

IV. RESULTADOS

ANALISIS UNIVARIANTE.- Descripción de la muestra.

1. Características demográficas (Edad y Sexo)

Edad

Los pacientes estudiados en nuestra muestra tienen una media de 53,66 años (Error estándar, SE, 1,975), rango comprendido entre 15-83 años y una desviación típica de 16,52.

Estratificando por edades, la mayoría se encuentra entre los 40 y 50 años (24,3 %), siguiendo los pacientes de la 5ª y 6ª década de la vida (21,4%) (**Fig.4.**).

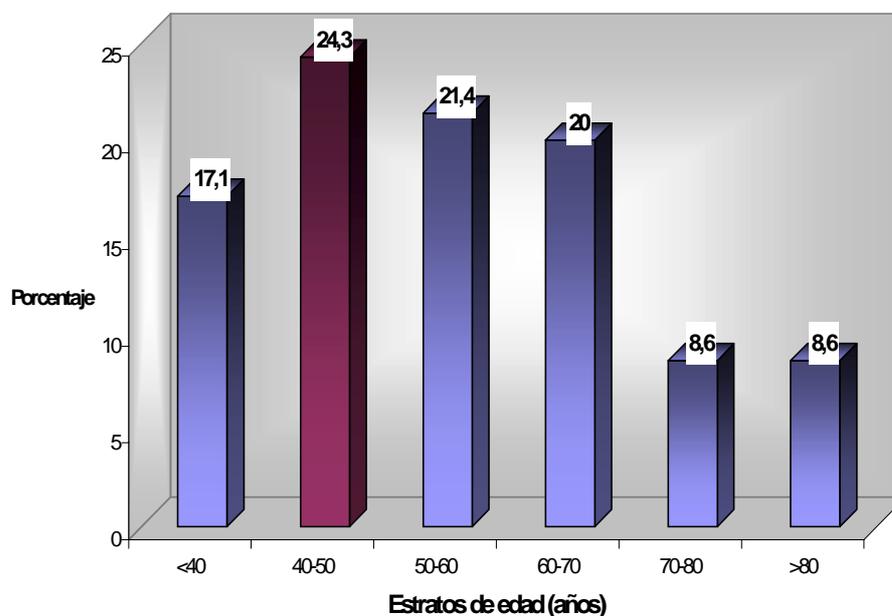


Fig.4. Estratos de edad (al consultar)

Sexo

Existe un claro predominio de mujeres (77,1%) en relación a los hombres (22,9%). (Fig.5)

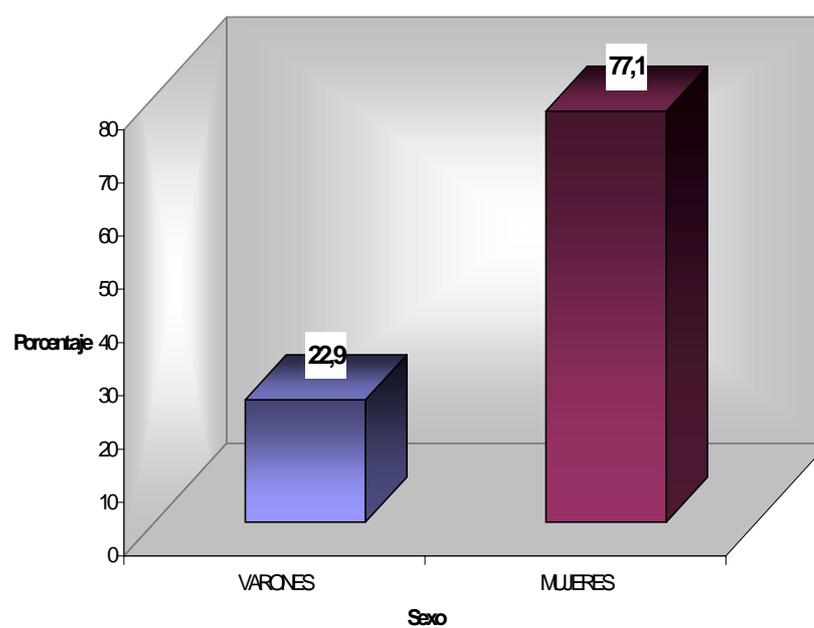


Fig.5. Sexo

2. Características fenotípicas. (Color de los ojos, del pelo, fototipo, raza y número de nevos).

Color de los ojos

El 67,1% (47 pacientes) tenían los ojos oscuros (colores negro y marrón) y el 32,9 % (23 pacientes) los tenían claros (colores verde y azul) (**Fig.6**).

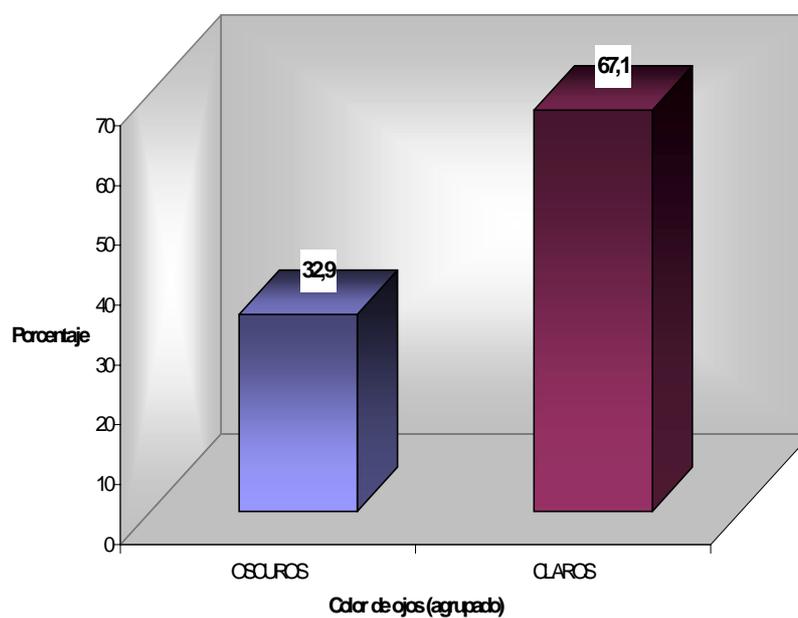


Fig.6. Color de los ojos

Color del pelo

De manera análoga agrupamos el cabello en color oscuro (marrón oscuro y negro) y claro (castaño claro y rubio) que estaban representados por el 82,9% (58 pacientes) y el 17,1% (12 pacientes) respectivamente. (Fig.7)

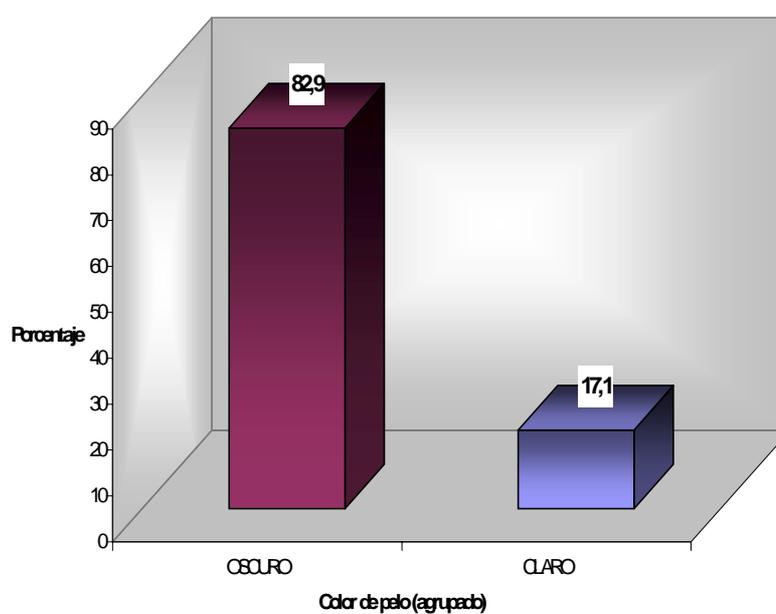


Fig.7. Color de pelo.

Fototipo

No encontramos ningún paciente con fototipo I ni tampoco con fototipos superiores al IV. El fototipo dominante fue el III (34 pacientes; 48,6%) seguido del II (25 pacientes; 35,7%) y del IV (11 pacientes; 15,7%) (**Fig.8**).

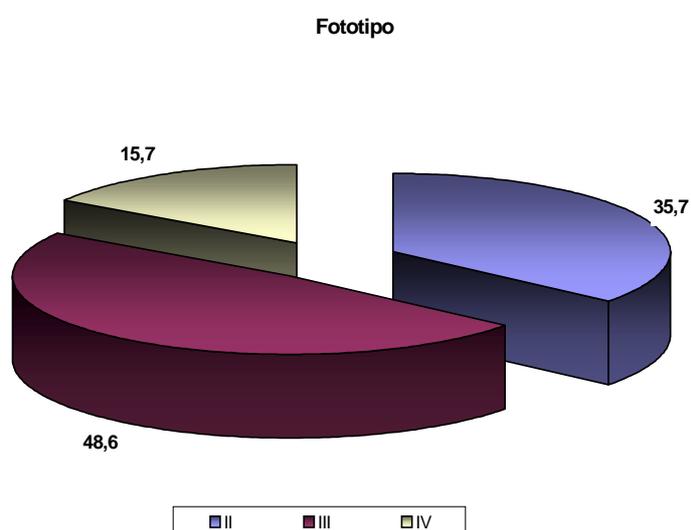


Fig.8. Fototipo

Raza

Todos los pacientes fueron de raza blanca.

Número de nevus

El 57,1 % (40 pacientes) tenían más de 20 nevus en toda la superficie corporal. Los demás tenían menos de 20 nevus (42,9 %- 30 pacientes) (**Fig.9**).

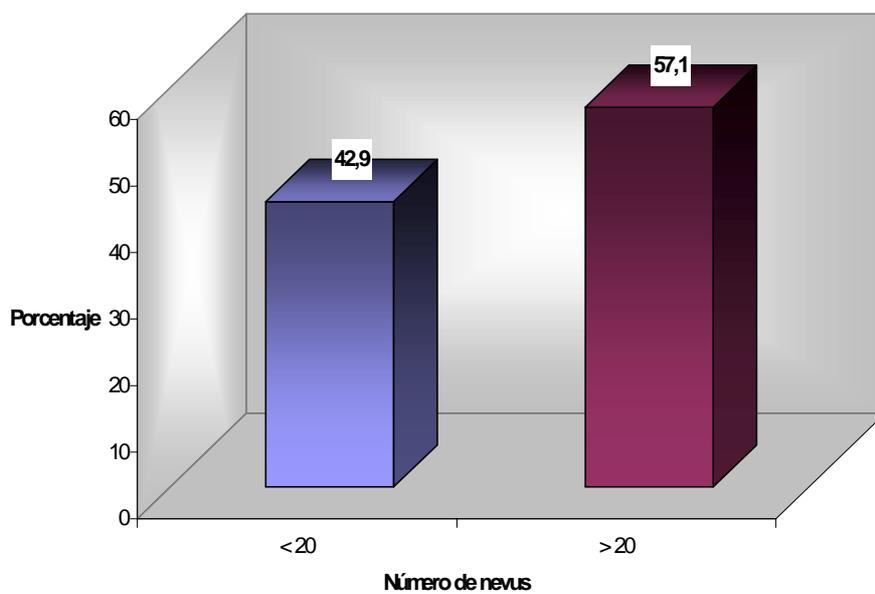


Fig.9. Número de nevus

3.- Características socioeconómicas. (Profesión).

Profesión

Hemos agrupado las profesiones de los pacientes según su exposición solar en profesiones fotoexpuestas, o no fotoexpuestas y “sus labores”. El 40% (28 pacientes) de los pacientes eran amas de casa, seguido de un 35,7% (25 pacientes) con profesión no fotoexpuesta. El resto de pacientes desarrollaban su profesión expuestos al sol (17 pacientes;24,3%). No obstante, estas cifras no pueden considerarse fidedignas, pues parte de las amas de casa rurales, han desempeñado parte de sus labores en el campo, con lo cual es difícil encuadrarlas en una u otra categoría. (Fig.10)

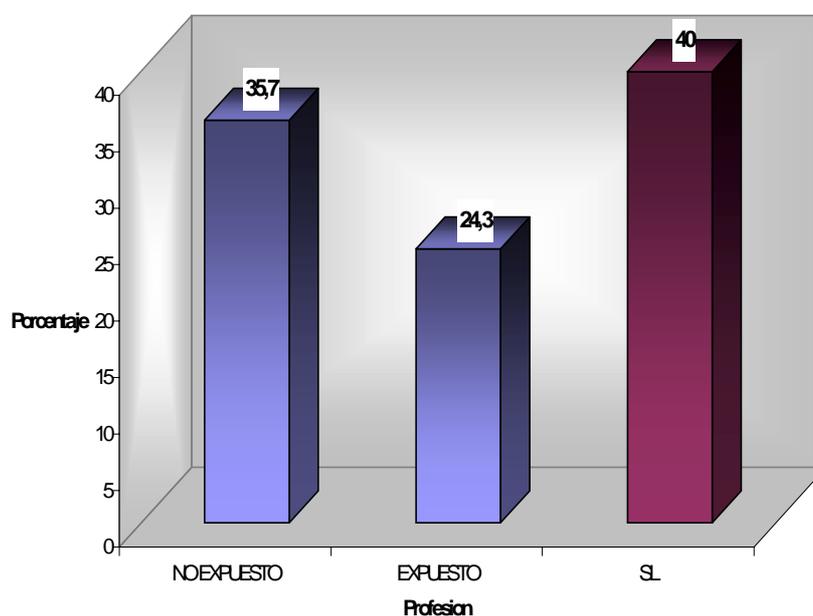


Fig.10. Profesión

4.- Antecedentes personales. (Historia de exposición solar, Formas de exposición solar, Historia de quemaduras solares, Antecedentes de tumor previo y Antecedentes de tumor no cutáneo y Cáncer cutáneo no melanoma).

- Historia de exposición solar. El 37,1% de los pacientes presentó una exposición solar total superior a 10.000 horas (26 pacientes). El 62,9% restante (44 pacientes) no sobrepasó las 10.000 horas totales de fotoexposición. (**Fig.11**). En ningún paciente encontramos antecedentes de exposición a fuentes artificiales de radiación ultravioleta.

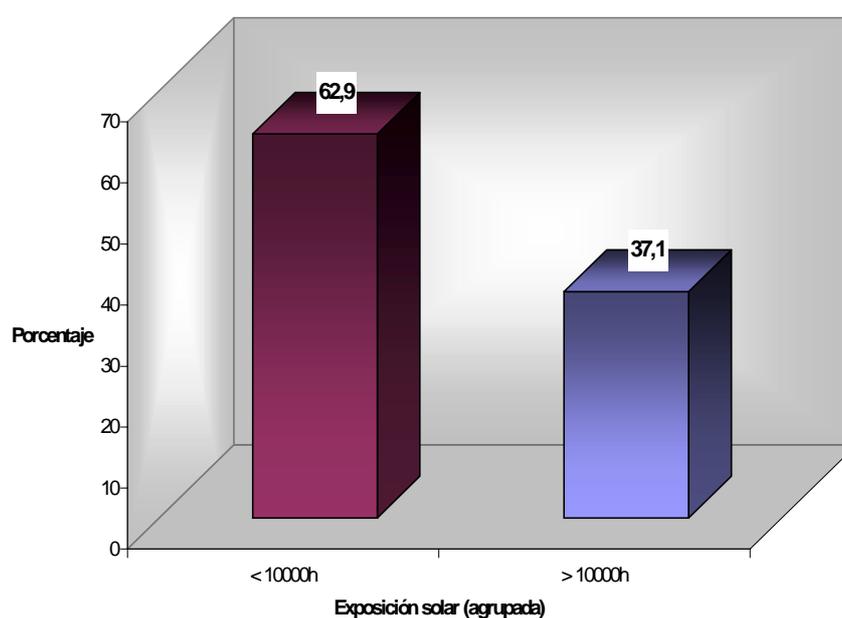


Fig.11. Exposición solar

- Historia de quemaduras solares frecuentes (Superior a 5): 39 pacientes reconocieron haber tenido quemaduras frecuentes en el periodo de infancia y adolescencia (55,7%), mientras que el 44,3% (31 pacientes) no refirieron haberse quemado frecuentemente en dicho periodo de la vida. (**Fig.12**).

