuos con ND y antecedentes familiares de ND, pero no de MC ni familiar ni personal.
- ❑ Grupo C: Individuos con ND y MC, sin historia familiar de ND ni MC.
- ❑ Grupo D: Individuos con ND y MC y antecedentes familiares de MC. Según el número de familiares afectos puede ser:
  - a) Solo un familiar
  - b) Al menos 2 miembros de la familia

### **Nevus azules**

Se caracteriza por un acúmulo de melanocitos en la dermis por un fracaso en la emigración de las células de la cresta neural en el intento de alcanzar la unión dermo-epidérmica durante el desarrollo embrionario. Además dichos melanocitos experimentan proliferación tumoral benigna y forman masas compactas o se disponen en grupos dispersos constituyendo respectivamente: nevus azul, mancha mongólica o nevus de Ota e Ito. Cuando se desarrolla un MC sobre un nevus azul, éste suele ser de muy mal pronóstico (Serrano Ortega S, 1986).

### **NEVUS CONGÉNITOS**

Se definen como una proliferación de melanocitos en la epidermis, dermis o en ambas y aparecen ya, en el momento del nacimiento. Se han clasificado en **pequeños** si su diámetro es inferior a 1,5 cm, **medianos**, cuando su diámetro oscila entre 1,5 y 19,9 cm y **gigantes** si su diámetro es superior a 20 cm.

- **Pequeños:** Afecta al 1% de los recién nacidos de raza caucásica. El riesgo acumulado de desarrollar un MC a lo largo de la vida en un individuo que supere los 60 años es 0,8-4,9% (Rodhes AR, 1992). El tratamiento de estos nevos no plantea problemas y se realiza de acuerdo al riesgo de malignización, es decir, aquellos que se asocian a otros factores de riesgo, tengan algún signo de sospecha o no puedan vigilarse.
- **Medianos:** No se ha establecido ni su incidencia ni el riesgo de malignización, aunque debe ser intermedio entre los dos grupos restantes.
- **Gigantes:** Ruiz Maldonado estima su incidencia en 1/20.000 nacimientos (Ruiz Maldonado, 1999). Las posibilidades de malignización se sitúa en torno al 9%, siendo más plausible a edades más tempranas. Las áreas donde el MC se desarrolla con más frecuencia son las áreas paravertebrales y el tratamiento debe estar enfocado siempre desde un triple punto de vista: oncológico, funcional y estético adecuándose a cada individuo.

## 2. Otras lesiones melanocíticas precursoras de melanoma

- Nevus de Unna: Es un nevus exofítico, polipoide o verrugoso que suele aparecer en la 4ª década de la vida. Es más frecuente en mujeres. Su color oscila entre el color normal de la piel y una pigmentación marronácea discreta. No suele ser mayor de 1 cm. de diámetro. Desde el punto de vista dermatopatológico se caracteriza por la presencia de tecas en la dermis papilar y sin componente juntural. Es raro que sobre este tipo de nevus se desarrolle un MC.
- Nevus de Miescher: Es un nevus endofítico, hemisférico, duro, de superficie lisa. Tiene estructura de nevus compuesto o intradérmico y es ligeramente pigmentado o del color de la piel normal. Es más frecuente en el sexo

femenino y se localizan básicamente en la cara (90%). Su diámetro alcanza los 0,5 cms. También es raro que sobre ellos se desarrolle un melanoma.

- Nevus spilius: Es una mancha pigmentada color café con leche de límites irregulares, aunque bien definidos, sobre la que se desarrollan elementos puntiformes, maculares o lenticulares de color más oscuro. En la juntura dermoepidérmica se caracteriza por un aumento de melanocitos mientras que los elementos puntiformes se corresponden con hiperplasia melanocítica lentiginosa. Pueden asociarse a malformaciones, hamartomas, neurofibromatosis,... y su degeneración maligna es posible (Kadonaga, 1991).
- Lentigo maligno: Algunos autores consideran que se trata de un precursor del LMM mientras que otros lo consideran un melanoma in situ o como un nevus displásico con atipias severas. El 5% de los léntigos malignos progresan a LMM. (Weinstock A, 1987). Se relaciona con la exposición crónica a la radiación solar y su riesgo de desarrollar un MC, aumenta con el tiempo de exposición, daño actínico acumulado y presencia de cáncer cutáneo no melanoma (Holman CD, 1984). Es prevalente en ancianos de ambos sexos entre la 7ª y 8ª década de la vida.

Clínicamente se manifiesta como una mácula hiperpigmentada policroma de crecimiento radial excéntrico que se extiende al epitelio anexial y se sitúa básicamente en cara. En el estudio histológico se aprecia la existencia de proliferación de melanocitos atípicos dispuestos sobre la juntura dermoepidérmica en una epidermis atrófica y dermis con distintos grados de degeneración actínica.

#### **I.4. FORMAS ANATOMOCLÍNICAS**

Los melanomas pueden clasificarse en cuatro formas anatomoclínicas, que de acuerdo con Clark (Clark WH Jr, 1969) se denominan Melanoma de Extensión Superficial (SSM), Melanoma Nodular ((MN), Melanoma Lentiginoso Acral (MLA) y Lentigo maligno melanoma (LMM).

##### **1. Melanoma de Extensión Superficial**

Es el más frecuente de los subtipos en la raza blanca, con una incidencia del 70% aproximadamente de todos los casos, si bien en la población oriental apenas supone un 16% (Yamamoto A, 1997). Su localización más frecuente es el tronco y las extremidades y es la forma que se asocia con mayor frecuencia a la presencia de lesiones precursoras névicas y a las exposiciones solares de carácter intermitente. El incremento en la incidencia de Melanoma maligno se relaciona directamente con un aumento en la incidencia de este subtipo.

Aparece como una mancha plana y pigmentada, que se extiende lateral y horizontalmente de modo serpiginoso, con un contorno irregular, bordes dentados, angulados y mellados y con extensiones laterales del tumor. Es característica su policromía y en su evolución es posible el desarrollo de un nódulo de color variable cuya superficie es susceptible de ulceración, cubriéndose por una secreción serohemorrágica que se condensa en forma de costra serohemática.

Las células se distribuyen irregularmente por la epidermis. Pueden estar aisladas o agrupadas en tecas. Cuando se sitúan en las capas superiores de la epidermis no es infrecuente que se agrupen en nidos obteniendo así una configuración pagetoide. Las células suelen ser de tamaño superior al normal, con citoplasma abundante, núcleos vesiculosos, pleomórficos y nucleolos eosinofílicos. El tumor infiltrante suele adoptar un patrón epitelioides. Según la intensidad del infiltrado inflamatorio y la fibroplasia se aprecian a menudo signos de regresión parcial que pueden ayudar a dar su aspecto clínico.

## 2. Lentigo maligno melanoma

La incidencia en la raza blanca de esta forma oscila entre 1-4% según las series y se localiza predominantemente en cara y cuello, con un claro predominio por las edades avanzadas. Se relaciona con exposiciones solares de tipo continuo (Sober AJ, 1979). Este subtipo no se relaciona con frecuencia a nevus melanocíticos. Aunque se había pensado que esta forma constituía la de mejor pronóstico, a igualdad de grosor y nivel de invasión no hay diferencia en relación al resto de las formas de melanoma maligno (Van der Esch EP, 1991).

Se inicia como una lesión pigmentada plana con crecimiento horizontal y lento de 3 a 15 años, llegando a adquirir unas dimensiones que alcanzan los 3-6 cm de diámetro. La lesión premaligna sobre la cual se desarrolla ha sido denominada por algunos autores como Melanosis precancerosa de Dubreuilh, Lentigo Maligno o Peca maligna de Hutchinson, que correspondería con un melanoma *in situ*. Cuando las células atraviesan la membrana basal, invaden la dermis y es cuando podemos hablar con propiedad de Lentigo Maligno Melanoma (LMM).

La regresión es una de las características del LMM y se manifiesta en forma de color grisáceo o blanco, y en ocasiones es tan marcada, que mientras crece en un sentido, en la otra zona se observa este típico patrón de regresión. Ocasiona metástasis en el 25% de los casos (Castel et al, 1991).

Histológicamente se caracteriza por la proliferación de melanocitos atípicos agrupados en tecas, localizados en la capa basal de la epidermis y de los folículos pilosebáceos con núcleos irregulares y vacuolizaciones en el citoplasma. Al progresar la lesión, grupos de células alcanzan la unión dermo-epidérmica adoptando una forma fusocelular y aparecen características de una reacción inflamatoria con abundantes macrófagos (Cohen, 1995).

### 3. Melanoma lentiginoso acral

El melanoma lentiginoso acral (MLA) supone una prevalencia estimada entre el 2-8% en la raza blanca y se localiza preferentemente en palmas, plantas, lecho ungueal y membranas mucosas. Esta forma es más frecuente en asiáticos y en la raza negra que en los blancos (Ackerman AB, 1995). En Japón supone el 48% de todos los casos.

Tiene una fase de crecimiento radial de duración generalmente corta y casi siempre inadvertida y una etapa de crecimiento invasor, en la que suele efectuarse el diagnóstico, ya que la tendencia general es a consultar demasiado tarde (Calvin A, 1995). Tanto por su aspecto clínico como por su aspecto histológico se parece al LMM, aunque su comportamiento biológico es más agresivo y en muchos casos es evidente la existencia de metástasis en el momento de la consulta (Blessing K, 1991).

Al principio la lesión es lentiginosa, plana de color gris, más o menos oscuro con una superficie lisa, que pronto se hace hiperqueratósica y puede confundirse con una verruga viral, un callo o un botriomicoma. La ulceración se produce muy precozmente. Una variante es el Melanoma subungueal, aunque en esta localización también puede ocurrir MES y MN. Afecta por igual a ambos sexos y representa el 2-3% de todos los melanomas de raza blanca. Inicialmente suele manifestarse como melanoniquia longitudinal, asimétrica, más estrecha en el extremo distal, con una pigmentación oscura, que desborda la lámina ungueal (Signo de Hutchinson) y que a medida que evoluciona, invade y destruye la lámina ungueal. Con frecuencia se confunde con un hematoma subungueal, de crecimiento muy lento en personas de edad (Langley RGB, 1998).

Desde el punto de vista histológico se diferencia del LMM por la ausencia de elastosis y presencia a nivel histológico de hiperplasia epidérmica con acantosis y papilomatosis e hiperqueratosis muy marcada. A nivel celular se caracteriza por la presencia de melanocitos atípicos, localizados preferentemente a lo largo de la juntura dermo-epidérmica o en zonas más próximas al estrato córneo. Las células



tienen núcleos hipercromáticos, nucleolos evidentes con mitosis frecuentes y citoplasma con abundantes gránulos de melanina.

#### **4. Melanoma nodular**

El melanoma nodular (MN) es la segunda forma más frecuente y representa del 15 al 30% de todos los casos (Langley RGB, 1998). Afecta a personas de cualquier sexo y edad aunque tiene predilección por varones de edad media. Es considerada junto al MLA, una de las formas de peor pronóstico por su rápido crecimiento vertical. Esta lesión debe sospecharse ante una tumoración que se desarrolla en pocos meses, con un crecimiento vertical uniforme y una coloración negra o negro-azulada, aunque no es raro también que se presente como un nódulo amelanótico. Normalmente es simétrico en los dos ejes, su grado de vascularización es variable y no es infrecuente su ulceración. Se localiza principalmente en cuero cabelludo y en espalda en varones (Heenan PJ, 1991).

El MN invade desde el primer momento de forma vertical, sin fase de crecimiento radial y penetra en la dermis con extraordinaria capacidad infiltrante. La epidermis subyacente suele estar ulcerada, destruida o completamente reemplazada por el tumor. En su citología, vemos células con núcleos grandes, nucleolos eosinófilos, patrón fusiforme o combinados. La pigmentación es variable y puede hallarse en células tumorales o en melanófagos. El infiltrado inflamatorio es muy variable.

#### **5. Melanoma con crecimiento polipoide**

En ocasiones el crecimiento nodular, tanto en el MN, como en los nódulos de SSM y LMM, toman una morfología polipoide, con una base de implantación del nódulo menor que su diámetro y que tiene una escasa invasión en profundidad pero un gran volumen tumoral. Son los llamados melanomas polipoides, en los que, el nivel de invasión es bajo pero el espesor es muy alto y su comportamiento biológico agresivo (Alvarez de Mon Soto, 1998).

## **6. Otras formas anatomoclínicas de melanoma**

### **A. Melanoma Desmoplástico**

Son variantes de la fase de crecimiento vertical que puede proceder de la unión con LMM, MLA y de mucosas. En general, estos tumores se desarrollan asociados a Lentigo maligno sobre piel dañada por radiaciones ionizantes y sobre cicatrices de quemaduras (Egbert et al 1998; Whitaker et al 1992). Por ello su localización principal suele ser cabeza y cuello. Su coloración abarca toda la gama de grises y su palpación es firme y similar a tejido fibroso. Aparece sobre todo en la 6ª-7ª década de la vida. Se trata de variantes de melanoma muy invasivos, que se suelen descubrir con un nivel de Clark IV o V y por los menos 5 o 6 mm de espesor. No es raro que infiltre zonas perineurales y suele tener propensión a la recidiva local (Brujin et al, 1992).