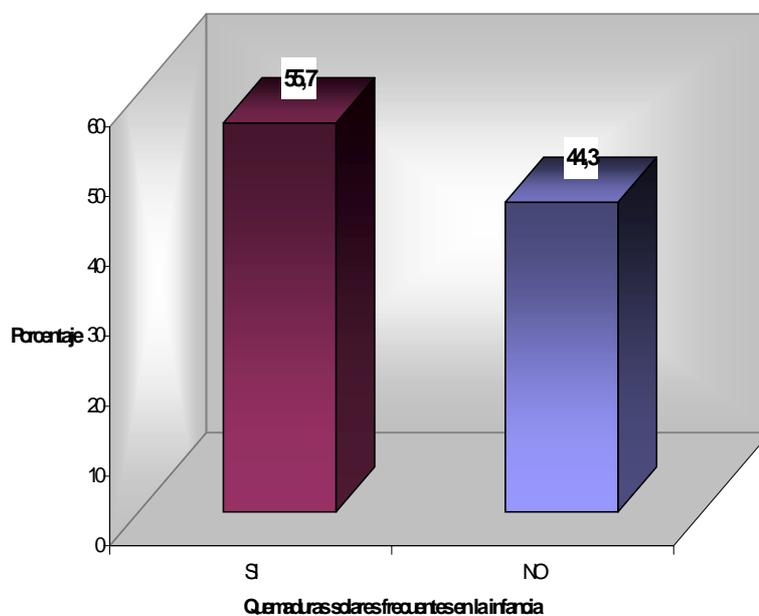


Fig.12. Quemaduras solares en la infancia

- Antecedentes de tumor previo: El 80% de los pacientes refirieron la presencia de un tumor previo (56 pacientes). En los 14 pacientes restantes, reconocieron que el tumor apareció de novo (20%). (**Fig.13**).

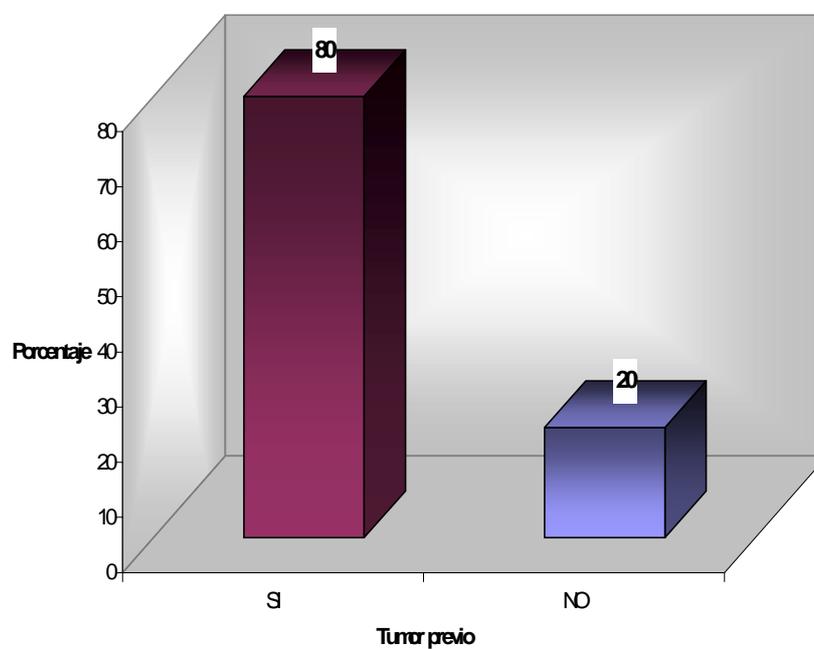


Fig.13. Tumor previo

- Cáncer visceral asociado: 6 pacientes presentaban entre sus antecedentes un cáncer visceral asociado (8,6%). (**Fig.14**).

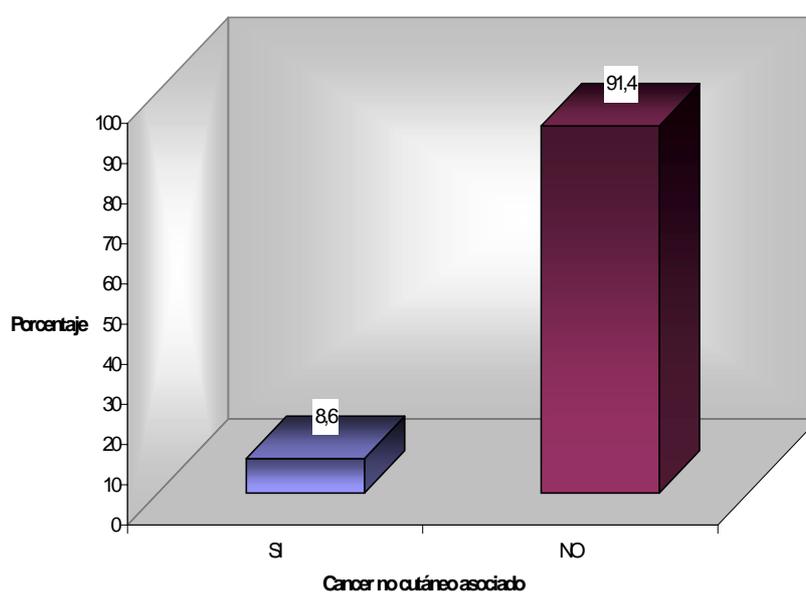


Fig.14. Cáncer no cutáneo asociado

- Cáncer cutáneo no melanoma: 3 pacientes padecieron cutáneo no melanoma (1,4%). Uno con un carcinoma basocelular, otro un carcinoma espinocelular y el tercero, un queratoacantoma.

5.- Antecedentes familiares (Antecedentes familiares de melanoma, antecedentes de carcinoma visceral familiar).

Tan sólo 2 de los 70 pacientes que constituyen nuestra muestra, presentaban antecedentes familiares de melanoma (2,9% de los pacientes). El 10% de los pacientes (7 pacientes) presentaban antecedentes de carcinoma visceral entre sus familiares.

6.- Características clínicas del tumor. (Forma anatomoclínica, pigmentación, diámetro mayor, diámetro menor, y localización) y **evolución** (aparición de metástasis, tiempo de evolución al consultar).

Forma anatomoclínica

La forma anatomoclínica más prevalente fue el SSM (42 pacientes, 59,2%) seguido del MLA (13 pacientes, 21,1%) aunque en el estudio bivalente hemos considerado por sus especiales características histológicas al Melanoma Polipoide como entidad independiente (17 pacientes, 24,3%). (**Figs.15-23**).

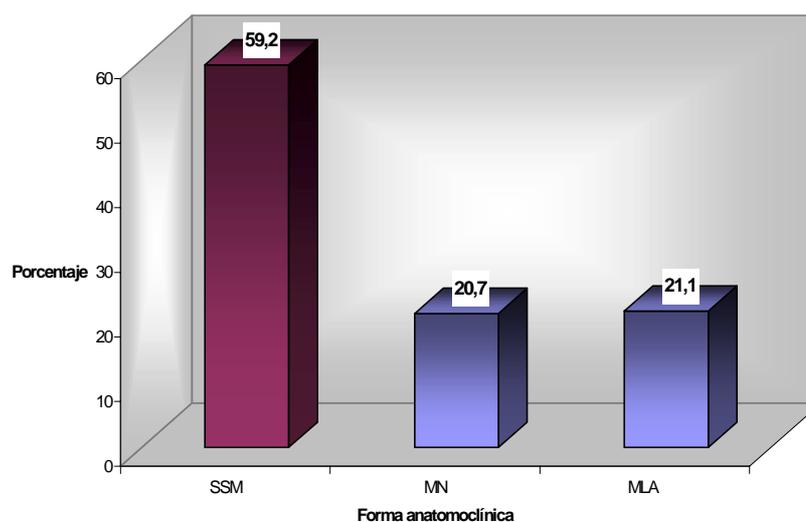


Fig.15. Forma anatomoclínica



Fig.16. Imagen clínica de SSM en brazo izquierdo

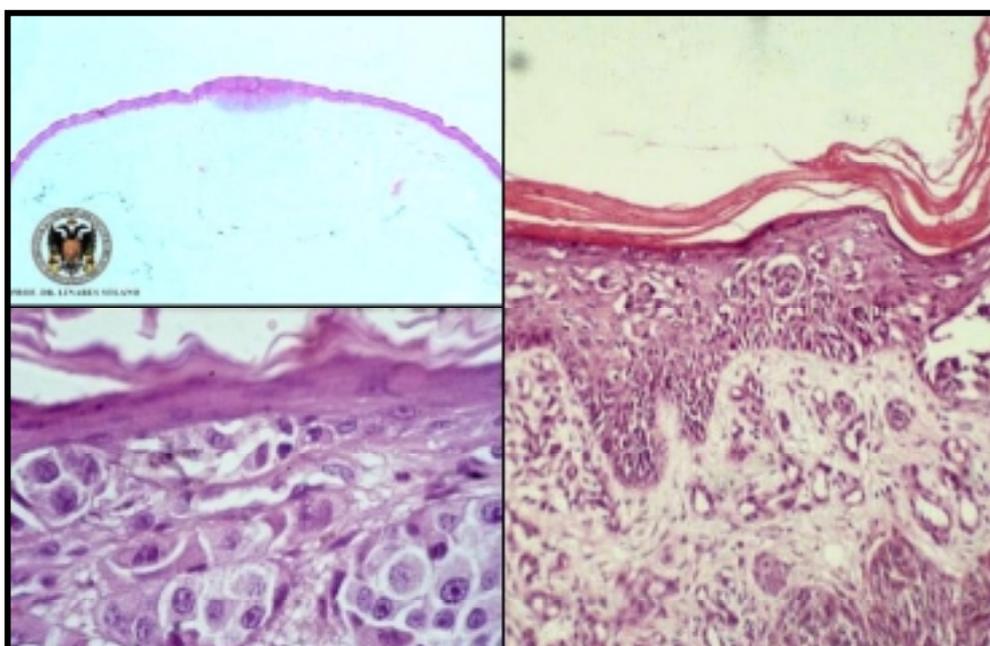


Fig.17. Melanoma de extensión superficial (SSM). Infiltración epidérmica pagetoide.



Fig. 18. Imagen clínica de MN.

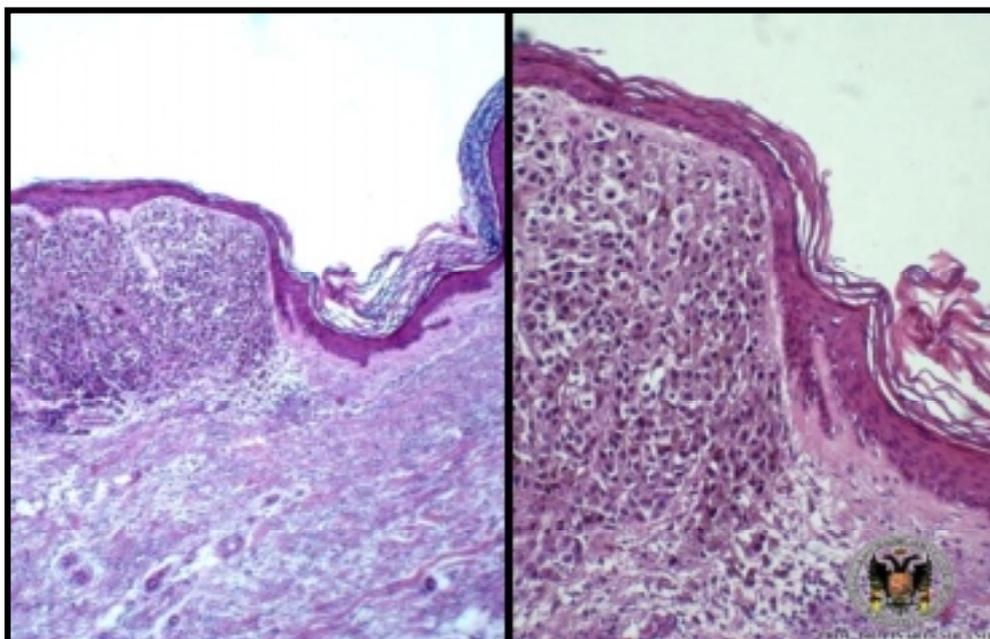


Fig.19. Melanoma Nodular (MN). Ausencia de crecimiento radial.



Fig. 20. Imagen clínica de MLA

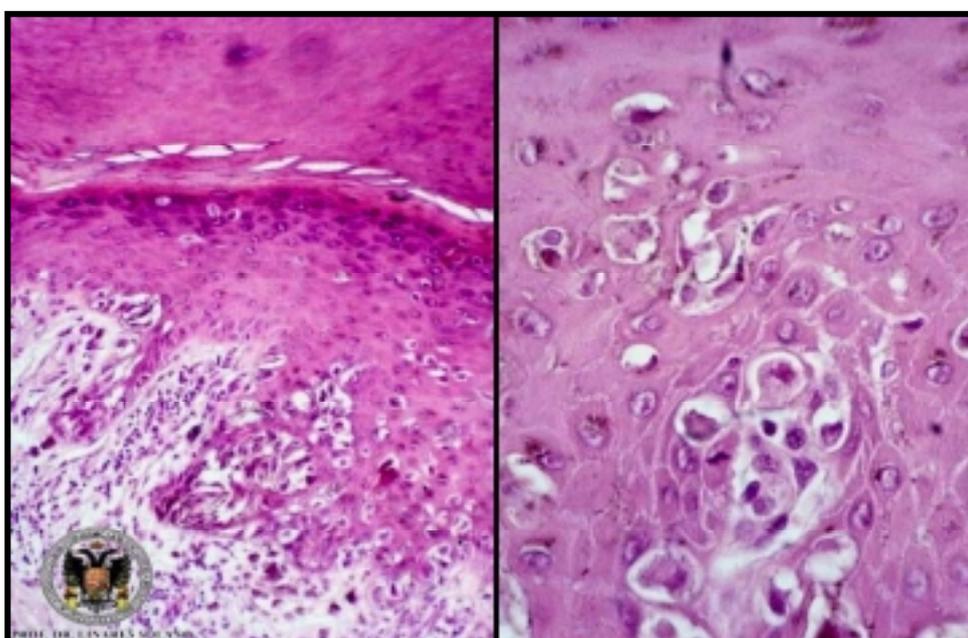


Fig.21. Melanoma lentiginoso acral (MLA): Crecimiento lentiginoso (Derecha). Infiltración intraepidérmica (Izquierda).