### **B. Melanoma con desviación mínima**

Se define como un tumor de crecimiento nodular sin la agresividad de las células atípicas encontradas en los melanomas convencionales. Se asocia a baja potencialidad metastásica (Porrás BH, 1997). El problema es la falta de objetivos críticos para distinguir el melanoma con desviación mínima y los atípicos tumores melanocíticos con los melanomas convencionales. Este término debe aplicarse estrictamente hasta que se marquen criterios que lleguen a ser válidos para su distinción clara y precisa de melanomas convencionales y nevus atípicos.

### **C. Nevus azul maligno**

Se trata de una particular forma de melanoma que probablemente se origine en las células névicas de nevus azules, de Ota e Ito. Estas lesiones se desarrollan en la dermis y tejido celular subcutáneo, sin que la epidermis esté implicada en un primer momento. Son tumores con densos fascículos de células fusiformes, con cantidad diversa de melanina en el citoplasma, gran actividad mitótica, atipias celulares y zonas de necrosis. Hay que realizar diagnóstico

diferencial con Nevus azul de células atípicas, Metástasis de melanoma y Sarcoma de células claras (Serrano Ortega S, 1986). Suelen ser muy agresivos y en la histología es importante reconocer restos de nevus azul para el diagnóstico.

#### **D. Melanoma de mucosas.**

Incluimos como “melanomas de las mucosas” los melanomas primitivos localizados en las mucosas de cabeza y cuello (orofaríngea, nasal y de senos paranasales), mucosas genitales y del canal anorrectal. En general su incidencia es muy baja y en las series publicadas se incluye un número muy escaso de pacientes por lo que es difícil establecer la historia natural de la enfermedad así como los criterios necesarios para un tratamiento eficaz. Por ello, en muchas ocasiones, tenemos que recurrir a los criterios establecidos e internacionalmente aceptados para el manejo de los melanomas cutáneos, situación que posiblemente no sea del todo correcta.

Se acepta por todos, que los melanomas de las mucosas son más agresivos y tienen peor pronóstico que los cutáneos, situación que no sabemos si se debe a diferencias en la biología del propio tumor o simplemente, como sucede en los melanomas lentiginosos acrales, a que, por su especial localización, se diagnostican más tarde y por tanto en fases evolutivas más avanzadas de la enfermedad, lo que ensombrece el pronóstico. La supervivencia a los cinco años cuando se emplea como tratamiento sólo cirugía, en todos los melanomas, es del 79 %, porcentaje que en los melanomas cutáneos llega al 81% y en los melanomas de las mucosas sólo se llega al 25%.

## **I.5. DIAGNOSTICO**

El diagnóstico del MC es uno de los puntos clave y de suma importancia para el pronóstico. No debemos olvidar que es un cáncer que se presta a numerosos diagnósticos diferenciales, de los que destacan todos los tumores pigmentarios, tanto melánicos como no melánicos, benignos o malignos.

### **Diagnóstico Clínico**

1.- Historia Clínica: Son sumamente importantes los datos referidos a la evolución del tumor: tiempo de evolución, congénito o adquirido, modificación de tamaño, forma o color, sangrado previo o ulceración, traumatismos y sintomatología subjetiva acompañante (picor, dolor, quemazón,...). Deben recogerse los hábitos de exposición solar, relación con otros carcinógenos posibles y empleo de forma nula, intermitente o habitual de medidas de fotoprotección.

Se recogerán los antecedentes personales y familiares, haciendo especial hincapié en la historia de las lesiones pigmentadas (Wick, 1996) así como los tratamientos médicos o quirúrgicos que puedan modificar el comportamiento del tumor.

### 2.- Exámen físico

Desde el punto de vista clínico no es habitual que una lesión simétrica, monocroma, de borde regular y menor de 6 mm sea un MM. La regla del **ABCD** (**A**simetría, **B**orde irregular, **C**olor y **D**íámetro > 6 mm) define a grandes rasgos las características clínicas del MM, aunque de forma poco específica debido a que muchas lesiones pueden cumplir estos criterios y poco sensible, dado que el MM, especialmente en estadios iniciales, puede no presentar estos signos. Otros sistemas como los *7 puntos de Glasgow* (MacKie RM, 1990) y el de las *3 Cs* de Moynihan (Moynihan GD, 1994) han tenido menos fortuna.

Criterios de sospecha de MM como el cambio de su tamaño, forma, color o superficie o la aparición de una lesión nueva de rápido crecimiento, deben ser interpretados con cautela por el especialista. La mayoría de nevos melanocíticos benignos cambian de aspecto en función de la edad y otros factores como la exposición solar, sin que esto suponga ningún signo de malignidad. Podemos llegar con facilidad a la conclusión de que el entrenamiento y experiencia en la observación de tumores cutáneos es esencial para establecer el diagnóstico clínico de MC. (Malveyh J, 1998).

**Microscopía de Epiluminiscencia (EPL)** (Microscopía de superficie, Dermatoscopia, Microscopia de luz incidente, Microscopía directa de la piel).

Se define como un procedimiento de diagnóstico clínico no invasivo que emplea un sistema de ampliación de imagen, una adecuada iluminación y aceite de inmersión para observar los tumores pigmentados. Aporta criterios adicionales de gran valor diagnóstico (Pehamberger H, 1987, Serrano Ortega 1989).

Mejora la sensibilidad del diagnóstico clínico entre el 10-27%, aunque debe existir un entrenamiento adecuado para que de esta manera no disminuya la sensibilidad y especificidad del diagnóstico clínico. No obstante nunca alcanzará una sensibilidad del 100% (Menzies SW, 1996).

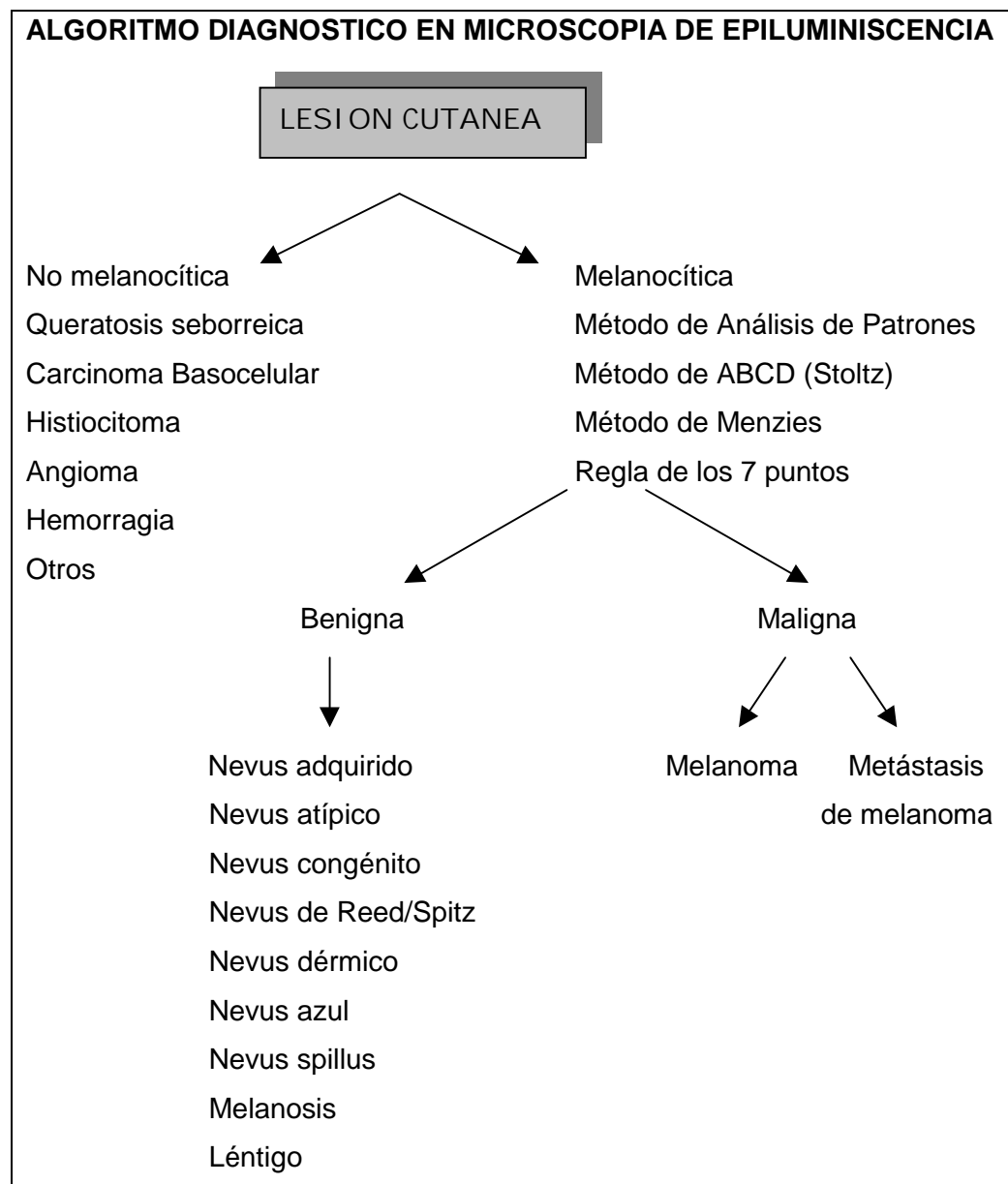
Puede realizarse con un estereomicroscopio binocular, con dermatoscopio manual y con *cámaras de contacto*, que captan la imagen, que se digitaliza y se almacena para una comparación posterior y estudio con un programa especial de análisis de imagen (Binder M, 1997).

Etapas en Microscopia de Epiluminiscencia (Fernández Pugnaire MA, 1995):

La EPL actual se ha desarrollado principalmente para el diagnóstico del melanoma y su diagnóstico diferencial con el resto de lesiones melanocíticas/ no melanocíticas que posteriormente estudiaremos. Para alcanzar un diagnóstico con EPL se requiere por lo tanto, un reconocimiento de una serie de parámetros, que

traducen estructuras anatómicas de la lesión y en definitiva características histopatológicas de la misma. Por ello dos son los pasos a tener en cuenta (**Fig.1**):

- A. *Inspección*: Determinar los signos generales del tumor pigmentado: Uniformidad, Presencia o Ausencia de pelos y/o arrugas,...



**Fig.3.** Algoritmo diagnóstico en la microscopía de epiluminiscencia

B. *Determinar ordenadamente los signos o parámetros de microscopía de epiluminiscencia propiamente dicha:*

- ❑ Pigmentación
- ❑ Patrón reticulado
- ❑ Ramificaciones lineales (Branched streaks)
- ❑ Puntos y globos de pigmento (Dots and globules)
- ❑ Pseudópodos y proyecciones radiales (*pseudopods and radial streaming*)
- ❑ Patrón azul y blanco en *vidrio esmerilado* (blue-whitish veil)
- ❑ Areas homogéneas (structureless areas) y acúmulos de pigmento (Blotches)
- ❑ Borde y silueta de la lesión
- ❑ Vascularización
- ❑ Areas en hoja de arce (Maple-leaf like areas)
- ❑ Areas con radios de rueda (spoke wheel areas)
- ❑ Areas ovoides azul-grises
- ❑ Quistes tipo milium
- ❑ Queratina
- ❑ Fisuras y criptas
- ❑ Despigmentación

Simplificando podríamos definir un patrón de tumor pigmentado benigno y tumor pigmentado maligno (**Tabla 1**).

TUMOR PIGMENTADO BENIGNO	TUMOR PIGMENTADO MALIGNO
Aspecto Uniforme y Simétrico	Aspecto no uniforme y asimétrico
Bordes regulares y difusos	Bordes irregulares cortados a pico
Color uniforme	Policromía
Ausencia de pseudópodos y proyecciones radiales	Presencia de pseudópodos y proyecciones radiales
Superficie lisa con pelos	Superficie elevada irregular
Retículo pigmentado irregular	Retículo pigmentado irregular
Distribución de puntos negros en el centro	Puntos negros en periferia
Ausencia de regresión	Zonas de regresión y depigmentación
Ausencia de capilares	Patrón vascular atípico

**Tabla 1.** Diferencias entre tumores pigmentados benignos y malignos.

Basándose en el análisis multivariante de distintos signos y patrones de EPL se han desarrollado diversos modelos para el diagnóstico de melanoma. Estos modelos son de gran utilidad para el diagnóstico de lesiones pigmentadas.



**Método ABCD** (Stoltz J,1994): Con la aplicación de este modelo se consigue una sensibilidad diagnóstica del 97,9 % y una especificidad diagnóstica del 92,2% cuando la puntuación es superior a 5,45 (**Tabla 2**).

Puntuación por:

$$\text{Asimetría} \times 1.3 + \text{Borde} \times 0.1 + \text{Color} \times 0.5 + \text{Estructuras Dermatoscópicas} \times 0.5$$

### VALORACIÓN ABCD PARA EPL

#### Valoración de la asimetría: 0-2

La puntuación se calcula valorando la asimetría respecto a 2 ejes perpendiculares en cuanto al color, los bordes y las estructuras de la lesión, siendo 0 para las lesiones simétricas, 1 para las lesiones asimétricas en un eje y 2 para las lesiones asimétricas en 2 ejes.

#### Valoración de los bordes: 0-8

La puntuación se calcula valorando la terminación abrupta de los bordes, dividiendo la lesión en 8 porciones equivalentes. La puntuación 0 corresponde a lesiones sin terminación abrupta del borde y la 8 a lesiones con terminación abrupta en todo el borde.

#### Valoración del color: 1-6

La puntuación se obtiene contando los distintos colores presentes en la lesión: blanco, tojo, azul gris, marrón claro, marrón oscuro y negro. De modo que una lesión monocroma tiene una puntuación de 1 y una lesión policroma con la presencia de los 6 colores una puntuación de 6. Debe tenerse en cuenta que el color blanco se considera como tal cuando la pigmentación es más clara que la de la piel.

#### Valoración de las estructuras dermoscópicas: 1-5

La puntuación se obtiene contando la presencia de los 5 principales parámetros estructurales en la EPL: patrón reticulado, glóbulos (al menos 1), puntos (al menos 3), áreas homogéneas (abarcando al menos el 10% de la superficie de la lesión para ser valorables) y proyecciones (englobando proyecciones radiales, pseudópodos y líneas de patrón reticulado desestructurado, al menos 3).

**Tabla 2.** Método ABCD

**Método de Menzies** (Menzies, 1996): En este método se valora la presencia de dos criterios mayores para el diagnóstico de melanoma (la ausencia de 2 signos negativos para melanoma) y la observación de al menos uno de los criterios menores (signos positivos para melanoma). En este método la sensibilidad diagnóstica es del 92% y la especificidad del 71%. (**Tabla 3**).

#### VALORACIÓN DE MENZIES PARA EPL

##### **Criterios mayores** (Deben cumplirse los 2)

1. No es una lesión monocroma (negro, marrón oscuro, marrón claro, gris, azul,... El blanco no se puntúa.)
- 2.No es una lesión simétrica

##### **Criterios menores** (presencia de al menos 1 de ellos)

- 1.Patrón reticulado prominente
- 2.Múltiples puntos azul-gris
- 3.Múltiples puntos marrones
- 4.Puntos/glóbulos negros en periferia
- 5.Proyecciones radiales
- 6.Pseudópodos
- 7.Azul gris en vidrio esmerilado. La pigmentación no puede ocupar la lesión entera y no puede estar asociada con lagunas rojo azuladas.
- 8.Despigmentación irregular pseudocicatricial
- 9.Presencia de múltiples colores (5 o +).

**Tabla 3.** Método de Menzies para EPL.

**Regla de los 7 puntos de Argenziano** (Argenziano G, 1998): La lista de los 7 puntos de EPL es una simplificación del análisis estándar de patrones debido al menor número de características a identificar y al sistema de diagnóstico por puntuación. Una puntuación total superior a 3 es indicadora de melanoma con una sensibilidad del 95% y una especificidad del 75%. (**Tabla 4**).

#### VALORACIÓN DE ARGENZIANO PARA EPL

**Criterios mayores:** Cada criterio supone una puntuación de 2

- 1.- Presencia de patrón reticulado atípico
- 2.- Presencia de azul gris en vidrio esmerilado
- 3.- Presencia de patrón vascular característico del melanoma (vascularización en punteado *dotted* o vasos lineales irregulares o telangiectasias lineales atípicas).

**Criterios menores:** Cada criterio supone una puntuación de 1

- 1.- Pigmentación difusa irregular: Acúmulos de pigmento difuso (marrón, gris o negro) con bordes de distribución irregulares y delimitación abrupta.
- 2.- Proyecciones radiales y pseudópodos de distribución irregular en la periferia de la lesión.
- 3.- Puntos y glóbulos de distribución irregular
- 4.- Presencia de patrones de regresión (zonas blancas, zonas azules o ambas).

**Tabla 4.** Método de Argenziano.

### Sistemas de Microscopia de Epiluminiscencia digitalizada

En el campo de las lesiones pigmentadas, la revolución en las técnicas por computadora ha llegado con la aplicación de los sistemas de digitalización de imágenes y en un paso más allá, la aplicación de inteligencia artificial al diagnóstico automatizado a nivel experimental.

Existe un número de lesiones malignas que no pueden ser diagnosticadas por EPL, por lo que en pacientes de alto riesgo con un gran número de lesiones con atipia, la monitorización resulta indispensable (Kittler H, 2000). La detección de cambios estructurales, el crecimiento rápido o la aparición de elementos nuevos entre controles permite el diagnóstico de melanomas en fases precoces indetectables por la clínica y microscopía de epiluminiscencia convencional. La aplicación de sistemas computerizados y de digitalización de imágenes permitirá la comparación objetiva de estas lesiones.

### **Biopsia del tumor**

1.- Biopsia escisional: Extirpación elíptica del tumor con un margen de 0,5 a 1 cm de superficie y hasta hipodermis en profundidad. Se realiza en tumores de pequeño tamaño. Presenta un importante inconveniente, ya que es necesario una reexcisión en el caso de que se confirme histopatológicamente el diagnóstico para adecuar los márgenes según los criterios vigentes. (Sober, 1992).

2.- Biopsia incisional: Extirpación incompleta del tumor, bien mediante punch, incisión elíptica de una parte del tumor o rebanado. Sólo sirve para confirmar el diagnóstico. En la actualidad se considera que no es útil ya que no aporta datos útiles desde el punto de vista pronóstico y terapéutico (Koch, 1991).

3.- Biopsia intraoperatoria: Consiste en realizar una biopsia escisional en quirófano, la cual se procesa y se informa en un breve espacio de tiempo.

## Diagnóstico histológico

El informe anatomopatológico refiere las características histológicas y diagnóstico de la pieza extirpada. Los datos fundamentales que se deben incluir son:

- 1.- Diagnóstico
- 2.- Medida del espesor en milímetros
- 3.- Márgenes: libres/ocupados
- 4.- Subtipo: SSM, MN, LMM, MP, MLA, Melanoma in situ
- 5.- Nivel de Clark
- 6.- Ulceración: presencia/ausencia
- 7.- Signos de regresión: presencia/ausencia
- 8.- Presencia de lesión precursora tipo
- 9.- Satelitosis: presencia/ausencia
- 10.- Invasión angiolinfática
- 11.- Actividad mitótica
- 12.- Infiltrado linfocitario
- 13.- Fase de crecimiento vertical vs. radial.

Una lesión se diagnostica de melanoma cuando posee una serie de atipias arquitecturales y citológicas y unos cambios histopatológicos específicos, que se correlacionan con la respuesta biológica del paciente frente al tumor, de forma que no existe un único criterio para establecer el diagnóstico.

En ocasiones, aparte de la técnica estándar de hematosilina-eosina, hay que recurrir a técnicas de inmunohistoquímica. Las más empleadas por su elevada sensibilidad y especificidad son las tinciones para la proteína S-100 y HMB45.

- a) **Proteína S-100:** Es el marcador más sensible de melanocitos. Es positivo difuso en todos los tumores benignos, MC primitivos y metastásicos incluidos los melanomas nevoides y la mayoría de los melanomas desmoplásicos. No obstante su inconveniente es la positividad que muestra para los tumores perineurales, cartilagosos, osteosarcomas, carcinomas

viscerales y ecrinos, gliomas malignos y tumores de células de Langerhans. Es un marcador que se define de alta sensibilidad y baja especificidad (Barnhill RL, 1998).

**b) Antígeno HMB-45:** Es un anticuerpo monoclonal con alta especificidad para melanoma y positivo en los melanocitos activos como por ejemplo el nevus junctural. En general no es inmunorreactivo para carcinomas, linfomas y sarcomas. No tiñe el MC desmoplásico (Barnhill RL, 1998).

**c) Otros:** Melan-A (Segundo marcador en orden de sensibilidad); XMEL, NKI/C3/NKI/beteb/Vimentina y enolasas neuroespecíficas.

Los criterios para el diagnóstico de melanoma se pueden definir por tanto según los parámetros recogidos en la **Tabla 5** (Barnhill RI, 1998):

<b>MELANOMA MICROINVASOR O EPIDERMICO</b>
<p><b>1.- Arquitectura</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Tamaño mayor de 4-5 mm</li> <li><input type="checkbox"/> Asimetría</li> <li><input type="checkbox"/> Márgenes pobremente diferenciados</li> <li><input type="checkbox"/> Pérdida de la arquitectura névica</li> <li><input type="checkbox"/> Variación en tamaño, forma y localización de las tecas</li> <li><input type="checkbox"/> Falta de cohesión de las células en las tecas</li> <li><input type="checkbox"/> Migración ascendente de las células o crecimiento pagetoide</li> <li><input type="checkbox"/> Ausencia de maduración</li> </ul>
<p><b>2.- Citología</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Celularidad atípica con células grandes, núcleos grandes, pleomorfismo e hiperchromatismo nuclear y nucleolos prominentes.</li> </ul>

<b>MELANOMA INVASOR</b>
<p><b>1.- Arquitectura</b></p> <p>□ Nódulo o placa expansiva en la dermis papilar y también infiltración difusa en la dermis reticular y grasa subcutánea.</p>
<p><b>2.- Citología</b></p> <p>Generalmente mayor atipicidad y pérdida frecuente de pigmento.</p>

**Tabla 5.** Criterios diagnósticos de MC microinvasor e invasor.

### **Diagnóstico de extensión**

#### **1.- Características del tumor primitivo (T)**

El anatomopatólogo, preferentemente aquél que esté entrenado en la visualización de lesiones pigmentadas, estudiará la pieza original y determinará: el **espesor del tumor**, éste se mide desde el estrato granuloso hasta la célula tumoral más profunda y es el mejor indicador de supervivencia en enfermedad localizada (Smolle J, 1995) y el **nivel de Clark** o grado de invasión del tumor en la piel (Clark WH Jr, 1969).

#### **2.- Afectación de los ganglios linfáticos o cadenas de drenaje (N): La técnica del ganglio centinela.**

De forma tradicional siempre ha existido polémica sobre si debe realizarse una disección ganglionar profiláctica o terapéutica. La disección ganglionar inmediata, en ausencia de ganglios palpables, sólo aumenta la supervivencia en los pacientes que tienen los ganglios invadidos. En los demás no reporta ningún beneficio y entre el 75-80% de ellos sufre una morbilidad asociada a la intervención sin beneficios (Mc Master KM, 1999). La técnica del ganglio centinela ofrece las mismas ventajas que una disección ganglionar electiva y evita sus inconvenientes.

Es un arma útil para identificar a los pacientes con metástasis ganglionares ocultas que son los que se van a beneficiar de la disección ganglionar. En los pacientes con ganglios palpables y clínicamente sospechosos se realiza la linfadenectomía, y en aquellos en que se tengan dudas razonables de la naturaleza metastásica de las adenopatías está indicada la punción-aspiración (Reintgen DS, 1998).

En 1992 Morton y colaboradores (Morton DL, 1992) publicaron una técnica nueva basada en el estudio histológico del *ganglio centinela*, primer ganglio de la cadena linfática localizado entre el tumor y el 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 ( $p= 0,008$ ) para continuar con una invasión secuencial del resto de los ganglios linfáticos de la cadena correspondiente.

La técnica consiste en inyectar, con jeringa y aguja de insulina, alrededor o en el mismo seno del tumor una sustancia que se absorbe por vía linfática y se fija y se identifica en la cadena ganglionar de drenaje. El primer ganglio es el centinela, que se extirpa y se estudia, mediante distintas técnicas si está o no invadido. El proceso tiene tres puntos clave:

- a) La sustancia inyectar
- b) Identificación de la sustancia en la cadena ganglionar
- c) Estudio anatomopatológico

En la técnica original se emplea un colorante azul vital (azul patente-V o Azul Isosulfán al 1% de Zenith Parenteral) que se inyecta en los 4 puntos cardinales del tumor y después de 20-30 minutos se hace una pequeña incisión en el área ganglionar y se busca y se extirpa el primer ganglio teñido de azul (Godellas CV, 1995). Sin embargo la técnica se ha modificado y el colorante azul se ha sustituido por un radiofármaco fácilmente identificable con un detector de rayos gamma, con lo que se mejora la sensibilidad y la especificidad. El Nanocol® (Azufre coloidal marcado con Tc 99) es la sustancia más utilizada en la actualidad. Con una jeringa de insulina se inyecta 0,1 ml (150 microcurios) en la piel de alrededor del tumor, próximo al borde o de la cicatriz de anterior extirpación biopsia, repitiendo la



inyección en cada uno de los 4 puntos cardinales. Con la radiosonda se localiza a los 20-30 minutos y se marca con el lápiz dermatográfico el punto de máxima emisión y si existe alguno que marque el 10% o más del primero. En la zona de máxima radiactividad se hace una pequeña incisión de 1,5 cms y se disecciona el tejido graso. Introducimos la sonda en la herida para identificar el ganglio que se aísla y se extirpa. A continuación se vuelve a introducir la sonda por la herida y se exploran otros focos radiactivos identificando y extirpando aquellos ganglios que emitan un número de cuentas superior al 10% de las que emita el ganglio centinela.

Estudios anatómicos clásicos demuestran un drenaje linfático generalmente ordenado en las áreas ganglionares, de forma que cada territorio cutáneo, tiene un área de drenaje más o menos bien definida. En ocasiones esto no es así. La presencia de ganglios aberrantes es posible y en oncología importante, ya que podemos centrar nuestra atención en un área ganglionar equivocada (Vidal Sicart S, 1998). Por ello se aconseja realizar linfoescintigrafía previa para conocer con exactitud la localización del ganglio centinela, ya que se encuentran ganglios aberrantes con una frecuencia similar en los melanomas localizados en el tronco y las extremidades (Lieber KA, 1998).

Aunque la contaminación radiactiva es mínima, son precisas medidas de seguridad adicionales. El material radiactivo solo lo maneja personal autorizado en el quirófano. Es precisa la existencia en el mismo de un dosímetro de ambiente y las piezas (tumor primitivo y ganglios), una vez extirpadas, se guardan en un contenedor plomado durante 24 horas, pasadas las cuales se envían al laboratorio de anatomía patológica.