Fig.22. Imagen clínica de MP

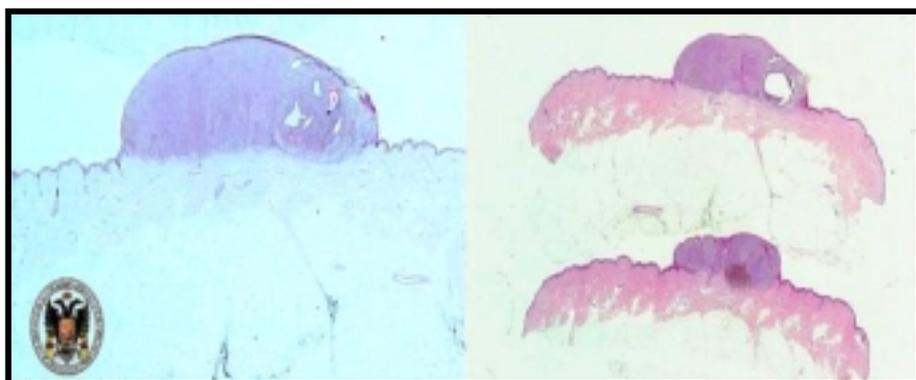


Fig.23. Melanoma Polipide (MP): Crecimiento excéntrico con escasa infiltración dérmica.

Pigmentación

En la mayoría de nuestros pacientes el melanoma era pigmentado, mientras que en los 6 casos restantes el tumor fue amelanótico (91,4% y 8,6% respectivamente). (Fig.24).

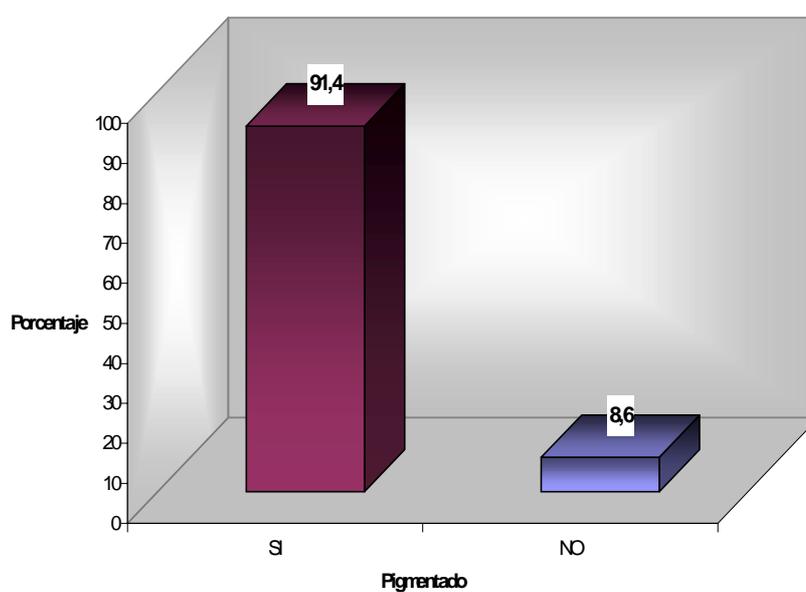


Fig.24. Pigmentación

Tamaño del tumor

Diámetro menor. Media de 1,353 cm (SE 0,0869) con una desviación típica de 0,7269 y un máximo de 4,5 y mínimo de 0,3 cms. (**Fig.25**).

Diámetro mayor. Media de 1,854 mm (SE 0,1228) con una desviación típica de 1,0277 y un máximo de 5,0 y un mínimo de 0,4 cms. (**Fig.25**)

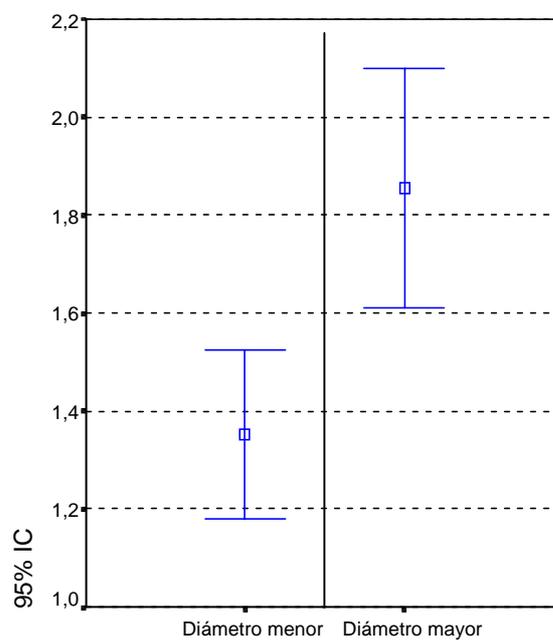


Fig.25. Tamaño del tumor (Diámetros mayor y menor)

Localización

45 melanomas se localizaban en miembros inferiores, de los cuales por orden de frecuencia se observaron en pierna (28 pacientes; 40%), pies (11 pacientes; 15,7%) y muslo (6 pacientes; 8,6%). Los restantes 35 melanomas se situaron en miembros superiores: brazo (9 pacientes; 12,9%), mano (6; 8,6%), antebrazo (6; 8,6%) y hombro (4; 5,7%). (Fig.26).

40 pacientes desarrollaron el melanoma en el lado izquierdo del cuerpo (57,1%) y 30 pacientes en el hemicuerpo derecho (42,9%).

El 91,4% de los melanomas se localizaban en zonas habitualmente no fotoexpuestas (64 pacientes) y el 8,6% lo hicieron en las manos, región que es considerada habitualmente fotoexpuesta (6 pacientes).

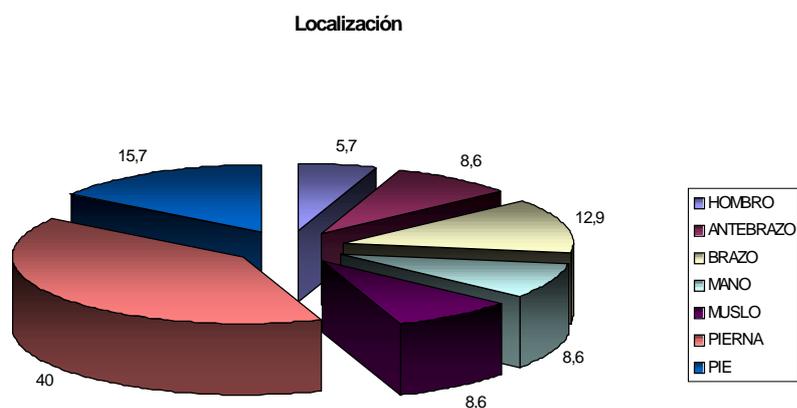


Fig. 26. Localización

Características evolutivas

La media del tiempo libre de enfermedad fue de 63,13 meses con una desviación típica de 39,58 y un máximo de 158 meses y mínimo de 0 que corresponde a los pacientes que consultaron ya con metástasis. (IC al 95%: 53,69 - 72,57).

A lo largo del periodo de observación aparecieron metástasis en el 30% de nuestros pacientes (21 enfermos) sin que éstas llegaran a presentarse en los 49 restantes (70%) (**Fig.27**). En 13 pacientes, las primeras metástasis en detectarse fueron ganglionares, en 5 viscerales y en los 3 pacientes restantes se identificó como recidiva local dérmica.

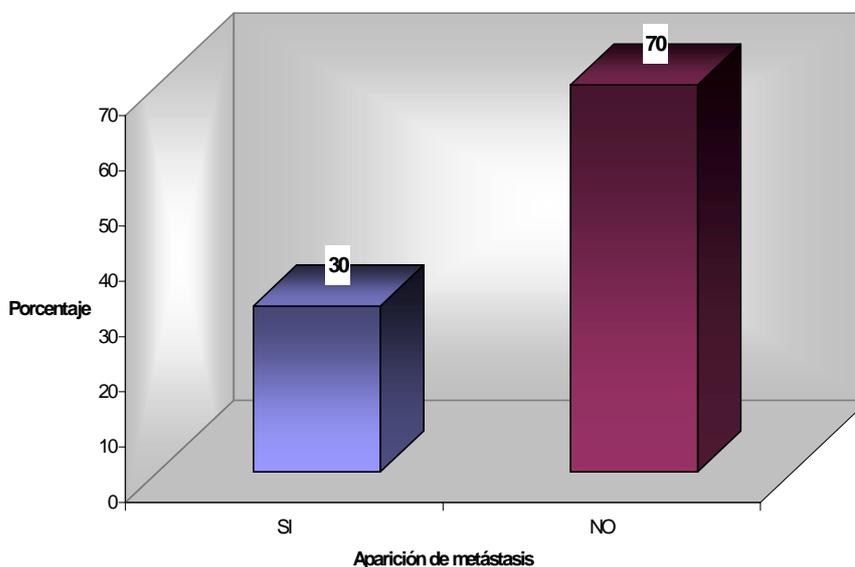


Fig.27. Aparición de metástasis

Tiempo de evolución del tumor al consultar. La media del tiempo de evolución del tumor en el momento de la consulta es de 26,11 meses (2,17 años) con una desviación típica de 25,69 meses (2,14 años) y un límite máximo de 120 meses (10 años) y un mínimo de 1 mes. (IC al 95%: 19,99-32,24 meses).

6.- Características de epiluminiscencia del tumor

En el 52,17% de los pacientes se realizó epiluminiscencia (36 pacientes) y en todos ellos el valor del algoritmo de los 7 puntos fue superior a 3 (Sugerente de melanoma con una sensibilidad del 95% y una especificidad del 75%).

7.- Características histológicas del tumor.

Espesor de Breslow

El espesor medio fue de 2,846 mm (SE 0,40) con desviación típica de 3,39 y unos límites de 2 y 15 mm.

Cuando agrupamos el espesor (**Fig.28-29**) comprobamos que 20 pacientes (27,1%) tienen más de 4 mm de espesor y el 38,6% tienen menos de 1 cm de espesor.

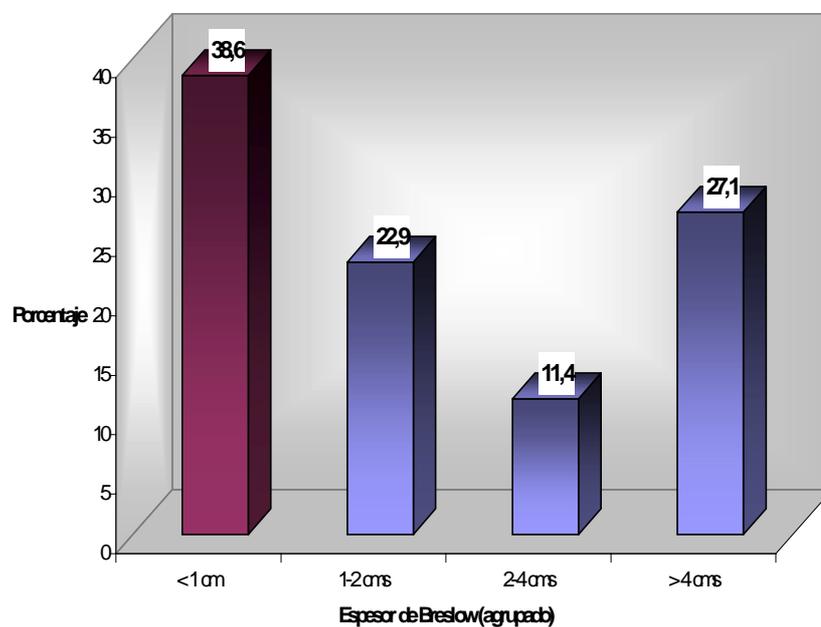


Fig.28. Espesor de Breslow (agrupado)

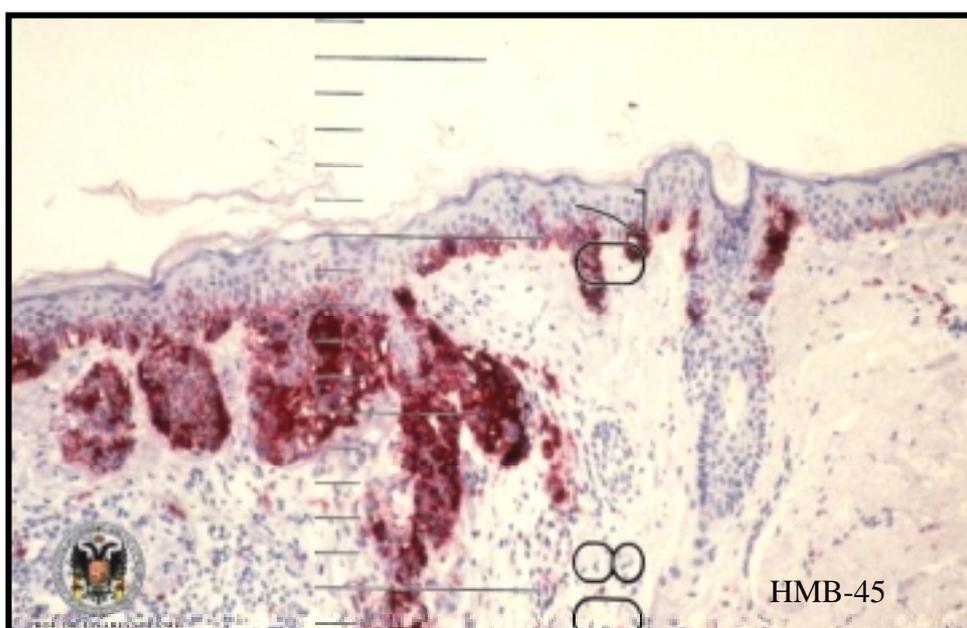


Fig.29. Medición del espesor de Breslow con regla micrométrica

Nivel de Clark

El 34,3% de los melanomas presentaban un nivel de invasión medio (Clark III), seguido de los niveles IV y II con el 25,7 y 22,9% respectivamente. (**Fig.30**).

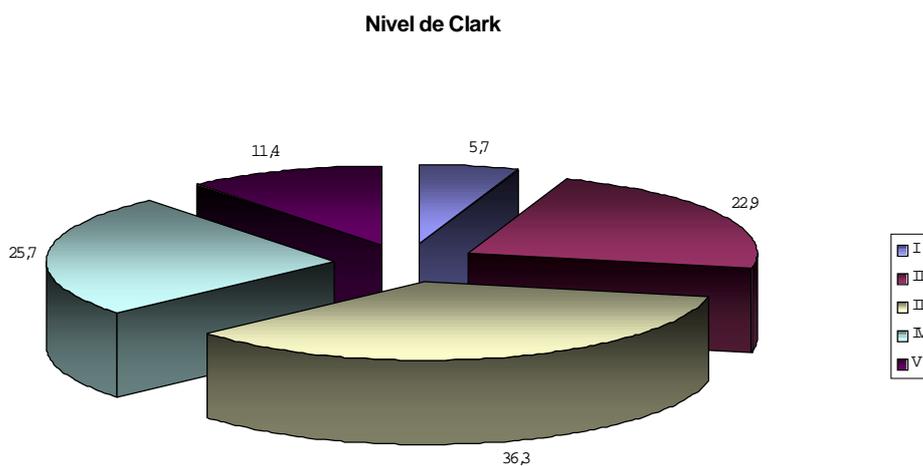


Fig.30. Nivel de Clark

Presencia de ulceración

29 de los 70 casos estaban ulcerados en el momento de la consulta (41,4%), mientras que en los 41 casos restantes (58,6%) no había ulceración. (Figs.31-32).