Los ganglios se procesan con las tinciones habituales, hematosilina-eosina, S-100 y HMB 45 observándose si existen micro o macrometástasis. En el 4,1% de los pacientes con ganglio centinela histológicamente negativo, aparecían metástasis ganglionares en el mismo área del ganglio centinela. Cuando se revisaron estas biopsias, en el 80% de ellas, se demostraron micrometástasis ocultas por lo que es pertinente el uso de técnicas más sensibles para su detección, pe. la biología molecular. La detección de metástasis ocultas mediante

identificación de tirosinasa con RT-PCR es un método sensible y específico y ayuda sobremanera a mejorar el diagnóstico (Wang X, 1994).

La técnica del ganglio centinela ofrece la posibilidad de detectar metástasis ganglionares microscópicas (micrometástasis) por lo que un comité de expertos ha propuesto, en agosto de 2001, una nueva clasificación pronóstica y evolutiva que incluye los factores pronósticos más importantes como el TNM, espesor, presencia de ulceración, existencia de micro o macrometástasis, número de ganglios afectados y valores elevados de LDH (Balch CM, 2001).

### **3.- Investigación de metástasis a distancia**

Los pasos a seguir son:

1.- Exploración clínica: *Inspección* de toda la superficie cutánea y mucosa, dirigida fundamentalmente a la búsqueda de metástasis cutáneas, de un segundo melanoma y de nevus que puedan influir en la evolución posterior. *Palpación* ordenada de todas las áreas ganglionares empezando por el área de drenaje y continuando por las más próximas. Palpación del área abdominal (hígado y bazo).

2.- Pruebas de laboratorio: Hemograma, Bioquímica sanguínea (Incluye las pruebas de función hepática y LDH). Otras enzimas, hormonas, citocinas y la S-100 sérica se han estudiado como marcadores de progresión (Reintgen DS, 1992). La presencia de células circulantes de melanoma demostradas mediante RT-PCR es un buen marcador de progresión, aunque no siempre que se demuestren células circulantes se producirán metástasis de forma obligada (Carrillo E, 1999).

#### 3.- Estudios de imagen:

- a) Las metástasis pulmonares, (las más frecuentes y precoces tras las cutáneas), se detectan bien con la radiografía convencional de tórax, aunque el TAC tiene mayor sensibilidad y especificidad.

- b) Las metástasis hepáticas se detectan bien con ecografía y aunque el TAC sea la prueba más fiable, la simplicidad y economía de la primera se imponen como prueba diagnóstica en ausencia de síntomas.
- c) Las metástasis cerebrales se diagnostican por la clínica y se confirman con el TAC o RMN.
- d) En las metástasis óseas ocultas, no está indicado hacer un estudio diagnóstico en ausencia de manifestaciones clínicas.

El PET es un método diagnóstico que se basa en una mayor perfusión sanguínea del tejido tumoral en relación con el tejido sano que lo circunda existiendo de forma paralela, un aumento del metabolismo del tejido tumoral. Se usa un sustrato específico marcado con un radionúclido, un análogo de la glucosa y emisor de positrones (FDG) que se acumula en el melanoma, permitiendo la visualización de depósitos metastásicos que hacen de este procedimiento una técnica de diagnóstico no invasivo con elevada sensibilidad y especificidad a excepción de las metástasis cerebrales (Rinne D, 1998).

### **Diagnóstico diferencial**

Aunque el diagnóstico de melanoma cutáneo no suele plantear excesivos problemas, en ocasiones es pertinente realizar diagnóstico diferencial con otros procesos con otros tumores pigmentados que pueden inducir un error diagnóstico si no se tienen en consideración:

- a) Tumores pigmentados:
  - Queratosis seborreica
  - Epitelioma basocelular pigmentado
  - Léntigo
  - Nevus pigmento celular
  - Angioqueratoma negro solitario

b) Tumores no pigmentados:

- Botriomicoma (Granuloma piogénico)
- Acantoma de células claras

## **I.6. HISTORIA NATURAL DE LA ENFERMEDAD**

La etiopatogenia del melanoma es un complejo proceso biológico, durante el cual se producen alteraciones moleculares en las células neoplásicas que influyen en su activación y proliferación. Estas alteraciones le confieren una capacidad biológica distinta caracterizada por su intensa y descontrolada capacidad de proliferación.

En las células de melanoma se ha descrito la existencia de distintas alteraciones genéticas, con reordenamientos clonales en los cromosomas 1,6 y 7 con el 83, 66 y 61% respectivamente. No son las únicas alteraciones moleculares encontradas y por ello se piensa que es necesario la acumulación de múltiples alteraciones genéticas para que la enfermedad se desarrolle (Alvarez de Mon, 1997).

### **INDUCCIÓN TUMORAL**

Diferentes agentes etiológicos han sido propuestos como inductores del melanoma cutáneo. La radiación solar en su banda UV es la que ha demostrado en diferentes estudios la mayor capacidad para inducirlo (Longstreth JD, 1998) y la interacción con los melanocitos cutáneos se manifiesta en diferentes niveles:

- a) Produce cáncer de piel melanoma y no-melanoma en animales expuestos
- b) Interviene en la supresión de la respuesta inmune
- c) Ocasiona daño en el ADN melanocitario
- d) Estimula la producción de melanina y las mitosis de los melanocitos.

### **PROGRESION Y DISEMINACION TUMORAL**

El melanocito depende en su crecimiento de diversas señales que modulan los niveles de transcripción de diferentes genes así como su actividad metabólica. Los factores de crecimiento han sido los mejor estudiados. Estos se sintetizan de forma anómala y ello repercute en la biología reproductiva del melanocito. Quizá el más estrechamente relacionado es el bFGF o el factor de crecimiento de los

fibroblastos, aunque no podemos olvidar la participación de otros como el factor de crecimiento de hepatocitos, la insulina o factores de crecimiento tipo insulina.

Las citocinas según su actividad se pueden dividir en:

a) Con actividad estimulante del crecimiento:

- El bFGF es un factor mitogénico que parece tener un efecto paracrino mitogénico, mientras que otros autores sugieren un concurso autocrino del mismo.
- MGSA/GRO (Citocina estimuladora del crecimiento del melanoma)
- IL-8

b) Con potencial actividad estimulante del crecimiento:

- Factor de crecimiento transformante alfa (TGF-alfa)
- Factor de crecimiento epidérmico
- Factor de crecimiento de las plaquetas (Con actividad autocrina)
- IL-1

c) Con actividad inhibidora del crecimiento:

- IL-6
- Factor de crecimiento de colonias granulocito-macrófago.

En la progresión de la enfermedad tumoral, no sólo es determinante la capacidad de proliferación de las células malignas sino también la capacidad de mantener la viabilidad, induciendo la neoformación de vasos necesaria, para asegurarse los factores nutricionales necesarios para mantener su crecimiento. La capacidad de infiltrar tejidos próximos e invasión vascular (sanguíneo o linfático) también determinarán la relevancia de cara a progresar tanto local como sistémicamente.

La neoangiogénesis es un proceso más intenso en los melanomas con grosor de Breslow mayor de 1 mm y está directamente relacionado de forma lógica con la capacidad de desarrollar metástasis. Su regulación está determinada básicamente por el bFGF y TGF entre otros. La separación de células del melanoma del tumor primario se asocia a la pérdida de expresión de cadherinas y señales de interacción que las fijan al tejido. De forma simultánea la secreción de proteinasas y la expresión de receptores para la matriz extracelular determina la infiltración de la pared vascular por las células tumorales. Los receptores para la matriz extracelular del grupo de las moléculas de adherencia (integrinas), regulan no sólo el paso de las células de melanoma a través del intersticio, sino también la interacción con la membrana basal vascular.

En los melanomas que avanzan a la fase de crecimiento vertical, invasivos, pero localizados, con alta capacidad metastásica, se caracterizan porque las células comienzan a expresar el receptor  $\alpha_4\beta_1$  de la fibronectina, que favorecería su interacción con la molécula de adhesión celular VCAM-1. Resultados similares se han descrito con otras integrinas tales como  $\alpha_1\beta_1$ ,  $\alpha_2\beta_1$ ,  $\alpha_6\beta_1$  y  $\alpha_7\beta_1$ . La función de las integrinas en la invasión o metástasis tumorales parece no sólo implicarse en los fenómenos de adhesión sino también en los de activación y movimiento.

Otro aspecto relevante de la diseminación tumoral son los factores implicados en la localización de las células tumorales circulantes en distintos órganos que se produce de forma no homogénea. En el melanoma existe una marcada predisposición para desarrollar metástasis hepáticas. Diversos receptores de adherencia de las células endoteliales y tumorales participan en la fijación y posterior desarrollo de este proceso de metastatización. Esta capacidad de adherencia es distinta en las células endoteliales de diferentes órganos.

Diversas moléculas están implicadas en la regulación de las diferentes funciones celulares, incluyendo algunas de carácter autocrino. Se ha encontrado que algunas células de melanoma secretan una proteína de 60 Kda con actividad quimiotáctica. Otro factor es la autotaxina de 120 Kda, con capacidad de inducción sobre la movilidad de las células de melanoma. Estas células responden además a moléculas de la matriz tisular como fibronectina, vitronectina, laninina, colágeno I y

IV y trombospondina. Resultados similares se han observado con factores de crecimiento tipo insulina (I y II) cuyos receptores se expresan en la superficie de las células del melanoma.

### **INTERACCION ENTRE LA CELULA TUMORAL Y EL SISTEMA INMUNE**

La acción de los componentes moleculares y celulares del sistema inmune frente a las neoplasias y frente al melanoma comienza con el reconocimiento de los antígenos asociados a la transformación tumoral que no se comparten con otros componentes del organismo. De esta manera los linfocitos T helper experimentan un proceso de multiplicación y segregan diferentes citocinas que amplifican la respuesta inmunológica. El primer paso es la activación de los linfocitos T citotóxicos, que reconocen a los antígenos tumorales y pueden mediar la lisis de las células neoplásicas. Asimismo se estimulan clones específicos de linfocitos B, que se diferenciarán a células plasmáticas y se favorece también la actividad lítica de células citotóxicas NK, macrófagos y granulocitos. Las células NK poseen la capacidad de reconocer directamente a las células tumorales sin restricción por el complejo HLA ni por sensibilización previa.

El escape tumoral se deberá por tanto no sólo a la capacidad que las células neoplásicas tienen de enmascarar sus antígenos o incrementar su capacidad proliferativa sino a la incapacidad del sistema inmune de dar una respuesta adecuada así como factores de localización anatómica, irrigación,... que en definitiva determinan el micromedioambiente entre la célula neoplásica y su entorno tisular.

### **ANTIGENOS ASOCIADOS A MELANOMA**

Existen evidencias clínicas y experimentales de que, en la membrana de las células del melanoma existen diversos antígenos asociados a su transformación maligna que pueden ser reconocidos por linfocitos B o T:

- Proteínas del gen MAGE
- MZ2-E



- MZ2-D
- Tirosinasa
- MART-1 (Antígeno de melanoma reconocido por los linfocitos T)
- Gp100
- P97 (sialoglicoproteínas relacionada estructuralmente con la transferrina)
- Antígeno de alto peso molecular: Glicoproteína implicada en el desarrollo de las metástasis de melanoma.

### **RECONOCIMIENTO DEL MELANOMA POR EL SISTEMA INMUNE**

El complejo proceso de activación de linfocitos T no solo requiere la adecuada interacción del receptor clonotípico con el antígeno, sino la simultánea señalización generada por la unión de otros correceptores con sus correspondientes moléculas en la superficie de la célula diana. El desarrollo de este sistema de interacciones determina anergia de las células T o incluso sus apoptosis.

La expresión de antígenos asociados a la transformación tumoral de los melanocitos se relaciona con la infiltración peritumoral de células accesorias, linfocitos T, B y células NK. Existen linfocitos T CD4 y CD8 específicos frente a esos antígenos, los cuales se activan con secreción en cascada de citocinas implicadas en la regulación de la respuesta linfocitaria. Asimismo también existen anticuerpos específicos lo que significa respuesta humoral mediada.

No obstante aunque la indemnidad funcional del sistema inmune es un eficaz mecanismo de control de la proliferación de las células del melanoma, existen pacientes con deficiencias funcionales en las subpoblaciones linfocitarias, deficiencias en la producción de citocinas, defectos en la capacidad lítica de las células efectoras citotóxicas,... lo cual redundaría en la idea de la existencia de una inmunodeficiencia asociada al melanoma que parece estar implicada en el desarrollo y progresión de la enfermedad.

## **I.7. ESTADIAJE DE LA ENFERMEDAD. SISTEMAS DE CLASIFICACION**

El estadiaje correcto del paciente, tanto para la detección de tumores de *alto riesgo* como para la detección precoz de la enfermedad locorregional o a distancia es indispensable para conseguir mejores resultados en el tratamiento de la enfermedad. La clasificación en estadios de la OMS, actualmente en desuso, consideraba tres grupos de pacientes:

- I. Enfermedad localizada
- II. Enfermedad con afectación locorregional
- III. Enfermedad con metástasis a distancia

Debido a que en la actualidad el 80% de las lesiones se diagnostican en estadio I (Localizado), el American Joint Comitee on Cancer (AJCC) y la Unión Internacional contra el cáncer (UICC) en aras de la necesidad de seleccionar a los pacientes de alto riesgo de recidiva después de la cirugía tumoral y ganglionar para realizar tratamiento adyuvante con inmunoterapia, han introducido recientemente una clasificación por estadios en la que se consideran nuevos parámetros y se reconsideran algunos viejos, como el nivel de Clark, que es dependiente del espesor en la mayoría de estudios realizados (**Tabla 6**). (Balch CM, 2001).

### **1. Clasificación T**

T1	< o = de 1mm	a: sin ulceración y/o nivel II/III b: con ulceración y/o nivel IV/V
T2	1.01-2.00 mm	a: sin ulceración b: con ulceración
T3	2.01-4.0 mm	a: sin ulceración b: con ulceración
T4	> 4.01 mm	a: sin ulceración b: con ulceración

**2. Clasificación N**

N1	1 ganglio	a: micrometástasis b: macrometástasis
N2	2-3 ganglios	a: micrometástasis b: macrometástasis c: metástasis en tránsito/ satelitosis sin ganglios +
N3	4 o + ganglios positivos Metástasis en tránsito/ Satelitosis Melanoma ulcerado + Ganglios positivos	

**3. Clasificación M**

M1	Metástasis a distancia en piel, subcutáneo o ganglios linfáticos.	LDH normal
M2	Metástasis pulmonares	LDH normal
M3	Metástasis en otras vísceras o cualquier metástasis a distancia.	LDH normal LDH elevada

**Tabla 6.** Clasificaciones T,N y M (Balch CM,2001).

Definidas cada una de las categorías que corresponden al tamaño del tumor (T), afectación de los ganglios linfáticos (N) y la metastatización (M) previamente descritas, el estadiaje propuesto para los diferentes grupos de melanoma cutáneo (MC) se expone en la siguiente tabla (**Tabla 7**).

**ESTADIAJE CLINICO****ESTADIAJE HISTOLOGICO**

<b>0</b>	Tis	N0	M0	<b>0</b>	Tis	N0	M0
<b>IA</b>	T1a	N0	M0	<b>IA</b>	T1a	N0	M0
<b>IB</b>	T1b T2a	N0	M0	<b>IB</b>	T1b T2a	N0	M0
<b>IIA</b>	T2b T3a	N0	M0	<b>IIA</b>	T2b T3a	N0	M0
<b>IIB</b>	T3b T4a	N0	M0	<b>IIB</b>	T3b T4a	N0	M0
<b>IIC</b>	T4b	N0	M0	<b>IIC</b>	T4b	N0	M0
<b>IIIA</b>	Cualquier T1-T4a	N1b	M0	<b>IIIA</b>	T1-T4a	N1a	M0
<b>IIIB</b>	Cualquier T1-T4a	N2b	M0	<b>IIIB</b>	T1-T4a T1-T4a	N1b N2a	M0
<b>IIIC</b>	Cualquier T	N2c N3	M0	<b>IIIC</b>	Cualquier T	N2b N2c N3	M0
<b>IV</b>	Cualquier T	Cual- quier N	Cual- quier M	<b>IV</b>	Cualquier T	Cual- quier N	Cualquier M

**Tabla 7.** Clasificación por estadios (Balch CM,2001).

## **I.8. FACTORES DE PRONOSTICO**

El pronóstico del MC está definido por una serie de factores, unos propios del tumor y del individuo que lo padece y otros inherentes a las células tanto del tumor como de la respuesta que generan en el organismo. Se pueden dividir en:

- a) Factores pronósticos clínicos
- b) Factores pronósticos anatomopatológicos

Estos factores sirven para predecir el buen o mal pronóstico y por tanto la buena evolución o la probabilidad de aparición de metástasis. Algunos de estos factores son más eficaces como predictores de la evolución en determinados estadios evolutivos de la enfermedad (Stadelmann WK, 1998).

### **Factores de pronóstico clínico**

Se definen como factores de pronóstico clínico aquellos que se obtienen por la historia clínica o por la exploración física o instrumental tanto del paciente como del tumor.

#### 1.- Sexo

La incidencia de MM es similar en ambos sexos, si bien el pronóstico es relativamente mejor en las mujeres que en los hombres. Tradicionalmente estas diferencias se atribuían a factores de índole hormonal, aunque posteriormente se ha comprobado que su influencia no es tan fuerte como en un primer momento se había postulado. La hipótesis que entonces se plantea hace referencia a otros factores, como la localización preferente en extremidades inferiores, menor espesor de Breslow y menor índice de ulceración (Balch, 1992).

El riesgo de metastatización es variable por tanto según el sexo y en nuestro medio la ratio se sitúa en 1,7:1 favorable al sexo femenino (Martín Casañez E, 1998).

## 2.- Edad

Los pacientes de mayor edad presentan una incidencia de lesiones de mayor grosor y al estar esta variable directamente relacionada con el pronóstico, la edad no influye en la supervivencia de manera similar a otros factores considerados una vez se analizan los diferentes sesgos. En nuestro medio no se ha encontrado ninguna asociación entre la edad y la aparición de metástasis (Martín Casañez, 1998).

Es interesante reflejar en este punto el estudio de Butow et al (Butow, 1996) en relación con el pronóstico del melanoma maligno en adolescentes. El aumento del MC en niños parece ser debido al efecto de la radiación ultravioleta. Se trata en su mayoría de Melanomas de Extensión Superficial de un grosor  $> 0,75$  mm (Nivel III-IV de Clark) y si bien la supervivencia media es menor que la del adulto, no existen datos estadísticamente significativos a favor de un peor pronóstico.

## 3.- Tamaño del tumor

Existen diferentes estudios que han tratado de establecer un concepto básico en relación con el tamaño, bien sea mediante la determinación de volumen, bien mediante el estudio del área ocupada. La conclusión es sencilla y redundante, tumores grandes tienen peor pronóstico, casi siempre, por hallarse ligados a mayor grosor.

## 4.- Localización

La localización anatómica del tumor es un factor pronóstico importante (Balch CM, 1992).

La mayoría de los autores aceptan que ante dos lesiones de igual grosor, tendrá peor pronóstico la que se localiza en el cuero cabelludo, manos o pies. También se acepta que los pacientes con MM en las extremidades presentan mejor pronóstico que los aparecidos en el tronco, la cabeza o el cuello.

Las llamadas áreas BANS/TANS (Zona superior de la espalda/Tronco, brazo, cuello y cuero cabelludo) parecen conferir peor pronóstico (Kopf AW, 1987), si bien no todos los autores están de acuerdo al respecto (Evans GRD, 1994). Por ello no está clarificado que la clasificación en áreas anatómicas permiten una aproximación pronóstica fiable (McCarthy WH, 1998).

En general, los tumores que se localizan en zonas poco visibles son más gruesos que los que se localizan en zonas visibles y por tanto, tienen peor pronóstico. La causa es que los melanomas de las zonas cubiertas se diagnostican más tarde (Hemo Y, 1999).

#### 5.- Tiempo de evolución

El tiempo de evolución se define como el tiempo transcurrido desde que el paciente nota el primer síntoma hasta que se realiza el primer tratamiento. Debido a la existencia en las diferencias evolutivas entre los distintos tipos de MC, es un dato difícil de recoger y no suele figurar entre los factores pronósticos (Kopf AW, 1987).

#### 6.- Historia de exposición al sol

No podemos negar que la relación entre melanoma y sol es evidente (Elwood JM, 1996). De hecho, se ha demostrado en animales, que la exposición a radiación ultravioleta aumenta el espesor de los tumores por disminución de la respuesta inmune.

#### 7.- Historia personal y familiar de melanoma

Los pacientes con historia personal de melanoma tienen 9 veces más posibilidades de padecer otro melanoma cutáneo (Rodees AR, 1987). La historia

familiar de melanoma también se considera factor de riesgo aunque de mejor pronóstico, porque suele conllevar mayor precocidad en el momento de la consulta.

#### 8.- Embarazo

Entre el 30-35% de las mujeres que desarrollan un melanoma, están en edad fértil. Debido al hallazgo de receptores de estrógenos en algunas líneas de melanoma y al aumento de pigmentación de los nevus durante el embarazo, se ha especulado sobre la mayor agresividad de la enfermedad durante la gestación. Sin embargo se ha demostrado que no existen diferencias estadísticamente significativas en el grado de afectación ganglionar o en el tiempo libre de enfermedad y supervivencia durante el embarazo (Wong JG, 1989).

#### 9.- Forma anatomoclínica

La tendencia general de la secuencia, de peor a mejor pronóstico de las distintas formas anatomoclínicas sería: MN, MLA, SSM y LMM (Brown M, 1997), aunque el valor pronóstico de la forma anatomoclínica estaría en función de la forma de crecimiento y por tanto del espesor (Kopf AW, 1987). Cuando un LMM invade la dermis, su curso y pronóstico es similar al de las otras formas clínicas (Albert LS, 1990).

#### 10.- Presencia de nevus

El papel pronóstico del número de nevus parece estar claro y se hecho en nuestro medio (Martín Casañez E, 1998) los pacientes con MC con número de nevus superior a 50, padecían metástasis con una frecuencia 5 veces superior. No obstante también se ha demostrado, que cuando un melanoma se desarrolla sobre un nevus preexistente, el pronóstico es mejor (Carli P, 1999).



## 11.- Recidiva tumoral

La recidiva local del tumor supone un empeoramiento del pronóstico, de forma que la supervivencia a los 5 años se reduce a un 75% en algunos estudios. Las recurrencias se producen en la mayoría de los casos en los cinco años posteriores a la exéresis del tumor primario pero, en algunos casos, pueden tardar más de 10 años en producirse (Ames FC, 1992).

### **Factores de pronóstico histológico**

#### 1.- Espesor del tumor

El espesor del tumor (Breslow A, 1970) se define como la medida comprendida entre el estrato granuloso de la epidermis hasta la célula tumoral más profunda. Es, en la actualidad, el mejor indicador de supervivencia en los estadios iniciales, aunque su medición está dificultada cuando el tumor está ulcerado o existen fenómenos de regresión. En general, la supervivencia disminuye a medida que aumenta el espesor del tumor hasta un estancamiento en dicha progresión cuando se alcanzan los 6 mm (Buttner P, 1995).

El espesor del tumor se correlaciona con el riesgo de metástasis ganglionares, de recidivas locales y de metástasis en tránsito, por lo que es uno de los parámetros fundamentales que se han utilizado para establecer los beneficios/perjuicios de la Disección ganglionar ampliada y los márgenes de extirpación (Balch CM, 1992).

#### 2.- Ulceración

El melanoma, como otros tumores, en su crecimiento va a experimentar fenómenos de anoxia que determinarán necrosis, cambios en la arquitectura del tumor y neoformación vascular. Esto representa, en definitiva la causa de la ulceración tumoral y en nuestro medio (Martín Casañez E, 1998) el riesgo de

metastatización es 2,5 veces superior en aquellos tumores ulcerados, siendo parejo a las cifras presentadas en otros estudios (Gordon LG, 1991).

### 3.- Nivel de Clark

El valor pronóstico del espesor de Breslow (Breslow A, 1970) es superior al del nivel de invasión de Clark (Clark WH, 1969). De hecho, la mayoría de los estudios encuentran que el nivel de microinvasión de Clark, no resulta significativo, cuando se considera el espesor en milímetros de la lesión, aunque sí lo es en el caso de lesiones delgadas de zonas con poco grosor cutáneo. En la clasificación actual de la AJCC no se considera el nivel de Clark salvo en el estadio I (Balch CM, 2001).

### 4.- Signos de regresión

No existen datos concluyentes sobre el valor pronóstico de los signos que identifican una regresión parcial o una regresión total del melanoma, por lo que es pertinente ser extremadamente prudentes cuando nos enfrentamos con un melanoma con signos de regresión (Johnson TM, 1995).

### 5.- Presencia de infiltrado peritumoral

La presencia de un infiltrado de células linfoides rodeando el tumor no implica que se esté produciendo una respuesta citotóxica eficaz y su dependencia o independencia respecto a otras variables es motivo de discusión que es referido por algunos autores como factor de mal pronóstico. (Mascaró J, 1987).

### 6.- Actividad mitótica

Es un factor pronóstico que suele estar relacionado con el espesor de Breslow. El límite se marca en la presencia o no de más de 5 mitosis por mm<sup>2</sup> reduciéndose a la mitad en el primer caso la posibilidad de supervivencia del individuo (Rigel DS, 1991).

El índice mitótico (Schmoeckel C, 1978) se define como el resultado de multiplicar el número de mitosis por  $\text{mm}^2$  por el espesor del tumor y para algunos autores tiene un valor pronóstico superior a cada uno de los dos factores considerados independientemente. Cuando el índice mitótico es superior a 18 la supervivencia es del 23% mientras que cuando es inferior asciende hasta el 85% (Alvarez de Mon, 1997).

#### 7.- Tipo celular

Existen dos formas celulares que han sido consideradas de buen pronóstico: Tumores de células fusocelulares y Melanoma con desviación mínima (Day CL, 1992), aunque no existen datos definitivamente concluyentes.

#### 8.- Invasión vascular

Tanto la invasión de la red arteriovenosa, como la invasión linfática son considerados factores de mal pronóstico (Thorn M, 1994). Representa la puesta en circulación de las células tumorales. No significa que irremisiblemente haya de producirse una metástasis, ya que deben sortear los efectos mecánicos de las turbulencias del sistema circulatorio, adherirse a las paredes de los vasos e invadir y perforar la pared vascular (Carrillo E, 1999).