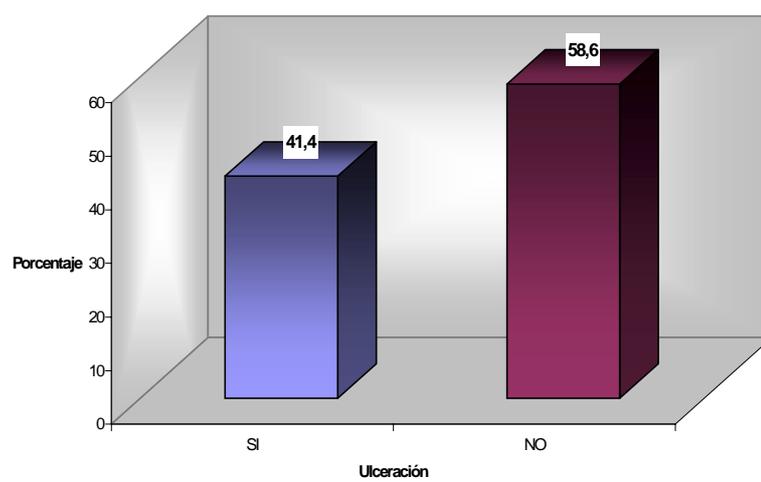


Fig.31. Presencia de ulceración

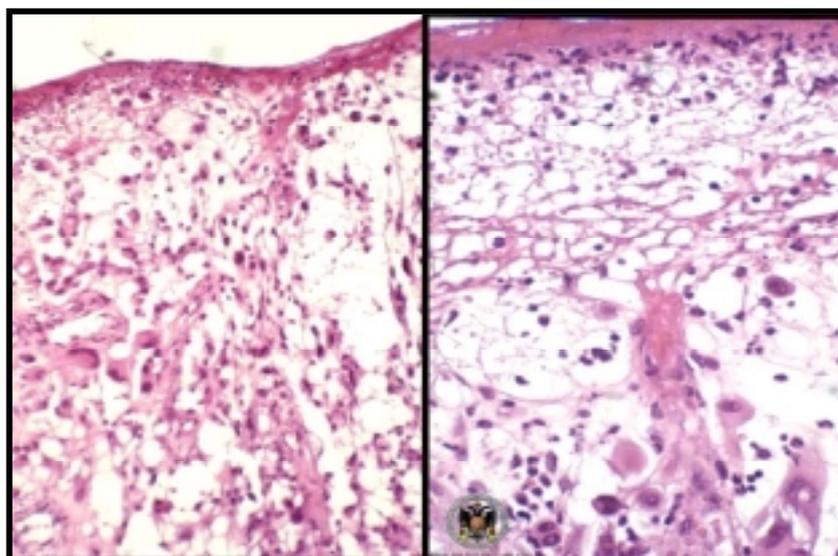


Fig.32. Ulceración: Sustitución de epidermis por costra de fibrina.

Celularidad

En 49 pacientes (70%) la celularidad era epitelioide, seguido de 11 casos (15,7%) de celularidad mixta y 7 casos (10%) de celularidad fusocelular. Tan sólo existió un caso de celularidad balonzante, linfocitoide y pleomórfica. (**Figs.33-38**).

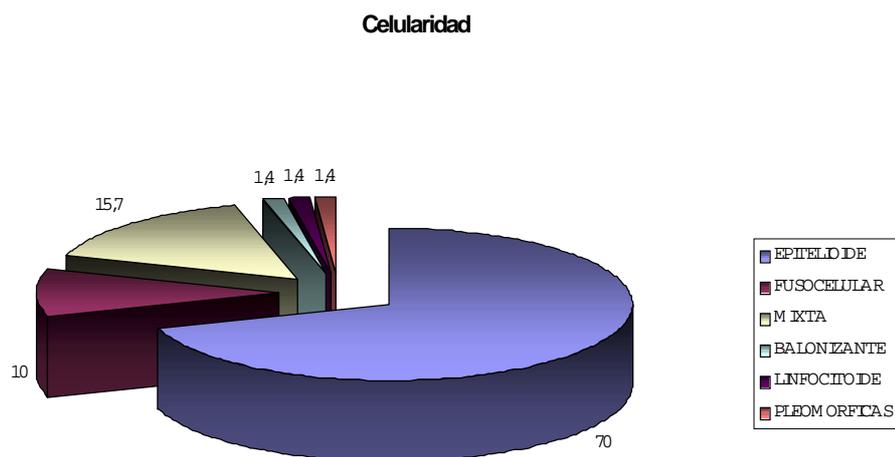


Fig.33. Celularidad

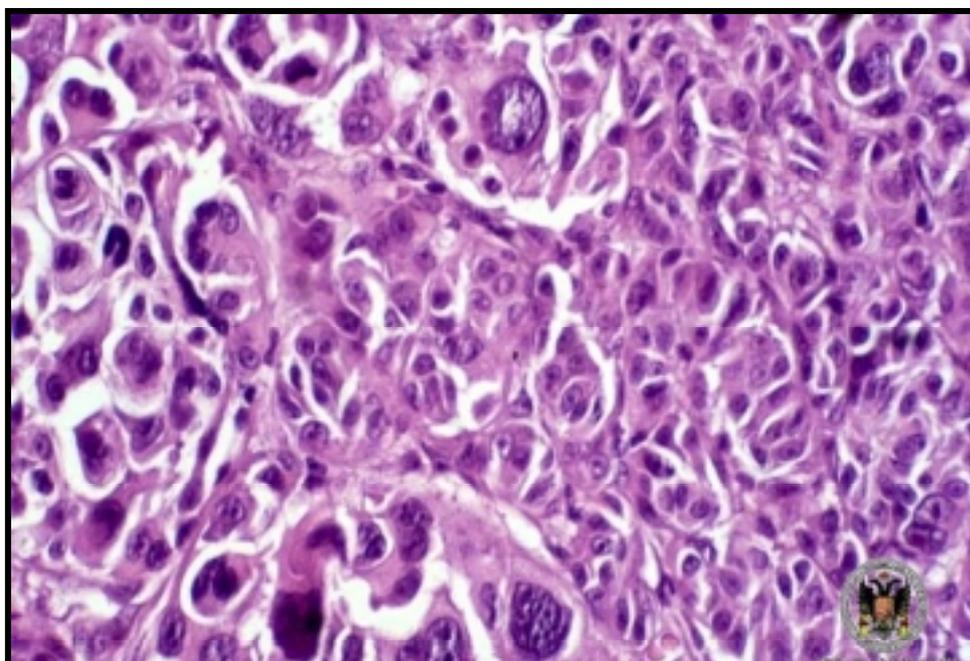


Fig.34. Melanoma: Celularidad Epitelioides con marcadas atipias nucleares

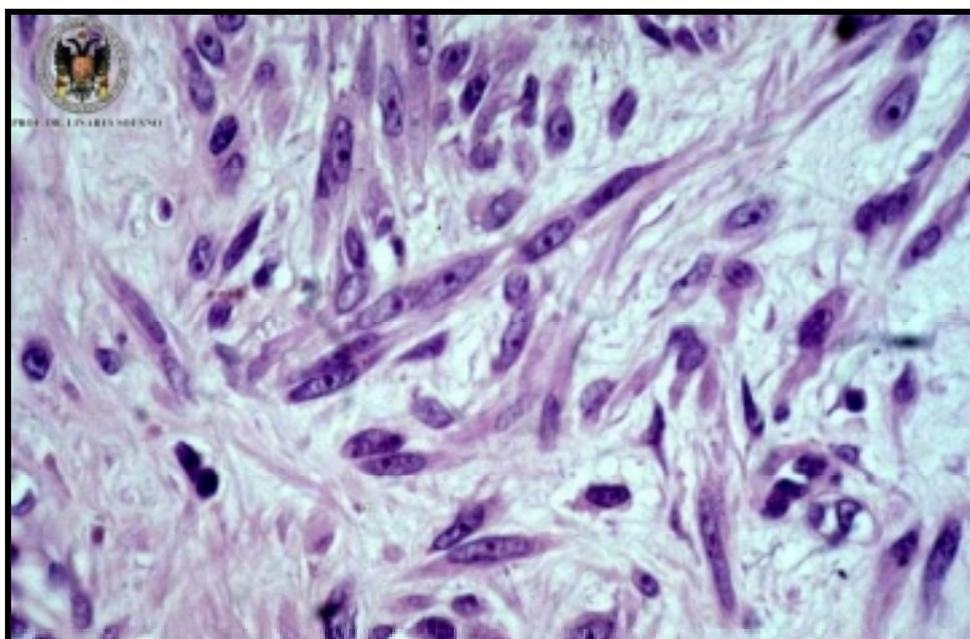


Fig.35. Melanoma: Celularidad Fusocelular

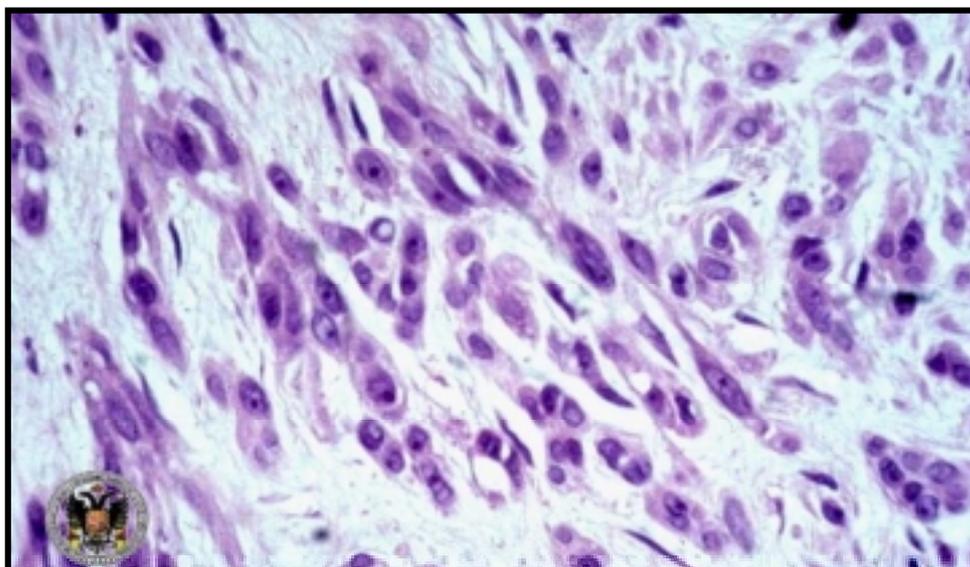


Fig.36. Melanoma: Celularidad Mixta. Presencia de células epitelioides y fusocelulares.

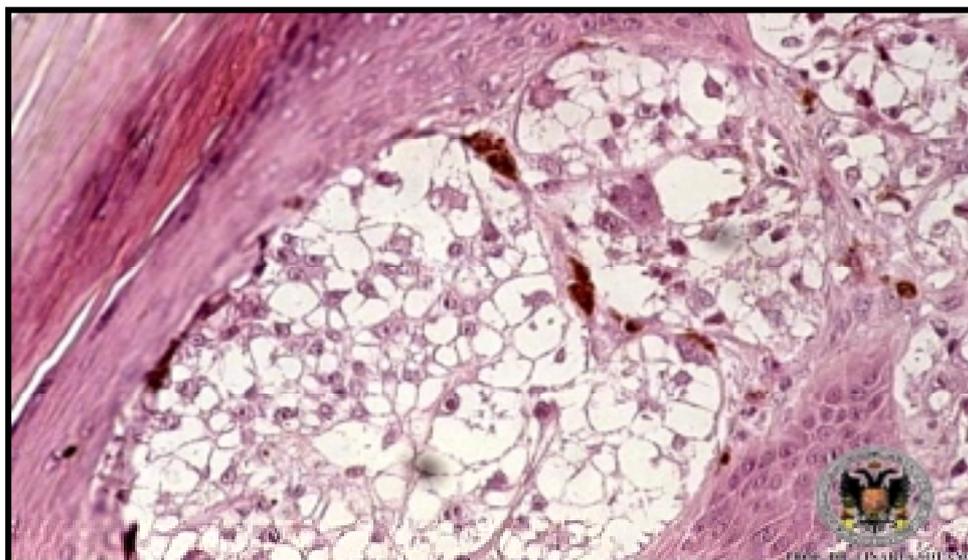


Fig.37. Melanoma: Celularidad balonzante. Celulas balonzantes atípicas.

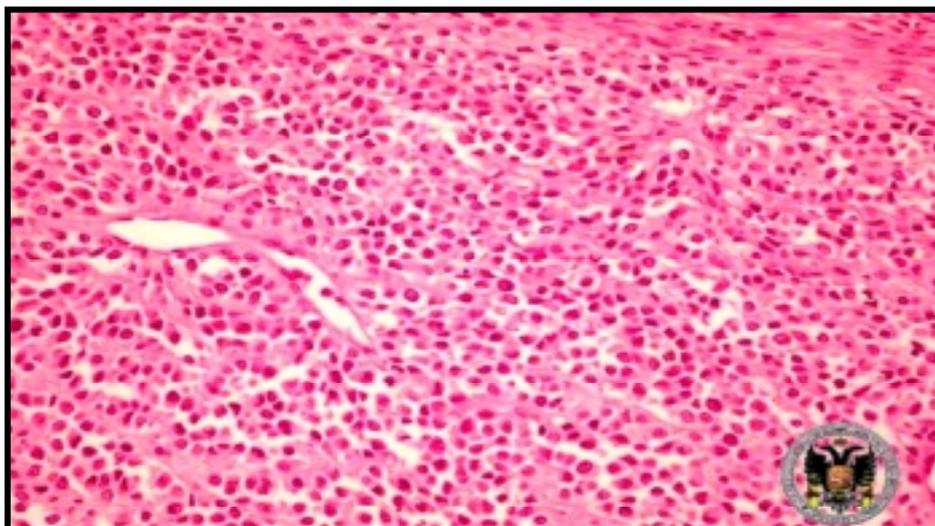


Fig.38. Melanoma: Células pequeñas de aspecto linfocitoide.

Actividad mitótica

En 38 casos el nº de mitosis por cm^2 fue inferior a 1 (54,3%), mientras que en 21 casos (30%) el nº de mitosis estuvo comprendido entre 1-5 y en el 15,7% de los casos restantes el nº de mitosis fue superior a 5. (**Fig.39-41**).

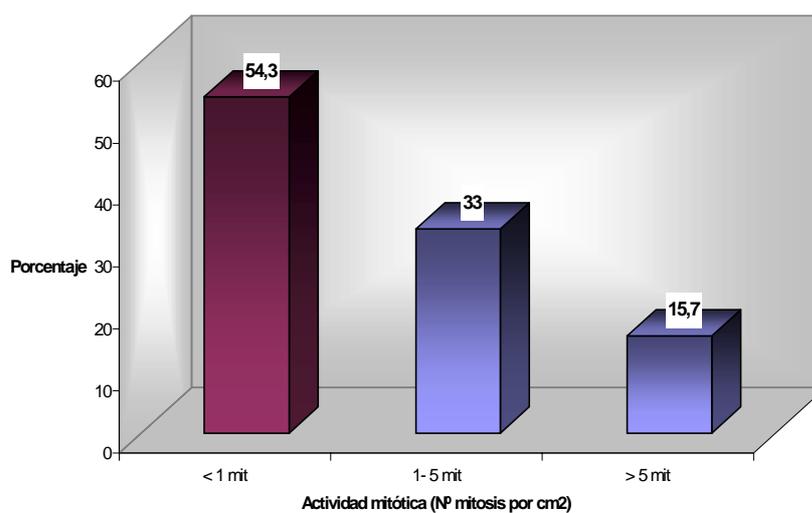


Fig.39. Actividad mitótica.

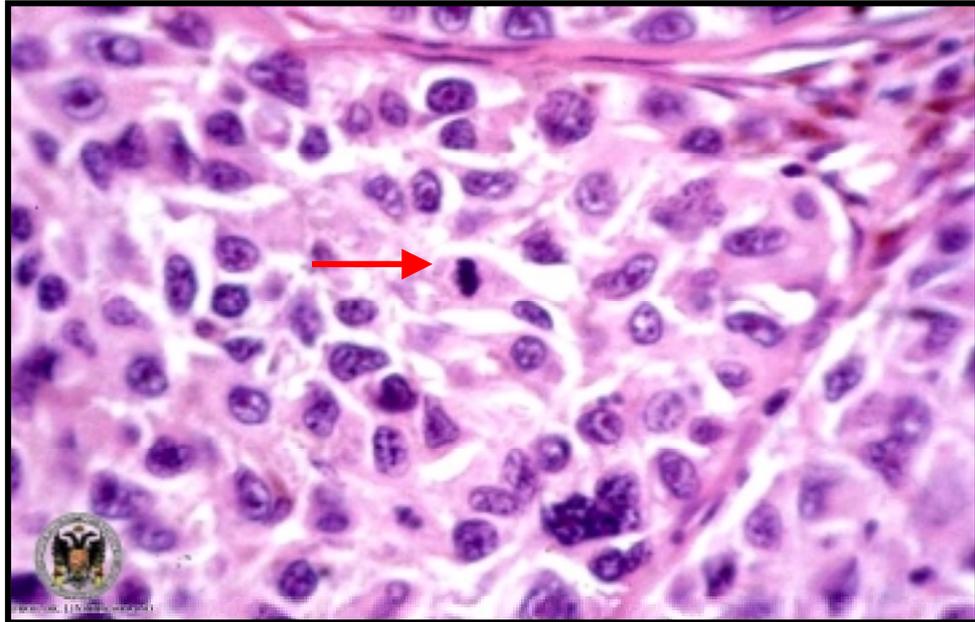


Fig.40. Melanoma: Escasa actividad mitótica

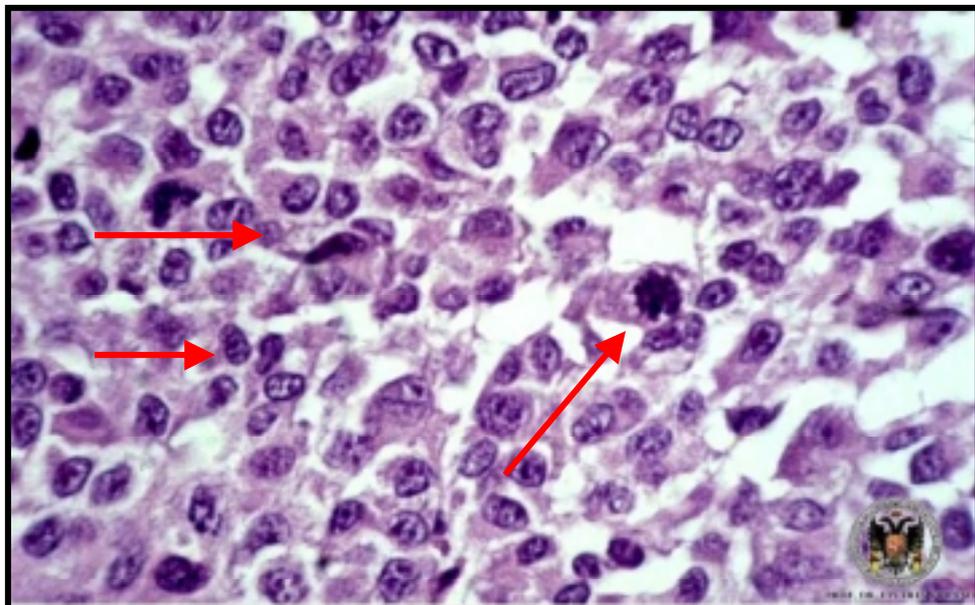


Fig.41. Melanoma: Intensa actividad mitótica

Infiltrado linfocitario

En 2 casos (2,9%) no se halló infiltrado linfocitario. En la mayoría de los casos el infiltrado linfocitario tipificado fue ligero (38 pacientes, 54,3%) o moderado (22 pacientes, 31,4%), mientras que en sólo 8 casos (11,4%) se pudo considerar intenso el infiltrado linfocitario (**Fig.42-43**).

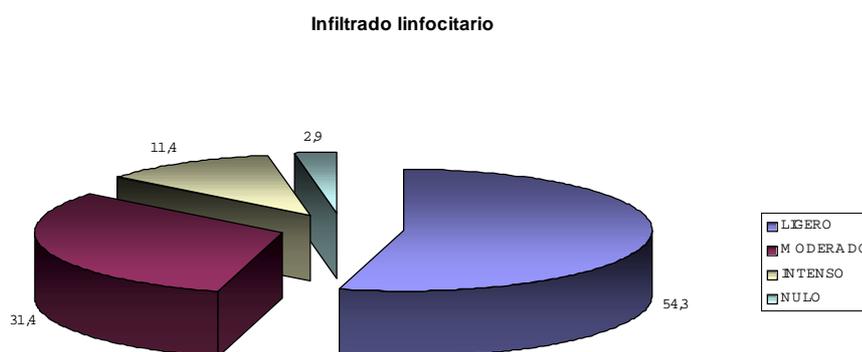


Fig.42. Infiltrado linfocitario

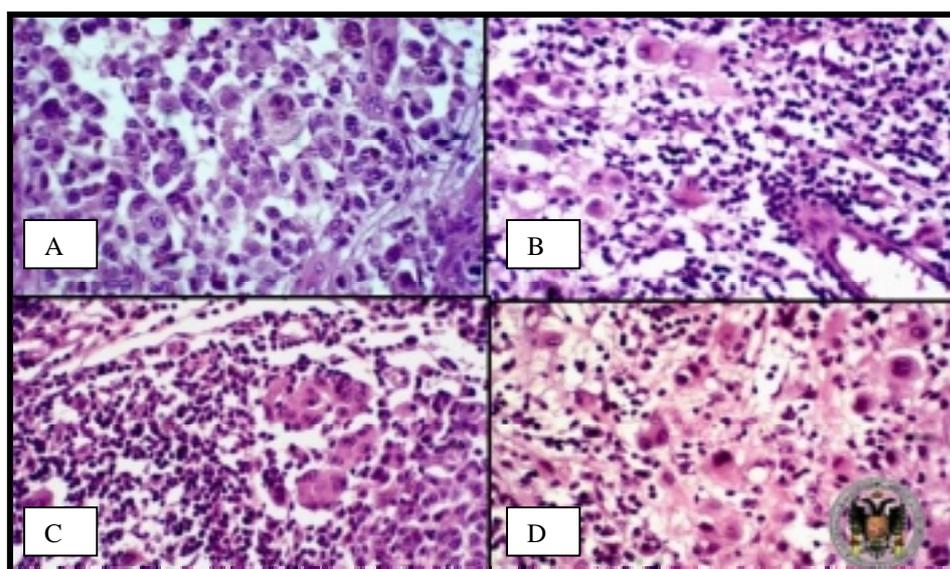


Fig.43. Infiltrado linfocitario ligero, moderado e intenso (A,B,C). El infiltrado de PMN en melanomas no ulcerados no es factor pronóstico (D).

Presencia de elastosis

De todos los tumores estudiados, sólo en 4 casos (5,7%) existía elastosis. (Fig.44).

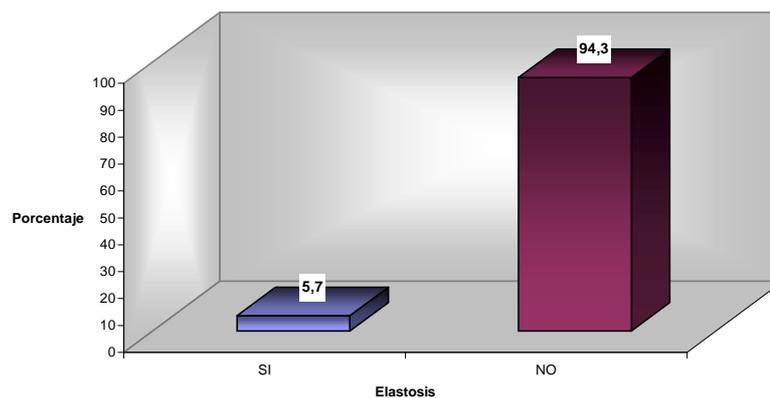


Fig.44. Presencia de elastosis.

Presencia de satelitis

De todos los tumores, sólo en 2 casos (2,9 %) existía satelitis. (Fig.45).

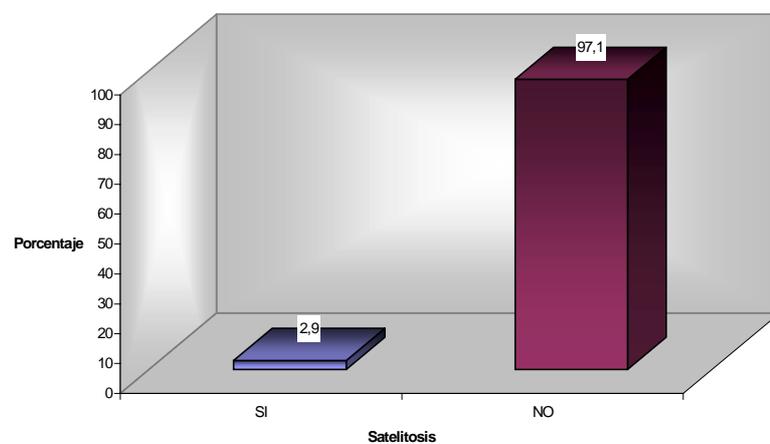


Fig.45. Presencia de satelitis

Invasión angiolinfática

Sólo se describió un caso de invasión angiolinfática (1,4%) del total de melanomas estudiados (**Fig.46**).

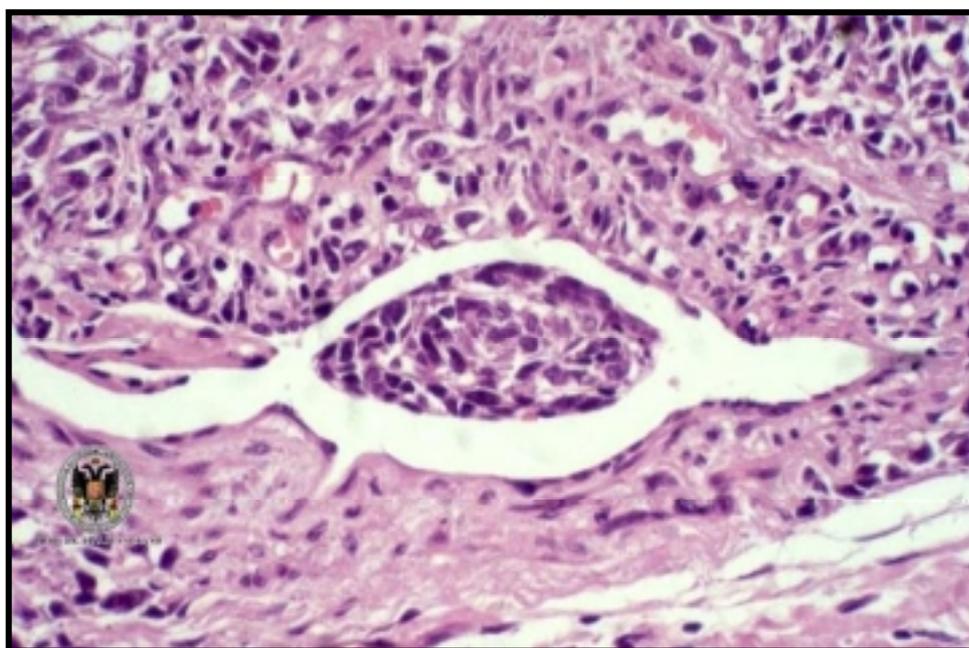


Fig.46. Melanoma: Invasión angiolinfática

Invasión perineural

Sólo se describió un caso de invasión perineural (1,4%) del total de melanomas estudiados.

8.- Características inmunohistoquímicas.

El estudio inmunohistoquímico se realizó en los 21 pacientes en los que se determinaron metástasis: p53 (intensidad y localización), Ki-67 (intensidad y localización), HMB-45 (Localización) y S-100 (Localización), y por otro lado en los 14 pacientes de espesor superior a 1,5 mm que no desarrollaron metástasis.

Proteína p53

La expresión de p53 fue negativa en 32/35 casos y positiva en 3/35, siendo moderada en dos casos e intensa en 1. (**Fig.47**).

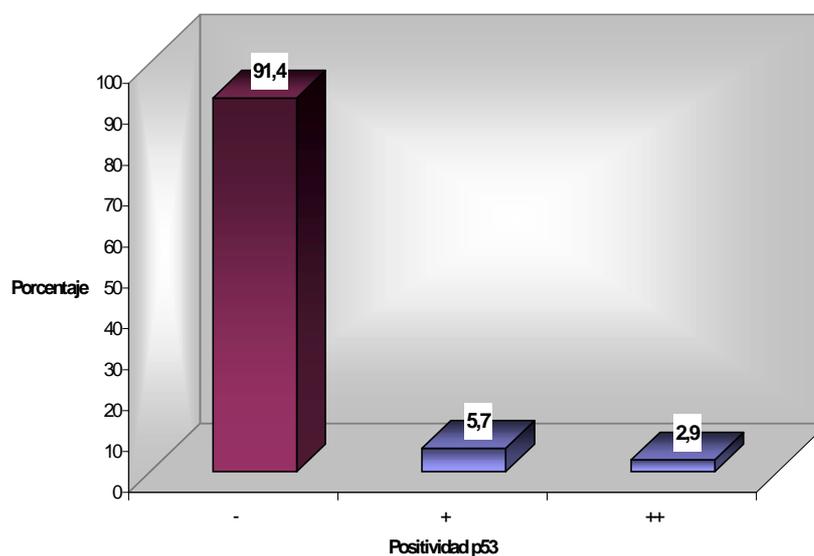


Fig.47. Positividad p53

En 1 caso se expresó de forma focal y en los dos restantes de forma difusa (Fig.48).



Fig.48. Localización p53

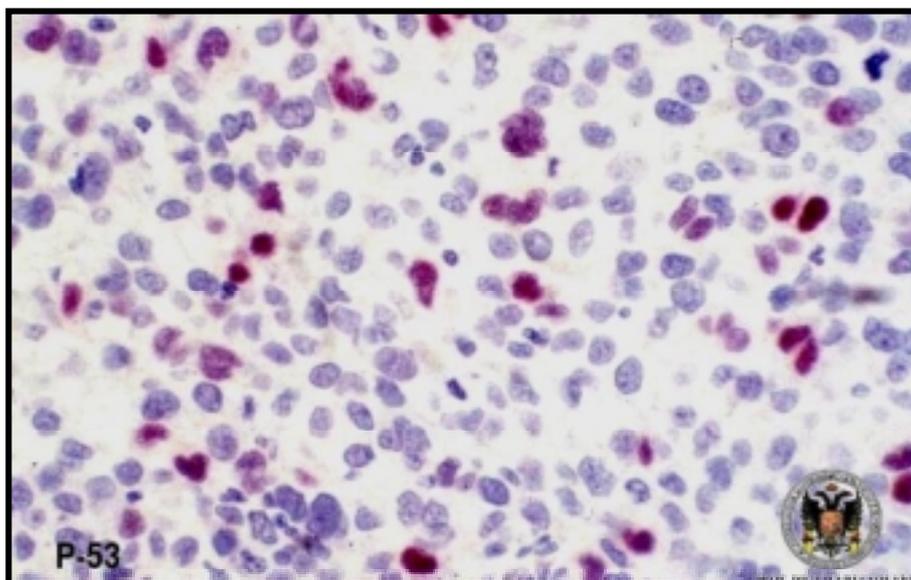


Fig.49. Melanoma: Intensa expresión de p53

Antígeno Ki 67

Fue positivo en los 35 casos estudiados. La expresión era ligera en 9/35 (25,7%), moderada en 15/35 (42,9 %) e intensa en 11/35 (31,4%). (**Fig.50**).