#### 9.- Microsatelitosis

Se definen como nidos de células tumorales en la dermis reticular o en el tejido celular subcutáneo, separado del tumor, por una porción de tejido sano y que miden más de 0,05 mm de diámetro. Su presencia es un marcador de metástasis ganglionares, ya que en el 53% de los casos, éstas se hallan presentes (Harrist TJ, 1984). De manera análoga sucede con las metástasis viscerales y óseas (Leon P, 1991).

## 10.- Fase de crecimiento

En la fase de crecimiento radial la supervivencia es del 100% y disminuye progresivamente conforme el tumor va profundizando. Su valor pronóstico está en relación con el espesor y los niveles de invasión, aunque en algunos estudios posea un valor independiente (Brown M, 1997).

### **Factores de pronóstico molecular**

#### 1. Moléculas de adhesión

La estimulación de la neovascularización y la capacidad de las células del tumor para adherirse a las membranas basales del endotelio vascular mediante moléculas de adhesión es de gran trascendencia para la progresión tumoral y su identificación son factor de mal pronóstico (Moretti S, 1992).

- a) *Integrinas*: Participan en el reconocimiento de las células tumorales por parte del sistema inmune. Los cambios en su expresión se relacionan con la progresión de la enfermedad. En los MC en la fase de crecimiento vertical comienzan a expresarse las integrinas  $\alpha_1\beta_1$ ,  $\alpha_2\beta_1$ ,  $\alpha_4\beta_1$ ,  $\alpha_6\beta_1$  y  $\alpha_7\beta_1$  favoreciendo la adhesión con diversas moléculas de adhesión celular, entre ellas la VCAM-1.
- b) *Cadherinas*: Son moléculas que intervienen suprimiendo la invasión vascular. La pérdida de expresión de las cadherinas D y E se asocia a mal pronóstico (Tang A, 1994). Simultáneamente se expresan nuevas cadherinas, que podrían estar relacionadas con la capacidad de metastatización.
- c) *Moléculas de adhesión de la familia de las inmunoglobulinas*: La expresión de ICAM-1 aumenta a medida que se desarrolla el melanoma (Jonson JP, 1989) y por tanto se considera factor de mal pronóstico.

## 2. Metabolitos de melanina

El metabolismo de la melanina es una vía metabólica exclusiva del melanocito. La detección de niveles elevados de ácido 6-hidroxi-5-metoxindol-2-carbónico se incrementa en tumores de mayor grosor y especialmente en los estadios III y IV (Hara H, 1994).

## 3. Marcadores inmunológicos

La detección de marcadores tumorales que sean capaces de activar la respuesta inmunológica del huésped como la Tirosinasa, gp100, MART1a, proteínas MAGE y pme117 o antígenos de moléculas de gangliósidos (GD2, GD3, O-Ac-GD o GM2) pueden indicar una mejor respuesta a la inmunoterapia.

La pérdida de expresión de antígenos HLA de clase I y II puede asociarse a la transformación maligna de las células melanocíticas. Algunas moléculas HLA II como HLA DR y DP se incrementan en la fase de crecimiento vertical del tumor.

La presencia de interleuquinas IL7, IL8, IL1 y FNT en el tumor suponen una reacción del huésped contra el tumor y son un factor de buen pronóstico (Bohn M, 1993). Receptores de factores de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento de transformación Beta2 y el factor de crecimiento *insulina like* (IGF-I) parecen correlacionar con tumores más invasores y metástasis. Otros marcadores, como la calcilina (Antígeno asociado a melanoma de alto peso molecular) se expresan con gran intensidad en las metástasis. La identificación de subpoblaciones linfocitarias de linfocitos T citotóxicos en los infiltrados intratumorales supone también un factor pronóstico favorable (Bachelier H, 1992).

## 4. Antioncogenes

La división de las células tumorales se produce de forma anárquica con aumento del índice mitótico a medida que progresa la enfermedad. Si el ciclo celular está controlado por complejos proteicos formados por ciclinas y kinasas

dependientes de ciclinas, inhibidos por una serie de proteínas, la alteración de éstas se traducirá en cambios en el ciclo celular propios del periodo de inducción y progresión de la enfermedad.

**p16:** El gen supresor p16<sup>INK4a</sup> que codifica la proteína p16 interviene de forma negativa en la regulación del ciclo celular. Impide el paso de la fase G1 a la fase S al actuar sobre los complejos CDK4 y CDK6. Su activación parece estar relacionada con la radiación solar y su pérdida de expresión está asociada de forma significativa con una reducción del tiempo libre de enfermedad y de la supervivencia global (Straume O, 1997) y por tanto con la progresión de la enfermedad (Chang TG, 1997).

En MLA los niveles de expresión de p16 no tienen ningún significado pronóstico (Chana JS 2000). Pero al igual que con p53, parece que su pérdida de expresión en la fase de crecimiento vertical se correlaciona con la proliferación celular (Ki-67 positivo) y es un factor de mal pronóstico independiente (Straume O, 2000).

**p21:** La p21 es un inhibidor de ciclinas independiente de kinasas y el gen que la codifica, localizado en el cromosoma 6 regula de forma negativa el crecimiento del melanoma, la progresión de la enfermedad y la aparición de metástasis. Sus cambios a lo largo de la enfermedad son independientes de p53 según algunos autores, mientras que otros lo asocian de forma estadísticamente significativa y consideran que una expresión elevada o aumentada de p21 se asocia con buen pronóstico (Karjalainen JM, 1999).

**p53:** Todas las características de p53 se comentarán más adelante.

## 5. Cambios citogenéticos

Mediante citometría de flujo se ha demostrado el valor pronóstico de la determinación cuantitativa de ADN: El nivel de invasión, el espesor tumoral y la ulceración son otros factores que se han correlacionado estrechamente con la aneuploidía tumoral.

Existen por tanto una serie de factores que se han considerado factores de mal pronóstico independientes y que se relacionan de forma directa con la aparición de metástasis y de forma inversa con la supervivencia y el periodo libre de enfermedad (Stadelmann WK, 1998), entre los que incluimos:

- aneuploidia, líneas hipertetraploides y fase S más larga
- volumen nuclear (Brown CD, 1995)
- organizadores nucleolares (Ordoñez Gallego A, 1998)
- alteraciones cromosómicas diferentes (Trent JM, 1990)
- oncogen ras (relacionado con la fase de crecimiento vertical) (Ball, NJ, 1994)
- alteraciones del protooncogen c-myc (Spencer CA, 1991).

#### 6. Detección de células circulantes

Para la detección precoz de metástasis a distancia existen técnicas muy sensibles y específicas de laboratorio, que en un futuro, muy probablemente se puedan aplicar de forma rutinaria. La técnica de detección de la tirosinasa en sangre periférica con PCR supone un método diagnóstico de gran interés, que permite la detección con gran sensibilidad de células de melanoma circulantes en pacientes con riesgo de recidiva tumoral, especialmente en enfermos con tumores de alto riesgo y aparentemente libres de enfermedad. Resulta asimismo un marcador de mal pronóstico en pacientes con enfermedad diseminada (Mellado B, 1996; Carrillo E, 1998).

Otro marcador de micrometástasis es la proteína S-100, la cual se localiza en tejidos del Sistema Nervioso Central y LCR. Recientemente se han publicado trabajos en los que se demuestra la especificidad de la detección cuantitativa de S-100 en sangre periférica de pacientes de MM para determinar la existencia de extensión de su enfermedad y la respuesta al tratamiento con quimioterapia en enfermedad metastásica (Schoultz E, 1996).

## 7. Angiogénesis

La densidad de microvascularización no se relaciona por igual en todos los estudios como marcador de mal pronóstico y por lo tanto como índice de supervivencia. Parece que si pudiera ser un factor predictivo de metástasis en melanomas de hasta 4 mm de grosor y se asociaría a fenómenos de regresión (Vlaykova T, 1997).

La expresión de VEGF (vascular endotelial growth factor) se considera un factor de mal pronóstico que se relaciona con la fase de crecimiento vertical (Marcoval J, 1997).

## 8. Receptores hormonales

Como ya hemos mencionado anteriormente, el papel de los receptores estrogénicos en la iniciación y progresión del MC no está perfectamente definido. Los datos epidemiológicos parece establecer una correlación favorable o de buen pronóstico. No parece estar relacionada con las características histológicas del tumor, lo que redundaría en su consideración como factor pronóstico independiente (Walter MJ, 1991). Los estudios más recientes sin embargo no son en absoluto concluyentes (Duncan LM, 1994).

## 9. Células de infiltrado

La inmunorreactividad mediada por antígenos melanocitarios se asocia con un aumento en el infiltrado peritumoral tanto de linfocitos como de macrófagos. Su traducción clínica y significación pronóstica no están del todo claras.

## 10. Marcadores de proliferación

- a) *MIB-1*: Se relaciona con la producción de metástasis, nivel de Clark y espesor de Breslow.



- b) *Ki-67*: Aunque lo desarrollaremos más adelante sabemos que cuando se expresa en las células de melanoma, es un signo de mal pronóstico y se relaciona con la aparición de metástasis.

## **I.9. TRATAMIENTO**

### **CIRUGÍA DEL MELANOMA**

#### 1.- Exéresis del tumor

##### a) *Márgenes del tumor*

El tratamiento quirúrgico del melanoma primario consiste en la exéresis completa de toda la lesión tumoral hasta la fascia muscular con un margen de piel sana que depende del grosor de la tumoración. Los márgenes de exéresis se basan en la posibilidad de acúmulos microscópicos de células tumorales, más allá de los límites clínicos del tumor que podrían ser causa de recidiva después de la exéresis y en la necesidad de extirpar el tejido celular subcutáneo, para eliminar el drenaje linfático y vascular de la lesión (Kelley JN, 1984).

Los márgenes de extirpación recomendados se han ido reduciendo a partir de los estudios realizados en las tres últimas décadas, después de haber permanecido inalterados desde 1907 (Hadley WS, 1907). Los márgenes que se recomiendan en la actualidad se basan en dos estudios prospectivos randomizados realizados por Veronesi y Cascinelli de la OMS (Veronesi, 1991) y Balch (Balch, 1977). A partir de ellos, en la *Health Consensus Conference on Melanoma* en 1992 se acordaron:

- 0,5 cm para el MM in situ
- 1 cm para los melanomas cuyo Breslow < 1mm
- 1 a 2 cm para melanomas de grosor entre 1,1 y 2 mm
- 2 cm para lesiones cuyo Breslow oscile entre 2,1 y 4 mm
- 2 a 3 cm para melanomas de más de 4 mm de grosor

En cualquier caso el tratamiento quirúrgico deberá ser individualizado para cada paciente. Márgenes más amplios de los recomendados podrán ser justificados con factores pronósticos desfavorables. Por otro lado, cuando los márgenes puedan suponer la pérdida de estructuras vitales, con secuelas graves, o cuando la

dificultad de reconstrucción sea muy importante, resultará aceptable una exéresis ampliada con márgenes más estrechos. Algunos subtipos de tumores como el melanoma de mucosas, el melanoma subungueal, el melanoma lentiginoso acral y el melanoma desmoplástico requieren una consideración especial.

#### *b) Cirugía en algunos subtipos y localizaciones especiales de melanoma*

### **Lentigo maligno melanoma**

Cuando se incluye el grosor tumoral en la consideración pronóstica, las diferencias del LMM en relación con otras formas anatomoclínicas no son tan evidentes. Los márgenes de exéresis deben ser los mismos que para todos los subtipos tumorales. Sin embargo su frecuente localización facial y la incidencia en pacientes de edad avanzada justifican márgenes de 1 cm cuando se comprometen estructuras anatómicas como el párpado. Si la lesión no puede ser extirpada por su tamaño o localización, la radioterapia o la crioterapia son técnicas recomendables especialmente en pacientes de edad avanzada y en lesiones de poco grosor. Sin embargo después de crioterapia o radioterapia, pueden aparecer recidivas amelanóticas que no deben confundirse con cicatrices hipertróficas.

### **Melanoma desmoplástico**

En esta forma de melanoma, con gran tendencia a la recurrencia local, especialmente cuando existe neurotropismo evidente, se recomienda ampliar los márgenes recomendados en 1 cm. En algunos centros, además se realiza radioterapia adyuvante regional después de la cirugía, aunque su eficacia no se ha probado en este tipo de tumores.

### **Melanoma lentiginoso acral**

La reparación del defecto quirúrgico, especialmente en la localización plantar, presenta una problemática particular. La exéresis no debería afectar a la fascia plantar profunda y cuando se trata de zonas de apoyo se reparará el defecto utilizando piel de iguales características para evitar la hiperqueratosis y ulceración

del injerto. La zona del arco plantar contralateral es una zona dadora ideal en este caso.

En esta localización no resulta infrecuente la afectación subclínica de los márgenes de exéresis recomendados, por lo cual resulta recomendable esperar al resultado del estudio histopatológico antes de proceder al cierre del tejido. En la actualidad se están desarrollando técnicas rápidas de inmunohistoquímica en tejido congelado utilizando marcadores específicos para MM, que posiblemente permitirán en un futuro, la realización de técnicas de CMM (Cirugía Micrográfica de Mohs), aunque hasta el momento, el diagnóstico histológico del MM en congelado, resulta poco satisfactorio.

### **Melanoma subungueal**

No es posible la exéresis de un melanoma en esta localización con los márgenes señalados sin una amputación de la falange distal. En esta zona se recomienda una amputación suficiente por la gran facilidad de recurrencia.