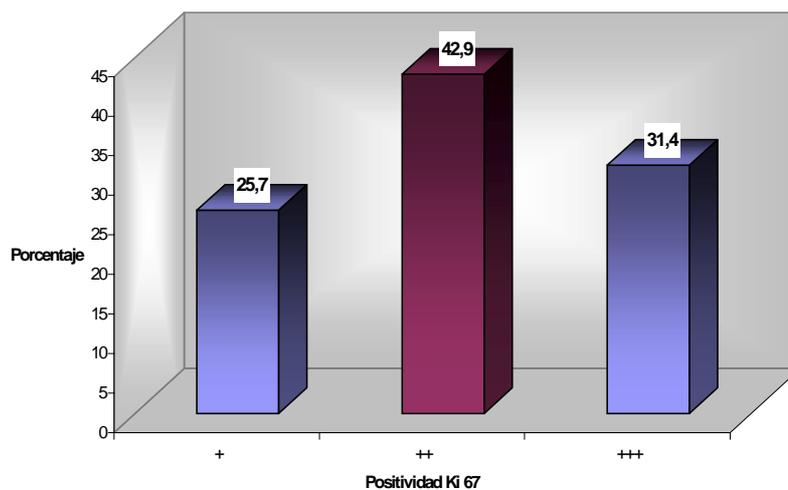


Fig.50. Positividad Ki-67

En 12 casos (34,3%) se expresó de forma difusa y en los 23 casos restantes (65,7%) de forma focal. (**Fig.51-53**).

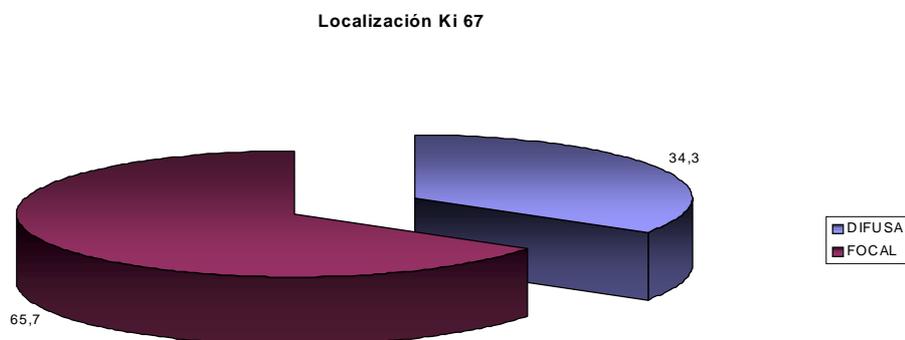


Fig.51. Localización Ki-67

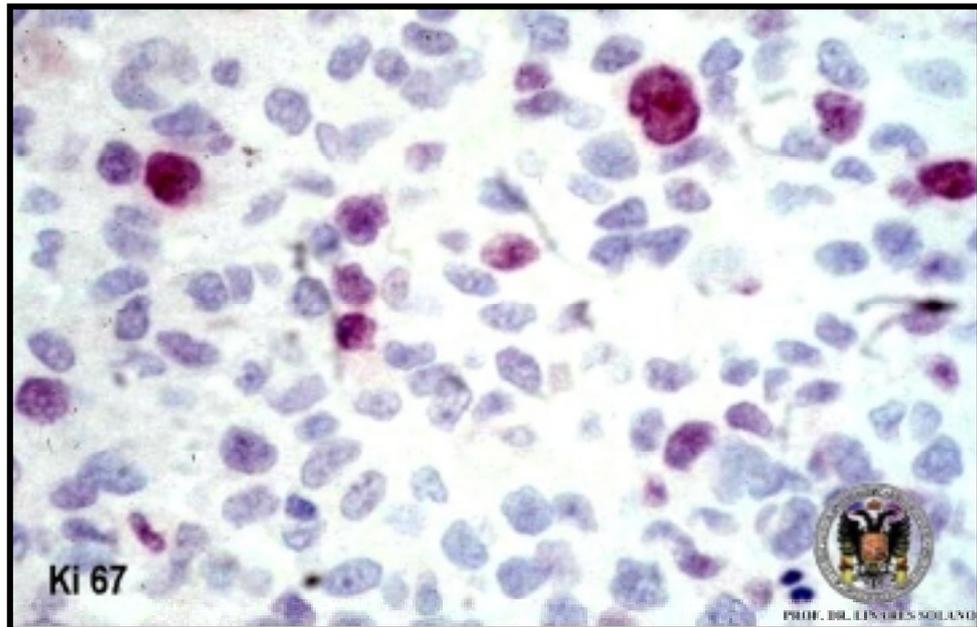


Fig.52. Melanoma: Moderada expresión moderada de Ki-67

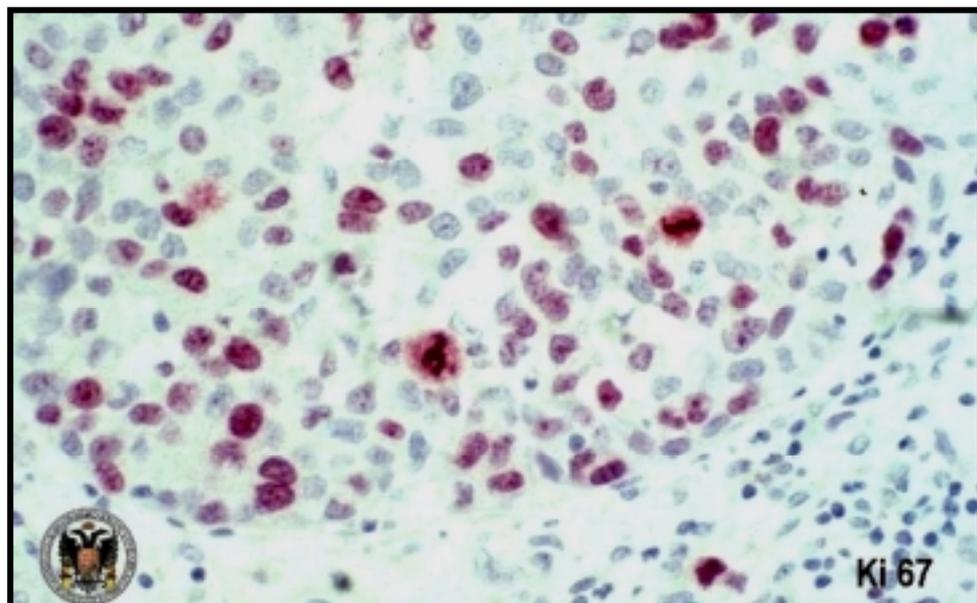


Fig.53. Melanoma: Intensa expresión de Ki-67

HMB- 45

Fue positivo en todos los pacientes que desarrollaron metástasis. En 4/21 (19%) la expresión era uniforme y se distribuía por todo el tumor y en 17/21 (81%) la expresión fue focal. (Fig.54-55).

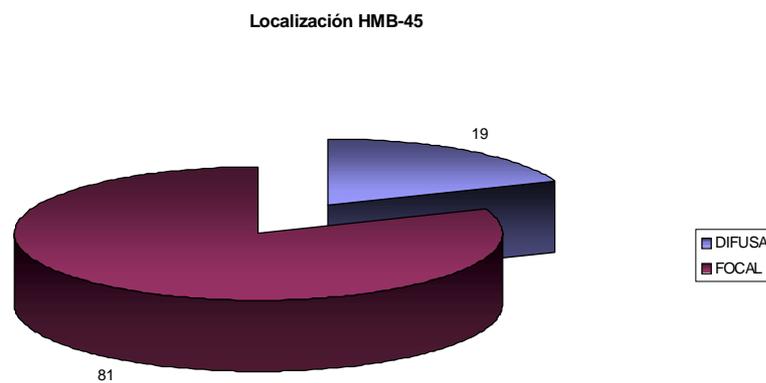


Fig.54. Localización HMB 45.

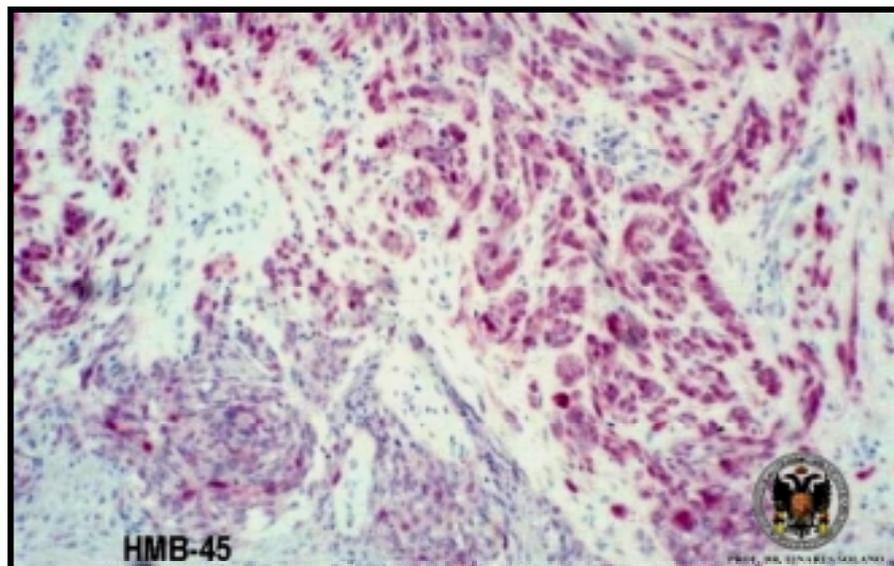


Fig.55. Melanoma: HMB45. Expresión inmunohistoquímica focal.

Proteína S-100

Fue positivo en todos los pacientes que desarrollaron metástasis. En 1/21 (4,8%) la expresión fue difusa y en 20/21 (95,2%) la expresión fue focal (**Fig.56-57**).

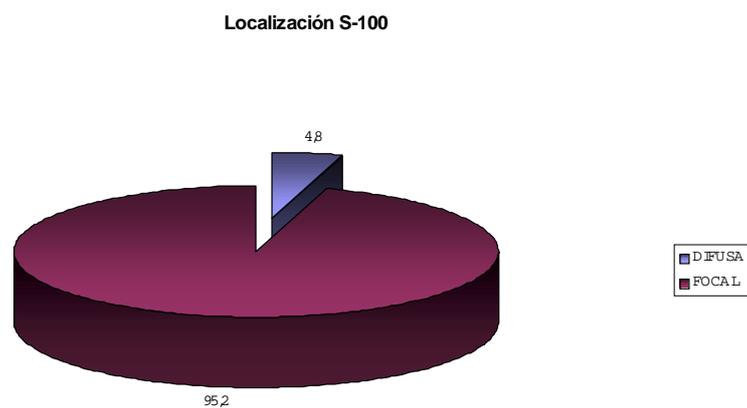


Fig.56. Localización S-100

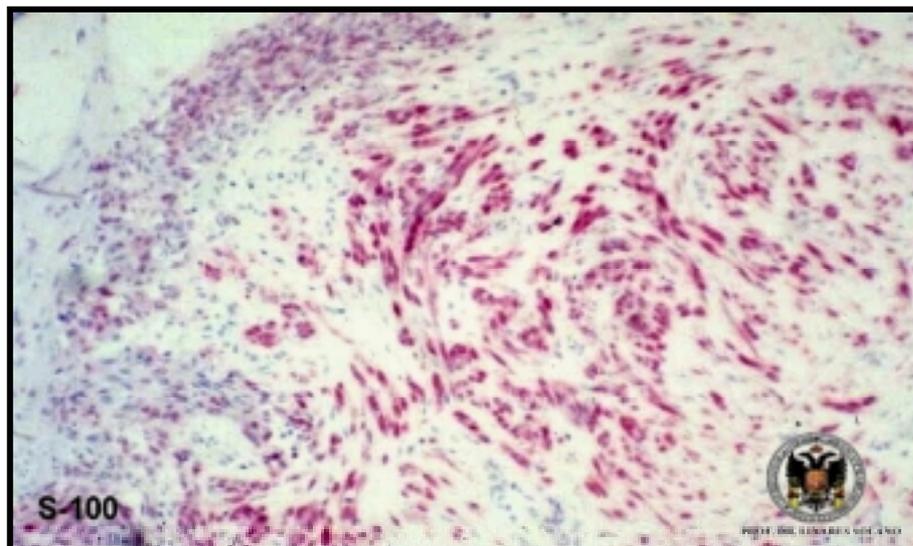


Fig.57. Melanoma fusocelular: Expresión inmunohistoquímica de S-100

9.- Biología molecular. Pérdida de heterocigosidad de la p53.

Al igual que en el estudio inmunohistoquímico, se realizó en los melanomas metastásicos y en aquellos que no metastatizaron pero que presentaron un espesor superior a 1,5 mm. El 68,6 % presentaban pérdida de heterocigosidad en el gen que codifica a p53, mientras que el 31,4% restante ésta no se produjo con las diferencias apreciadas según se de en melanomas con aparición de metástasis en su evolución o no.(Figs.58-59).

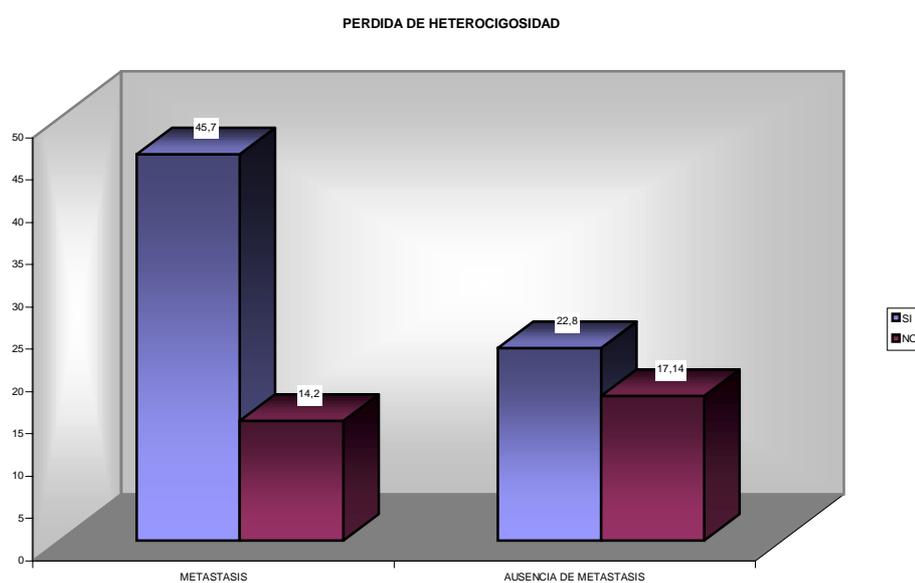


Fig.58. Pérdida de heterocigosidad p53

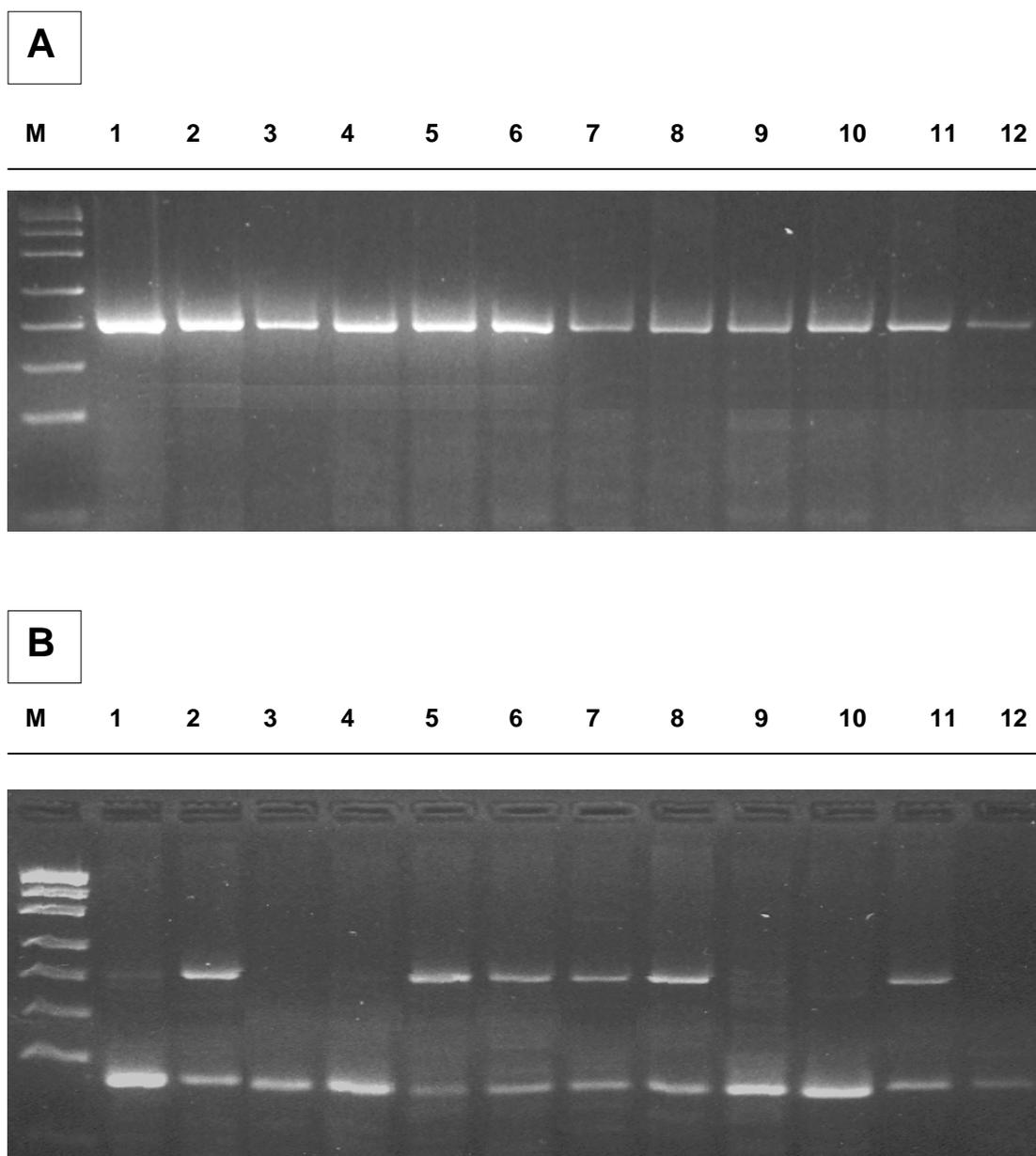


Fig.59. Análisis de pérdida de heterocigosidad (LOH) del gen p53 mediante amplificación por PCR del exón 4. **A:** Electroforesis en gel de agarosa al 4% teñido con bromuro de etidio, de los productos amplificados por PCR. **B:** Electroforesis de los productos de PCR tras ser digeridos con la endonucleasa de restricción. Las muestras 1, 3, 4, 9,10 y 12 presentan pérdida de heterocigosidad (LOH). Las muestras 2, 5, 6, 7, 8 y 11 muestran un patrón heterocigoto.

ANALISIS BIVARIANTE

En el análisis bivalente establecemos las posibles relaciones entre dos variables que agrupamos de acuerdo con su nivel de medida en:

- **Variables numéricas o cuantitativas.** Edad, tiempo libre de enfermedad, diámetro mayor, diámetro menor, tiempo de evolución en meses y espesor del tumor .
- **Variables ordinales.** Estratos de edad, Espesor agrupado, Nivel de Clark, N° mitosis por cm² e Infiltrado linfocitario.
- **Variables dicotómicas.** Sexo, Antecedentes de melanoma familiar, Antecedentes de carcinoma visceral familiar, Tumor previo, Quemaduras frecuentes en la infancia, Cáncer visceral asociado, Pigmentación, Zona fotoexpuesta, Epiluminiscencia, Aparición de metástasis, Ulceración, Invasión angiolinfática, Invasión perineural, Elastosis y Satelitosis.
- **Variables categóricas.** Color de ojos agrupado, Color del pelo, fototipo, Profesión agrupada por exposición solar, Exposición solar total agrupada, Número de nevus agrupado, Cáncer cutáneo asociado, Forma clínica, Localización, Lado, Puntuación de Argenzziano, Primera metástasis en aparecer y Celularidad.

Estudiamos las variables inmunohistoquímicas en los 21 pacientes de los 70 que desarrollaron metástasis en su evolución clínica y de 14 pacientes sin metástasis pero con espesor superior a 1,5 mm. Se dividen en:

1. Variables ordinales: Positividad p53 y Positividad Ki67
2. Variables categóricas: Localización p53, Localización Ki-67, Localización HMB-45 y Localización S100.

Hemos considerado como variables dependiente básica la aparición de metástasis y luego aquellas consideradas como fundamentales en el pronóstico del melanoma según el Comité de Expertos recogida en el JAAD en 2001 (Sober A, 2001) y otras de importancia clínico-epidemiológica:

1. Ulceración
2. *Quemaduras*
3. Forma clínica
4. Espesor de Breslow
5. *Edad*
6. *Sexo*

Por otro lado y en relación a las características inmunohistoquímicas del tumor, realizamos el análisis relacionando las variables inmunohistoquímicas y moleculares estudiadas entre sí (p53, Ki-67, LOH) y con las demás variables clínicas e histológicas.

1. Aparición de metástasis

La **Tabla 10** muestra los estadísticos descriptivos de las variables cuantitativas recogidas en el estudio según la aparición o no de metástasis, así como su significación estadística. Así pues, la media de edad de los individuos que tuvieron metástasis era de 58,76 años, superior a la de los que no presentaron metástasis (51,47 años), aunque estas diferencias de edad entre ambos grupos no llegaron a ser estadísticamente significativas ($p=0,091$). En cuanto al diámetro mayor y menor del tumor las diferencias respecto a las medias sí son estadísticamente significativas ($p=0,001$ y $p=0,005$ respectivamente), presentando diámetros superiores el grupo con metástasis en comparación con el grupo sin metástasis. El tiempo medio libre de enfermedad es significativamente superior en el grupo que no desarrolló metástasis (82,39) respecto al grupo con metástasis (18,9; $p<0,001$).

Variables dependientes	Aparición de metástasis	Media	Intervalo de confianza para la media al 95%		Desv. típ.	Mínimo	Máximo	Media
			Límite inferior	Límite superior				
Edad (t=-1,716; p=0,091)	0 No	51,47	46,80	56,14	16,257	15	81	2,322
	1 Si	58,76	51,30	66,22	16,392	26	83	3,577
Diámetro mayor (t=-3,459; p=0,001)	0 No	1,596	1,350	1,842	,8566	,4	4,0	,1224
	1 Si	2,457	1,931	2,984	1,1565	1,2	5,0	,2524
Diámetro menor (t=-2,612; p=0,011)	0 No	1,210	1,029	1,392	,6312	,3	3,0	,0902
	1 Si	1,686	1,305	2,067	,8368	,8	4,5	,1826
Tiempo de evolución en meses (t=1,071; p=0,288)	0 No	28,27	20,03	36,50	28,679	1	120	4,097
	1 Si	21,10	13,68	28,51	16,288	2	72	3,554
Tiempo libre de enfermedad (t=11,723; p<0,001)	0 No	82,39	73,83	90,94	29,777	4	158	4,254
	1 Si	18,19	11,00	25,38	15,804	0	55	3,449
Espesor de Breslow (t=-3,063; p=0,005)	0 No	2,000	1,176	2,824	2,8676	,0	15,0	,4097
	1 Si	4,819	3,100	6,538	3,7766	,8	12,0	,8241

Tabla 10. Variables cuantitativas relacionadas con la aparición de metástasis

Las siguientes figuras (**Figs. 60-61**) muestran las medias de las variables analizadas y sus intervalos de confianza al 95% para ambos grupos de individuos (aparición de metástasis o no). Así pues, se observa gráficamente las diferencias entre ambos grupos en cuanto al tiempo libre de enfermedad, diámetros mayor y menor y espesor de Breslow, siendo éstas menores con respecto a la edad y al tiempo de evolución en meses.

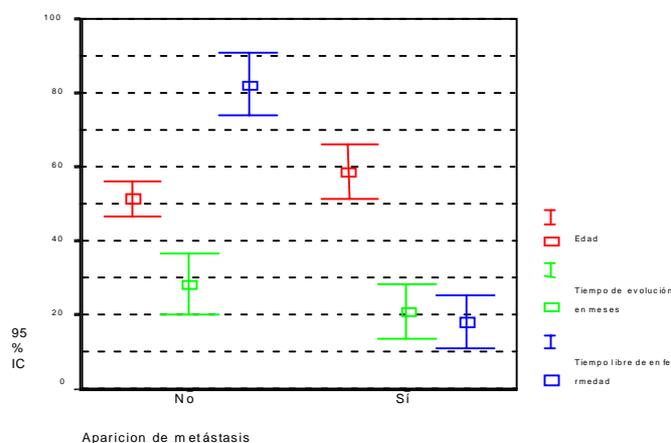


Fig.60. Edad, Tiempo de evolución y Tiempo libre de enfermedad.

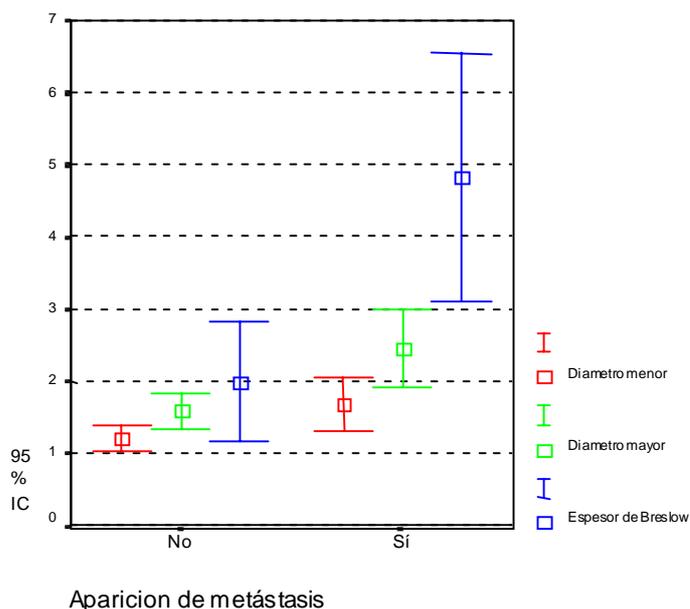


Fig.61. Diámetro mayor, diámetro menor y espesor de Breslow.

Respecto a la asociación de la aparición de metástasis con las variables ordinales, ésta se asocia de manera significativa con niveles altos de Clark (U Mann-Whitney=149,5; $p<0,001$), con n° de mitosis por cm^2 elevados (U Mann-Whitney=344; $p=0,015$), con un menor infiltrado linfocitario tipificado (U Mann-Whitney=320,5; $p=0,006$) y con un mayor espesor de Breslow agrupado (U Mann-Whitney=220; $p<0,001$). Con fototipo no se encontró asociación estadísticamente significativa (U Mann-Whitney=484; $p=0,669$).

Si analizamos estas variables de manera categórica encontramos las mismas asociaciones estadísticamente significativas (**Tabla 11**). Así pues, la aparición de metástasis se asocia a niveles de Clark 4 y 5 ($p<0,001$), a n° de mitosis por cm^2 agrupado entre 1 y 5 ($p=0,012$), infiltrado linfocitario ligero ($p=0,044$), y con un espesor de Breslow agrupado mayor de 4mm. ($p=0,002$).

La **Tabla 11** muestra todas las asociaciones con una significación menor de 0,1 entre la aparición de metástasis y las variables categóricas analizadas. Así pues, ésta se encuentra asociada débilmente a los varones ($p=0,047$), a no haber tenido tumor previo ($p=0,013$), a forma clínica MLA ($p<0,001$), a la localización en pie ($p<0,001$), y a la celularidad fusocelular ($p=0,008$).

Variables	Prueba χ^2	Grados de libertad	Significación (p)
Metástasis-sexo (hombre)	3,951	1	0,047
Metástasis-tumor previo (no)	6,139	1	0,013
Metástasis-forma clínica (MLA)	28,436	4	<0,001
Metástasis-localización (pie)	21,75	6	0,001
Metástasis-epiluminiscencia (no)	6,739	1	0,009
Metástasis-espesor agrupado (≥ 4 mm.)	16,534	4	0,002
Metástasis-nivel de Clark (≥ 4)	27,705	4	<0,001
Metástasis-nº mitosis por cm^2 (1-5)	8,875	2	0,012
Metástasis-infiltrado linfect. (ligero)	7,924	3	0,048
Metástasis-celularidad (fusocelular)	13,175	5	0,008

Tabla 11. Variables categóricas relacionadas con la aparición de metástasis.

2.- Presencia de ulceración

La **Tabla 12** muestra los estadísticos descriptivos de las variables cuantitativas según la presencia o ausencia de ulceración en el tumor, así como su significación estadística. El diámetro mayor y el diámetro menor de los tumores ulcerados fue superior al de aquellos que no lo estaban, no siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p= 0,075$ y $p=0,098$ respectivamente), pero con claros indicios de significación. En cuanto al espesor de Breslow, la diferencia respecto a la media sí fue estadísticamente significativa, siendo más profundos los tumores ulcerados ($p=0,001$).

	Ulceración	Media	Intervalo de confianza para la media al 95%		Desv. típ.	Mínimo	Máximo	SE
			Límite inferior	Límite superior				Media
Edad (t=-0,894; p=0,375)	No	52,17	46,79	57,55	17,05	15	83	2,66
	Si	55,76	49,75	61,77	15,81	26	83	2,94
Diámetro mayor (t=-1,806; p=0,075)	No	1,671	1,374	1,967	,939	,4	4,5	,147
	Si	2,114	1,693	2,535	1,106	,6	5,0	,205
Diámetro menor (t=-1,68; p=0,068)	No	1,232	1,036	1,428	,621	,3	3,0	,097
	Si	1,524	1,206	1,842	,836	,5	4,5	,155
Tiempo de evolución en meses (t=-1,258; p=0,213)	No	22,88	16,10	29,66	21,49	1	108	3,36
	Si	30,69	19,09	42,29	30,50	3	120	5,66
Tiempo libre de enfermedad (t=1,368; p=0,177)	No	68,78	57,84	79,72	34,67	0	158	5,41
	Si	55,14	37,99	72,28	45,08	0	156	8,37
Espesor de Breslow (t=-3,349; p=0,001)	No	1,751	,828	2,675	2,926	,0	15,0	,457
	Si	4,393	3,076	5,710	3,463	,4	12,0	,643

Tabla 12. Variables cuantitativas relacionadas con la presencia de ulceración.

La asociación de la presencia de ulceración con las variables ordinales mostró los siguientes resultados. La presencia de ulceración se asocia de manera significativa con Nivel de Clark alto (U de Mann Whitney=369,5, p=0,005), N° mitosis por cm² elevado (U de Mann Whitney=311, p<0,001) y Positividad para Ki-67 (U de Mann Whitney=22,5, p=0,015), sin mostrar asociación con el fototipo (U de Mann Whitney=504, p=0,238), infiltrado linfocitario (U de Mann Whitney=558,5, p=0,633) ni positividad para p53 (U de Mann Whitney=40, p=0,083).