### **Melanoma de mucosas**

Esta localización supone menos del 1% del total de tumores y por su localización y tendencia a ser asintomáticos suelen ser tumores gruesos de mal pronóstico. La afectación de zonas como la perianal o rectal, oral, esofágica o vulvovaginal requiere con gran frecuencia una cirugía radical.

## **2.- Biopsia del ganglio centinela**

Como ya hemos comentado, la biopsia selectiva del ganglio centinela es una técnica diagnóstica joven desarrollada para seleccionar a los pacientes con micrometástasis, candidatos a una linfadenectomía regional en estadio clínico I y II de la AJCC. Resumidamente recordaremos que consiste en la extirpación del primer ganglio de drenaje de la zona cutánea tumoral para identificar a los pacientes con micrometástasis. Es una técnica menos agresiva que el vaciamiento ganglionar y puede ser realizada en el mismo acto operatorio de la exéresis

tumoral, incluso con anestesia local. En el trabajo de Morton (Morton DL, 1993) se hallaron micrometástasis en el 21% de los ganglios centinelas y sólo se apreciaron metástasis ocultas en ganglios diferentes al centinela en el 1% de los pacientes.

### 3.- Linfadenectomía regional

En los pacientes con estadio III, el vaciado ganglionar terapéutico puede suponer la curación del paciente. Las cifras de supervivencia en este grupo se sitúan en la actualidad entre un 13-45% a los 5 años (Bevilacqua RG, 1990). La mayor polémica suscitada en el campo de la cirugía del MM ha residido en la indicación de la linfadenectomía en los estadios I y II con enfermedad clínicamente localizada. Esta exéresis ganglionar regional, conocida como Linfadenectomía regional electiva (LRE) se fundamenta en la posible existencia de micrometástasis ganglionares. Se aplica en tumores de grosor intermedio, pero no ha demostrado una mejoría de la supervivencia (Veronesi U, 1982) y en el 80% de los casos en estadio I/II resulta innecesaria.

### 4.- Cirugía de las metástasis

El MM puede invadir prácticamente todos los órganos de la economía siendo los más frecuentes en orden decreciente la piel y el tejido celular subcutáneo, los ganglios linfáticos y finalmente las vísceras entre las cuales destacan: pulmón, hígado, SNC, hueso y tracto gastrointestinal. La mayoría de los pacientes que mueren de MM presentan metástasis en múltiples órganos y sistemas.

La causa más frecuente de fallecimiento en estos pacientes es el fallo respiratorio y las metástasis del SNC, que puede estar afectado hasta en el 49% de los pacientes según algunos autores (Patel JK, 1978). El tratamiento en este estadio deberá buscar una mejoría en la calidad de vida del enfermo y en este sentido, la cirugía paliativa resulta de gran interés con exéresis de tumores recurrentes o letáldes en la piel, de masas ganglionares, metástasis pulmonares o cerebrales únicas mediante cirugía estereotáxica, de metástasis suprarrenales, o cirugía de by-pass o resección intestinal en el caso de sangrado u obstrucción.

La extirpación quirúrgica de metástasis únicas es especialmente importante con la aparición de nuevas pautas terapéuticas que demuestren un alargamiento significativo del tiempo libre de enfermedad cuando se trata de pacientes con enfermedad metastásica reseçada.

## **TRATAMIENTO ADYUVANTE EN EL MELANOMA**

### **1.- Quimioterapia**

La terapéutica adyuvante quimioterápica ampliamente utilizada en el caso del cáncer de colon o de mama, no ha demostrado su eficacia en el caso del melanoma en estadio I, II o III: Su aplicación busca conseguir tiempos libres de enfermedad superiores a los conseguidos solos con cirugía. Se han realizado en las últimas décadas múltiples ensayos randomizados con poliquimioterapia (DTIC, nitrosureas, cisplatino) y con inmunoterapia con inyección de BCG, *Corynebacterium parvum* y otros factores estimuladores. En ningún caso se ha demostrado un aumento de la supervivencia en estos tratamientos (Balch CM, 1993).

### **2.- Interferones**

El único tratamiento que ha demostrado su eficacia en el MM de alto riesgo (Breslow > 4mm o con ganglios positivos) es el interferón alfa. Con este tratamiento, administrando una dosis de inducción de 20 millones UI por m<sup>2</sup> de superficie corporal, 5 días a la semana el primer mes, y 10 millones de unidades por m<sup>2</sup> tres días a la semana los 11 meses siguientes como mantenimiento, se comunicó en un ensayo de la ECOG, un incremento de la supervivencia global a los 5 años del 9% y un aumento significativo del tiempo libre de enfermedad a los 5 años, del 26% del grupo control frente al 37% del grupo tallado. La media de incremento de este parámetro fue de 9 meses y el aumento de la supervivencia global media de 1 año (Kirkwood JM, 1996). Con el objetivo de reducir la toxicidad de esta pauta, se diseñaron estudios comparativos con dosis inferiores de INF  $\alpha$  2 $\beta$  o pautas más cortas.

### 3.- Vacunas

En este campo destacan los ensayos con vacunas derivadas de los gangliósidos tumorales. El gangliósido GM2 es un glicopéptido inmunógeno de las células del melanoma que se ha utilizado como tratamiento adyuvante en pacientes en estadio III. También se han utilizado diversos inmunógenos adyuvantes para conseguir inducción de un título más elevado de anticuerpos contra la molécula GM2. De entre todos destaca la combinación de GM2 con una proteína transportadora derivada de una hemocianina (KLH). Otra vacuna comercializada derivada de lisados de células en cultivo de melanoma (Melacine) con el agente adyuvante Detox (monofosforil lípido A) e INF  $\gamma$  está en estudio (Vilella R, 2001).

## **TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD GENERALIZADA**

El melanoma maligno metastásico es un reto para todos los especialistas involucrados en el tratamiento de esta enfermedad, dado que no se dispone de un arsenal terapéutico efectivo. Sin embargo la existencia de nuevas pautas, a las que genéricamente se las denomina bioquimioterapia, parecen haber incrementado los índices de respuesta que previamente se habían manejado.

### 1.- Quimioterapia

En la enfermedad diseminada se han utilizado gran número de cistostáticos y multitud de combinaciones en diferentes regímenes de poliquimioterapia o asociadas a otras modalidades terapéuticas como la inmunoterapia o la hormonoterapia.

El citostático más utilizado es la Dacarbacina (DTIC), con una respuesta objetivable en enfermedad metastásica entre el 15-25% (Creagan ET, 1989). Esta respuesta es normalmente parcial, de breve duración (entre 3 y 6 meses) y más frecuente en las metástasis cutáneas de partes blandas, de pulmón y ganglios que en otras localizaciones. También se ha utilizado el cisplatino y las nitrosureas en regímenes poliquimioterápicos, de los que destaca el régimen de Darmouth descrito

por Del Pete y colaboradores en 1984, que combina la Carmustina (BCNU), cisplatino, DTIC y tamoxifeno (Del Prete SA, 1984). La tasa de respuesta comunicada por estos autores era del 50% en 20 pacientes. La desoladora respuesta de los tratamientos tradicionales ha estimulado ensayos con nuevos fármacos como la fotoemustina (Merimsky O, 1992) o la temozolamida o la aplicación de dosis muy levadas de poliquimioterapia y trasplante autólogo de médula ósea (Shea TC, 1988), administrando factores estimuladores de colonias o fármacos citoprotectores como la aminofosfina (Mohr P, 1998).

## 2.- Inmunoterapia

- a) *Inmunoterapia pasiva*: El  $\text{INF-}\alpha 2\beta$  se ha utilizado como tratamiento paliativo en diferentes dosis y pautas, obteniendo en ensayos de tipo II, índices de respuesta que oscilan entre el 10 y 25%, aunque casi siempre parciales. Se desconoce por qué no se obtienen curvas dosis-respuesta que permitan establecer una pauta en estos enfermos. En cualquier caso, la respuesta es mejor cuando no existe enfermedad visceral aparente.
- b) *Inmunoterapia adoptiva*: Consiste en la transferencia pasiva al enfermo de células inmunes, habitualmente linfocitos T, para conseguir la remisión tumoral. Se han utilizado diversas líneas celulares, especialmente linfocitarias, por su capacidad de reconocimiento de los antígenos tumorales y elaboración de citocinas, que pueden tener un efecto antitumoral directo o indirecto, a través de la activación de otras células del organismo. Entre ellas destacan: Transferencia de IL-2 con linfocitos tipo LAK (Índice de respuesta próximo al 16%); Transferencia de IL-2 sin linfocitos tipo LAK; Transferencia de linfocitos infiltradores de tumor (TIL); Transferencia de péptidos específicos de melanoma,...
- c) *Inmunoterapia activa*: Wallack y cols. (Wallack M, 1994) desarrollan una vacuna tumoral con células tumorales alogénicas lisadas con un cowpoxvirus. El análisis preliminar no demostró un aumento de la supervivencia pero determinó el inicio de un campo prometedor en la terapéutica del melanoma. Mitchell y cols. (Mitchell MS, 1988) combinan 2



líneas celulares de melanoma humano con expresión de antígenos de melanoma (MAGA) que administran periódicamente a los pacientes en un periodo de 2 años.

### 3.- Bioquimioterapia

Con el objetivo de mejorar la eficacia de los tratamientos se han combinado fármacos que actúan por mecanismos distintos, por ejemplo INF, Tamoxifeno, previos a Cisplatino-BCNU-DTIC; DTIC y tamoxifeno; INF  $\alpha$ -DTIC y tamoxifeno; IL-2 e INF- $\alpha$ ,.... Los resultados obtenidos son dispares y obligan a ser cautelosos a la espera de otros trabajos que aclaren la eficacia real de la bioquimioterapia en el tratamiento del melanoma.

### 4.- Terapia génica

En el campo de la terapia génica destacan 3 aproximaciones distintas:

- a) la manipulación génica de células inmunológicas para que sean más eficaces en su acción antitumoral
- b) la manipulación tumoral con la incorporación de genes, para conseguir aumentar la expresión de antígenos tumorales
- c) modificación en laboratorio de células de MM para que se produzcan citocinas como la IL-2, IL-4, INF- $\alpha$ 2 $\beta$  o GM-CSF y la inyección de dichas células al paciente como vacunas.

Sin embargo todavía no se han conseguido resultados satisfactorios in vivo.

### 5.- Perfusión aislada en extremidades

Este tratamiento se ha utilizado para prevenir o tratar las metástasis en tránsito en tumores localizados en las extremidades. Inicialmente se utilizó la perfusión de melfalán con hipertermia en enfermedad localmente diseminada. En un estudio europeo de 1991 (Hafstrom L, 1991) se consiguen respuestas en el 90% de los enfermos con la perfusión hipertérmica de melfalán, INF- $\alpha$  y TNF.

## **I.10 EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUIMICA CONJUNTA DE LA p-53 Y KI-67 EN EL MELANOMA CUTÁNEO. PERDIDA DE HETEROCIGOSIDAD DE p53.**

### **p53 y MELANOMA CUTÁNEO**

#### **Introducción**

En 1979, Lane y Crawford (Lane y Crawford, 1979) describieron la molécula a la que denominaron p53, familia de proteínas de bajo peso molecular, entre 48 y 55 kDa, presentes en las células transformadas por el virus SV40. En 1983, Oren y colaboradores (Oren y Levine, 1983) consiguieron clonar el gen p53, lo que permitió realizar estudios sobre transformación e inmortalización neoplásica, y la afirmación de la necesidad de la cooperación con otros oncogenes, como el H-ras para transformar células normales en malignas.

Diversos estudios realizados (Mowat y cols, 1985; Lamb y Crawford, 1986), llevaron a postular la siguiente teoría: si la inactivación del gen p53 predispone a una célula normal a convertirse en neoplásica, la hiperexpresión del gen normal impediría la transformación maligna, luego se comportaría como un antioncogen o gen supresor, situación que se confirmaría por Baker (Baker y cols, 1989) y Kern (Kern y cols, 1989), en sus estudios sobre carcinomas colorrectales.

#### **Funciones de la proteína p53**

La proteína p53 está codificada por un gen supresor que se encuentra situado en el brazo corto del cromosoma 17. Es una fosfoproteína nuclear de 53kDa y 393 aminoácidos, que está altamente conservada en vertebrados. Presenta propiedades de factor de transcripción regulando el inicio y la progresión a través del ciclo celular normal. La p53 está asociada con la quinasa del ciclo celular p34cdc2 y se induce durante la transición de la fase G0 a G1 y regulando el inicio de la replicación del ADN en la fase G1-S. Dependiendo del tipo de neoplasia, la alteración del gen de supresión tumoral puede participar en un periodo temprano, intermedio o tardío de la progresión tumoral.

La proteína p53 se ha relacionado con múltiples acciones:

- a) Estimulación e inhibición del crecimiento celular (Lane, 1994)
- b) Inducción de la proliferación celular (Lane, 1994).
- c) Regulación de la transcripción, capaz tanto de estimular como reprimir la expresión de diversos genes (Lane, 1994; Levine y cols., 1994).
- d) Interacción con otros factores de transcripción.
- e) En células que desarrollan diferenciación terminal, la sobreexpresión de P53 induce la muerte celular programada o apoptosis. (Hoffman y Lieberman, 1994).
- f) Inducción de la diferenciación (Spandau, 1994).

### **p53 y el ciclo celular. Mutaciones.**

Las mutaciones del gen p53 se consideran las alteraciones genéticas más frecuentes en la patología tumoral humana. Una de las particularidades del gen p53 es el carácter dominante de sus mutaciones/delecciones. Los genes supresores tumorales se caracterizan de forma genérica por su carácter recesivo, y precisan, por ello, mutación y/o delección de ambos alelos para dejar de ejecutar su acción. Sin embargo, el gen p53 es una excepción a esta norma porque la alteración de uno de los alelos es suficiente para perder su funcionalidad.

La mayoría de las mutaciones de la p53 son mutaciones puntuales (Harris, 1993), a nivel de los dominios más altamente conservados del gen y se correlacionarían con una mayor expresión en la determinación inmunohistoquímica de la proteína P53 mutada. La localización de las mutaciones se encuentra en diferentes exones (Field y cols, 1993). Así en los Estados Unidos, la mayoría de las mutaciones se han encontrado en el exón 7; en el Reino Unido en el exón 4, en Japón en los exones 5 y 8. Estas diferencias geográficas podrían deberse a carcinógenos diferentes y diferentes cofactores ambientales. Asimismo, se han visto diferencias en las mutaciones en la secuencia de aminoácidos puntuales. Las mutaciones puntuales son las que con mayor frecuencia se producen en la p53 del melanoma maligno y, en concreto, las transiciones G-A o C-T, o, con menor

frecuencia, las transversiones C-G o A-T o bien, una delección de C o G o la transición CC-TT (Albino y cols., 1994).

El mutágeno más frecuente de p53 es la radiación ultravioleta (UV). En concreto, la transición C-T y, principalmente, CC-TT se consideran mutaciones características producidas por la radiación UV, aunque también puede tras exposición a sustancias oxidantes.

El aumento en la expresión de p53 puede reflejar un daño directo del ADN o bien la capacidad de la célula para detectar el daño de éste, lo que supondría una respuesta protectora, bien para prevenir su replicación y/o para inducir la apoptosis de los queratinocitos (Puig y cols, 1995).

### **p53 y Melanoma cutáneo**

Su participación en la patogenia del melanoma cutáneo está muy discutida. Montano y colaboradores (Montano, 1994), estudiando líneas celulares de melanoma cutáneo humano, encontraron escasa correlación entre la presencia de p53 mutado, la expresión de la proteína y la existencia de metástasis. A pesar de que la mutación de p53, determinada mediante PCR (*protein chain reaction*) o SSCP (*single strand conformation polimorphism*), ha sido un hallazgo frecuente en diversos tumores, no lo es en el caso del MM (Albino y cols, 1994; Barnhill y cols., 1994; Lubbe y cols, 1994), y la expresión aumentada de la p53 en estas lesiones melanocitarias se debería a mecanismos distintos de la mutación puntual.

Los posibles mecanismos que explicarían este aumento en la expresión serían:

- Alteración en la regulación de la transcripción del gen p53.
- Aumento de la estabilidad de la proteína por formación de complejos con proteínas virales o celulares que inhiben su degradación (Ag T del SV40, hsp 70, MDM-2, etc).
- Mutaciones, en el MM, fuera de los exones 5 al 8 del gen p53 (Barnhill y cols, 1994).

- Aumento de la concentración de la p53 normal en un intento de restringir la proliferación celular (Florence y cols, 1994).

Es posible, dado que con frecuencia se ha encontrado heterogeneidad citogenética en el MM metastásico, que múltiples loci cromosómicos estén involucrados en la supresión del desarrollo del MM.

En conclusión, no existirían pruebas suficientes de que la p53 juegue un papel significativo tanto en la iniciación como en la progresión del melanoma (Saez Castresana, 1998). Otros proponen que el gen p53, a nivel de los exones 7 y 8 está alterado e interviene en la patogénesis del melanoma, aunque parece que su mutación sería en periodos intermedios del desarrollo tumoral y actuaría como factor independiente de la exposición al sol (Whiteman DC, 1998). También se ha descrito la existencia de una mutación permanente de este gen supresor en el melanoma maligno familiar (Platz A, 1998). En nuestro medio, en los melanomas de cabeza y cuello, la expresión de p53 ha mostrado correlación estadísticamente significativa con la exposición solar intermitente o recreativa, melanomas de crecimiento polipoide, tumores de mayor grosor, ulcerados y actividad mitótica elevada (Serrano Falcón MM, 2001).

### **Ki-67 y MELANOMA CUTÁNEO**

Aunque el criterio pronóstico más fiable del melanoma cutáneo primario es el espesor tumoral, la conducta biológica de algunas lesiones puede desviarse del curso clínico predecible. El índice de mitosis, evaluado en cortes teñidos por hematosilina-eosina, se ha identificado como un factor pronóstico independiente del melanoma (Clark WH, 1969). Se expresa como el número de mitosis por 10 campos de alta resolución o por 1,0 mm<sup>2</sup> de superficie y representa el número de células en fase M del ciclo celular. Sólo la fase M se identifica morfológicamente como mitosis en cortes histológicos sistemáticos. Sin embargo un marcador de la proliferación, como el antígeno nuclear Ki-67, se expresa en todas las fases del ciclo celular (G1,S,G2 y M) excepto en la fase de quiescencia o G0 y puede identificar todas las células del ciclo en una población celular (Gerdes J, 1983).

En 1983, Gerdes y colaboradores, investigando la producción de anticuerpos monoclonales específicos para antígenos nucleares de células de Hodgkin y de Reed-Sternberg, describieron este anticuerpo monoclonal que reaccionaba selectivamente con el núcleo de las células en estado de proliferación, y al que denominaron Ki-67 (Gerdes y cols, 1984).

Este antígeno corresponde a una proteína nuclear humana de tipo no-histona, puesto que se ha visto que es susceptible a proteasas pero no puede extraerse mediante CIH 0,1N. Mediante el análisis por inmunoblot de células separadas electroforéticamente de lisado de células proliferantes, se detectó que estaba formada por una doble cadena polipeptídica de 345 y 395 kDa de peso molecular respectivamente y estaba ausente en el lisado de células quiescentes (Gerdes y cols, 1991).

Diversos investigadores han demostrado que la distribución topográfica del antígeno Ki-67 es dependiente del ciclo celular (Braun y cols, 1988; Guillaud y cols, 1989; Du Manoir y cols, 1991). En la fase G1 se localiza, predominantemente, en la región perinucleolar y en las últimas fases del ciclo celular también se localiza dentro del núcleo, predominantemente en la matriz nuclear (Verheyen y cols, 1989). En contraste con muchas de las otras proteínas asociadas con el ciclo celular, el Ki-67 está ausente en células en reposo y no es detectable durante el proceso de reparación del ADN (Hall y cols, 1993). El contenido nuclear de la proteína Ki-67 aumenta durante la fase S entre 5 y 6 veces, para posteriormente disminuir durante la fase G1 del ciclo celular (Baum y cols, 1994).

La ausencia de cambios en la expresión de Ki-67 tras la irradiación con luz UV, sugiere que esta proteína no es necesaria para la excisión del ADN, y su expresión sólo se asociaría con la síntesis replicativa del ADN (Hall y cols, 1993).

En definitiva, este anticuerpo puede considerarse como un marcador de proliferación. Se demostró, que los datos de tinción nuclear para Ki-67 coincidían con la determinación de proliferación celular mediante la incorporación de precursores de ADN marcados radioactivamente (Gerdes y cols, 1984).

Posteriormente, el anticuerpo monoclonal MIB-1 de ratón se desarrolló para reconocer el antígeno de Ki-67 en tejido fijado en formol e incluido en parafina (Cattoretti G, 1992). Así, es posible estudiar la fracción de crecimiento de las células de melanoma en las muestras conservadas. Los estudios retrospectivos realizados para correlacionar el seguimiento de los pacientes con melanoma y fracción de crecimiento de sus lesiones primarias, evaluada por la reactividad de MIB-1, han demostrado que la expresión de MIB-1 es un factor pronóstico significativo en los melanomas profundos (Ramsay JA, 1995).

Existen estudios prospectivos para estudiar la reactividad del Ki-67 en las lesiones primarias (Moretti S, 2001). Esta reactividad parece relacionarse estrictamente con el grosor del tumor en los melanomas primarios, por que se detecta con mayor frecuencia a medida que aumenta el grosor del tumor (Moretti S, 1990; Kaudewitz P, 1989). En cuanto al riesgo de metástasis, la expresión del Ki-67 no parece relacionarse con un riesgo más elevado cuando se consideran los melanomas primarios en conjunto, pero si estos se agrupan en virtud del grosor si existen diferencias significativas. En el estudio desarrollado por Moretti y cols. (Moretti S, 2001) la reactividad del Ki-67 se asocia con un riesgo más alto de metástasis en los melanomas primarios con un grosor igual o inferior a 1,5 mm y con un riesgo más bajo de metástasis en los melanomas primarios de grosor superior a 1,5 mm lo cual supone un hecho importante en relación con estudios realizados con características retrospectivas, donde una mayor expresión de Ki-67 se relacionaba significativamente con una peor supervivencia o con metástasis en los melanomas primarios cutáneos de mayor grosor. ¿Por qué se producen entonces estos resultados tan dispares?. Existen diferentes factores que debemos considerar:

- a) Diferente identificación de melanomas *profundos*
- b) Diferente valoración del índice de proliferación
- c) Diferente selección de población
- d) Diferente periodo de seguimiento

Por ello los autores referidos tratan de explicar que el hecho de que la expresión de Ki-67 como factor de pronóstico positivo o negativo según el grosor

del tumor primario es francamente difícil. En los melanomas con menor grosor la presión selectiva es alta y el índice de proliferación se relaciona con la aparición de clones más agresivos y con mayor tendencia a metastatizar, mientras que en los melanomas de mayor grosor el índice de proliferación no sea un buen marcador de agresividad, porque la presión selectiva ha tenido ya efecto y el papel de la proliferación ya ha influido por las diversas actividades biológicas (producción de citocinas, expresión del receptor, entramado autocrino y paracrino del microambiente tumoral (Moretti S, 1999) que se relacionan con la progresión del tumor. El antígeno Ki-67 en nuestro medio ha mostrado relación estadísticamente significativa con diferentes parámetros en los melanomas de cabeza y cuello, entre los que reflejamos: Tumor de grosor superior a 1,5 mm, Melanomas nodulares, ulcerados, con citología epitelioide y alta actividad mitótica (Serrano Falcón MM, 2001).

#### **RELACION ENTRE LA EXPRESION DE P53 Y KI-67**

Se han realizado algunos estudios en distintas patologías, con el fin de intentar encontrar correlaciones entre la expresión de la proteína p53 y la del antígeno Ki-67 y la existencia de una interrelación entre ambos antígenos. Los resultados obtenidos han sido discrepantes.

Jaros y cols (Jaros, 1992), encontraron un incremento en la expresión tanto de p53 como de Ki-67 en 16 tipos de tumores cerebrales en relación con el grado de malignidad de los mismos; además, los que expresaban p53 tenían un índice Ki-67 mayor y menor vida media que los que no lo hacían. El análisis multivariante de los resultados reveló que sólo el grosor tumoral y el índice Ki-67 fueron factores pronósticos independientes en cuanto a la supervivencia.

Soini y colaboradores (Soini, 1994) observaron asociación entre los índices de expresión de p53 y Ki-67 en las células tumorales de lesiones benignas de piel. El acúmulo de p53 podría ser una respuesta al aumento del índice de proliferación, con carácter inhibitorio de la misma.



Slootweg y cols. (Slootweg, 1994), en el estudio de carcinomas escamosos de cabeza y cuello, no encontraron diferencias en la expresión de Ki-67 entre los tumores p53 positivos y negativos. Kerschmann y colaboradores (Kerschmann, 1994), tampoco encontraron diferencias significativas en el índice proliferativo de tumores que expresaban P53 y los que no lo hacían, entre los queratoacantomas y los epitelomas espinocelulares estudiados, ni tampoco en el índice de Ki-67 expresado en los tipos tumorales entre sí, aunque recientemente Kaleem si ha establecido un paralelismo en el comportamiento de p53 y Ki-67 relacionando ambas variables con el espesor tumoral (Kaleem Z, 2000).

Una posible explicación para el hallazgo de elevados índices de proliferación en tumores sin expresión de p53 sería la activación funcional de ciertos oncogenes y/o la inactivación de genes supresores tumorales distintos de la p53 (Takata y Matsui, 1994). Por otra parte, no puede olvidarse que la delección homocigota del p53 o bien, la presencia de una P53 mutada, con una configuración no reconocible por el anticuerpo utilizado, pueden ser causas de una inmunotinción falsamente negativa.

### **PERDIDA DE HETEROCIGOSIDAD DE p53**

La pérdida de heterocigosidad (LOH) representa un mecanismo genético importante que da lugar a neoplasias malignas tanto cutáneas como viscerales (Cáncer de pulmón, colon, cáncer de pulmón de células no pequeñas, sarcomas de tejidos blandos y melanoma cutáneo; Li N, 2002). Puede originarse a partir de distintos acontecimientos mutacionales, tales como la recombinación mitótica, la conversión localizada de un gen, mutaciones puntuales, delecciones o la no disyunción con pérdida o reducción del cromosoma mutante.

En relación al melanoma cutáneo, se ha observado algunos estudios en los que se ha realizado PCR e inmunohistoquímica, una adecuada correlación entre la mutación de p53 y la acumulación tisular de su proteína, lo que ha conducido a la realización de numerosos estudios inmunohistoquímicos. Sin embargo, no en todos los casos (Eeles RA, 1993), se ha comprobado la presencia de dicha correlación.