La **Tabla 13** señala las asociaciones con significación < 0,1 entre la presencia de ulceración y las variables categóricas analizadas, incluyendo las variables ordinales que han sido analizadas anteriormente. Así pues, el sexo varón se asocia con la presencia de ulceración (P=0,05), la forma clínica Polipoide con la presencia de ulceración y forma clínica SSM con su ausencia (p=0,004), el espesor agrupado >=4mm con presencia de ulceración (p<0,001), nivel de Clark 5 con su presencia y nivel 2 con su ausencia (p=0,026), n° de mitosis por cm² superior a 1 con su presencia e inferior a 1 con su ausencia (p=0,001), Positividad Ki67 intensa (+++) con su presencia (p=0,06).

Variables	Prueba χ^2	Grados de libertad	Significación (p)
Ulceración-sexo (hombre)	3,795	1	0,051
Ulceración-forma clínica (MLA)	11,018	4	0,004
Espesor Breslow<1- NO ulceración Espesor Breslow \geq 4 mm. – ulceración	20,278	3	<0,001
Ulceración-nivel de Clark(\geq 4)	10,73	4	0,026
Ulceración-nº mitosis por cm ² (1-5)	14,571	2	0,001
Ulceración-positividad Ki67 +++	6,205	2	0,06

Tabla 13. Variables categóricas relacionadas con la presencia de ulceración.

3.- Antecedentes de quemaduras

El número de nevus superior a 20 se asocia de manera significativa con el grupo de pacientes que desarrollaron quemaduras frecuentes durante la infancia ($\chi^2=10,658$; $p=0,001$). La exposición solar total y la profesión según exposición solar no presentaron asociación estadísticamente significativa con quemaduras ($p=0,021$ y $p=0,166$ respectivamente).

4.- Formaantomoclínica

La **Tabla 14** muestra los estadísticos descriptivos de las variables de estudio según las diferentes formas clínicas analizadas, así como su significación estadística.

		N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
Edad (F=5,851; p=0,005)	SSM	33	52,88	15,376	2,677	47,43	58,33	17	81
	MLA	13	67,46	10,260	2,846	61,26	73,66	53	83
	MP	17	50,82	15,347	3,722	42,93	58,71	26	82
	Total	63	55,33	15,582	1,963	51,41	59,26	17	83
Diámetro mayor (F=3,402; p=0,04)	SSM	33	1,709	,9125	,1589	1,386	2,033	,4	4,0
	MLA	13	2,554	1,1435	,3172	1,863	3,245	1,2	5,0
	MP	17	1,841	1,0488	,2544	1,302	2,380	,6	5,0
	Total	63	1,919	1,0375	,1307	1,658	2,180	,4	5,0
Diámetro menor (F=4,908; p=0,011)	SSM	33	1,279	,6832	,1189	1,037	1,521	,3	3,0
	MLA	13	1,915	,9433	,2616	1,345	2,485	,8	4,5
	MP	17	1,182	,4531	,1099	,949	1,415	,5	2,0
	Total	63	1,384	,7364	,0928	1,199	1,570	,3	4,5
Tiempo de evolución en meses (F=0,109; p=0,897)	SSM	33	27,39	23,932	4,166	18,91	35,88	3	120
	MLA	13	28,92	33,024	9,159	8,97	48,88	2	108
	MP	17	24,47	28,527	6,919	9,80	39,14	1	120
	Total	63	26,92	26,820	3,379	20,17	33,68	1	120
Tiempo libre de enfermedad (Brown-Forsythe=4,939; p=0,014)	SSM	33	73,61	21,237	3,697	66,08	81,14	29	120
	MLA	13	32,00	42,190	11,701	6,50	57,50	0	158
	MP	17	60,82	47,453	11,509	36,43	85,22	3	121
	Total	63	61,57	37,669	4,746	52,08	71,06	0	158
Espesor de Breslow (Brown-Forsythe=12,576; p<0,001)	SSM	33	1,179	2,5352	,4413	,280	2,078	,0	15,0
	MLA	13	3,323	2,6511	,7353	1,721	4,925	,0	8,0
	MP	17	5,535	3,4429	,8350	3,765	7,305	,8	12,0
	Total	63	2,797	3,3533	,4225	1,952	3,641	,0	15,0

Tabla 14. Variables cuantitativas relacionadas con la forma anatomoclínica.

Según el test de comparaciones múltiples de Bonferroni, los pacientes con MLA presentan edades significativamente mayores en relación a los pacientes con las formas clínicas SSM y MP ($p=0,01$ y $p=0,008$ respectivamente). Los pacientes con MLA presentan tumores de diámetro mayor significativamente más elevado en relación a los pacientes portadores de un SSM ($p=0,037$). En relación al diámetro menor, los pacientes con MLA presentan un diámetro menor significativamente superior a las formas clínicas MP y SSM ($p=0,017$ y $p=0,021$ respectivamente). Por otro lado y basándonos en el test de comparaciones múltiples de la C de Dunnett (ya que estas variables no cumplían el supuesto de homocedasticidad), el tiempo libre de enfermedad es significativamente mayor en los pacientes con forma clínica SSM respecto a los pacientes con forma clínica polipoide. Estos pacientes presentan también de manera significativa un menor espesor de Breslow en relación a los pacientes con forma clínica polipoide.

Respecto a las variables categóricas los resultados obtenidos fueron (**Tabla 15**): La forma clínica SSM se asocia con el sexo femenino y la forma clínica MLA con el sexo masculino ($p=0,011$); La forma clínica MLA con las localizaciones en mano y pie y la forma clínica SSM con las localizaciones en brazo y pierna ($p<0,001$). Las formas clínicas polipoide (MP) y SSM se encontraban localizadas en zonas no fotoexpuestas y las formas clínicas acrales en zonas fotoexpuestas ($p=0,001$). La forma clínica MLA se asocia estadísticamente a la aparición de metástasis y la forma clínica SSM con la no aparición ($p<0,001$), existiendo una asociación estadísticamente significativa de la forma clínica MLA con las metástasis ganglionares y viscerales como primeras metástasis en aparecer ($p<0,001$). Con respecto a nivel de Clark, la forma clínica SSM se asocia con niveles bajos (1-3), mientras que MLA se asocia significativamente a niveles altos (4-5). La forma clínica SSM se asocia a la ausencia de ulceración y la forma clínica polipoide a su presencia ($p= 0,004$). Por último, la forma clínica SSM se asocia a escaso número de mitosis (<1) y la forma clínica polipoide a n° mitosis 1-5 ($p<0,001$).

Variables	Prueba χ^2	Grados de libertad	Significación (p)
MLA-sexo hombre SSM-sexo mujer	8,768	2	0,011
MLA-localización mano y pie SSM-localización brazo y pierna	51,408	12	$<0,001$
MP y SSM-zona no fotoexpuesta MLA-zona fotoexpuesta	16,038	2	0,001
MLA-metástasis SSM- no metástasis	26,764	2	$<0,001$
Breslow <1 - SSM Breslow 2-3,99 mm - MLA Breslow ≥ 4 - MP	44,348	6	$<0,001$
MLA-nivel de Clark IV y V SSM- nivel de Clark I-III	36,187	8	$<0,001$
SSM-ulceración MP- no ulceración	11,018	2	0,003
SSM- n° mitosis por $cm^2 <1$ MP- n° mitosis por cm^2 (1-5)	24,793	4	$<0,001$

Tabla 15. Variables categóricas relacionadas con la forma anatomoclínica.

5.- Espesor de Breslow.

La **Tabla 16** muestra los estadísticos descriptivos de las variables de estudio según el **espesor de Breslow agrupado (<1, 1-1'9, 2-3'9 y >=4 mm.)**, así como su significación estadística.

		N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
Edad (F=2,147; p=0,103)	<1	27	47,81	16,991	3,270	41,09	54,54	17	81
	1-2	16	57,69	18,194	4,549	47,99	67,38	15	83
	2-4	8	61,00	13,753	4,862	49,50	72,50	41	80
	>=4	19	55,47	13,684	3,139	48,88	62,07	26	82
	Total	70	53,66	16,525	1,975	49,72	57,60	15	83
Diámetro mayor (Brown-Forsythe=4,263; p=0,01)	<1	27	1,367	,7494	,1442	1,070	1,663	,4	3,0
	1-2	16	2,075	1,0479	,2620	1,517	2,633	,5	4,5
	2-4	8	2,075	,4062	,1436	1,735	2,415	1,5	2,5
	>=4	19	2,268	1,2867	,2952	1,648	2,889	,8	5,0
	Total	70	1,854	1,0277	,1228	1,609	2,099	,4	5,0
Diámetro menor (F=4,043; p=0,011)	<1	27	1,007	,4827	,0929	,816	1,198	,3	2,0
	1-2	16	1,525	,7206	,1802	1,141	1,909	,4	3,0
	2-4	8	1,775	,4268	,1509	1,418	2,132	1,3	2,4
	>=4	19	1,521	,9331	,2141	1,071	1,971	,5	4,5
	Total	70	1,353	,7269	,0869	1,180	1,526	,3	4,5
Tiempo de evolución en meses (F=1,124; p=0,346)	<1	27	27,00	25,401	4,889	16,95	37,05	6	120
	1-2	16	32,75	32,122	8,030	15,63	49,87	3	120
	2-4	8	30,00	35,315	12,486	,48	59,52	2	108
	>=4	19	17,63	11,413	2,618	12,13	23,13	1	40
	Total	70	26,11	25,691	3,071	19,99	32,24	1	120
Tiempo libre de enfermedad (Brown-Forsythe=1,943; p=0,15)	<1	27	75,89	24,879	4,788	66,05	85,73	29	120
	1-2	16	62,38	30,859	7,715	45,93	78,82	10	120
	2-4	8	66,38	57,411	20,298	18,38	114,37	5	158
	>=4	19	44,26	49,124	11,270	20,59	67,94	0	156
	Total	70	63,13	39,588	4,732	53,69	72,57	0	158
Espesor de Breslow	<1	27	,467	,2882	,0555	,353	,581	,0	,9
	1-2	16	1,325	,2864	,0716	1,172	1,478	1,0	1,9
	2-4	8	2,738	,5476	,1936	2,280	3,195	2,0	3,6
	>=4	19	7,553	3,1662	,7264	6,027	9,079	4,0	15,0
	Total	70	2,846	3,3982	,4062	2,035	3,656	,0	15,0

Tabla 16. Variables cuantitativas relacionadas con el Espesor de Breslow

En relación a las variables cuantitativas, las asociaciones estadísticamente significativas en virtud al espesor agrupado son los tumores de espesor inferior a 1 mm en relación a los tumores de espesor intermedio (2-4 mm), que presentan una media de diámetro mayor y diámetro menor significativamente inferior.

Si consideramos la variables categóricas (**Tabla 17**), el sexo femenino se asocia con espesores bajos (<1 mm) y el sexo masculino con espesores altos (≥ 2 mm), aunque no es una significación alta ($p=0,04$). Los espesores <1 mm se dan con más frecuencia en individuos sin tumor previo, y los de 2-4 mm en individuos con tumor previo, sin llegar a tener significación ($p=0,059$). En los pacientes cuyos tumores presentaban un espesor de Breslow entre 2 y 4 mm el porcentaje de individuos con color de ojos oscuros era de un 87,5%, siendo este porcentaje inferior al 73% en el resto de grupos de espesor de Breslow (estas diferencias porcentuales no son estadísticamente significativas, $p=0,435$).

Los tumores de espesor inferior a 1 mm eran mayoritariamente de la forma clínica SSM (88%), pigmentados (96,3%), con epiluminiscencia (74,1%) y no ulcerados (85,2%) y los tumores de espesor ≥ 4 mm de la forma clínica polipoide (70,6%), con ausencia de pigmento (21,1%, en el resto de grupos de espesor el porcentaje es inferior a un 6,3%), sin epiluminiscencia (84,2%) y ulcerados (78,9%), presentando respectivamente significaciones de $p<0,001$, $p=0,141$, $p=0,001$ y $p<0,001$.

Los tumores de espesor ≥ 4 mm se encuentran asociados a la aparición de metástasis ($p=0,001$). Los tumores de espesor inferior a 1 presentan asociación significativa con niveles de Clark I y II, los de espesor entre 1 y 2 con nivel de Clark III, los de espesor entre 2 y 4 mm con nivel de Clark IV y aquellos tumores de espesor ≥ 4 mm con niveles de Clark IV y V ($p<0,001$). En relación al número de mitosis por cm^2 los tumores de espesor menor de 1 mm no presentaban actividad mitótica y los de espesor mayor de 4mm presentaban un número de mitosis por cm^2 superior o igual a 1 ($p=0,006$).

Variables	Prueba χ^2	Grados de libertad	Significación (p)
Breslow <1 - sexo mujer Breslow \geq 2mm - sexo hombre	8,536	3	0,04
Breslow <1 – Tumor previo Breslow 2-4 mm – NO tumor previo	7,439	3	0,059
Breslow<1 - Forma clínica SSM Breslow 2-4 mm - Forma clínica MLA Breslow \geq 4 – Forma clínica MP	44,348	6	<0,001
Breslow<1 – Epiluminiscencia Breslow \geq 4 – No epiluminiscencia	17,223	3	0,001
Breslow<1 – NO Metástasis Breslow \geq 2 – Metástasis	15,411	3	0,001
Breslow<1-nivel de Clark I y II Breslow 1-2 mm - nivel de Clark III Breslow 2-4 mm - nivel de Clark IV Breslow \geq 4 mm. - nivel de Clark IV y V	64,634	12	<0,001
Breslow<1- NO ulceración Breslow \geq 4 mm. – ulceración	20,278	3	<0,001
Breslow<1-nº mitosis por cm^2 <1 Breslow \geq 4 mm. - nº mitosis por cm^2 \geq 1	17,752	6	0,006

Tabla 17. Variables categóricas relacionadas con el espesor de Breslow.

La **Tabla 18** muestra los estadísticos descriptivos y la significación estadística obtenidos del cruce de las variables categóricas del estudio con el **espesor de Breslow medido de manera continua**. Únicamente se incluyen aquellas variables con las que el espesor del tumor ha tenido una significación inferior a 0,1. Así pues, los varones, el número de nevus superior a 20 y no pigmentado presentan valores medios de espesor de Breslow superiores, aunque sin llegar a ser estadísticamente significativo. No epiluminiscencia, la aparición de metástasis, satelitosis, y MP (respecto a SSM) sí presentan valores medios de espesor de Breslow significativamente superiores.

		Espesor de Breslow					
		Media	SE de media	Desv. típica	n	Mín	Máx
Sexo (t=1,9; p=0,062)	Varón	4,24	,82	3,28	16	,3	10,0
	Mujer	2,43	,46	3,35	54	,0	15,0
Número de nevus agrupado (t=-1,728; p=0,089)	Menos de 20	2,05	,58	3,17	30	,0	15,0
	Más de 20	3,44	,55	3,48	40	,0	12,0
Pigmentado (t=1,697; p=0,094)	No	5,07	1,47	3,61	6	,8	10,0
	Sí	2,64	,42	3,33	64	,0	15,0
Epiluminiscencia (t=4,249; p<0,001)	No	4,55	,70	4,05	33	,0	15,0
	Sí	1,34	,27	1,62	36	,0	8,0
Aparición de metástasis (t=-3,063; p=0,005)	No	2,00	,41	2,87	49	,0	15,0
	Sí	4,82	,82	3,78	21	,8	12,0
Satelitosis (t=-3,219; p=0,002)	No	2,64	,39	3,19	68	,0	15,0
	Sí	10,00	2,00	2,83	2	8,0	12,0
Forma anatomoclínica (Brown-Forsythe=12,576; p<0,001) (SSM-MP)	SSM	1,18	,44	2,54	33	,0	15,0
	MLA	3,32	,74	2,65	13	,0	8,0
	MP	5,54	,84	3,44	17	,8	12,0

Tabla 18. Variables categóricas relacionadas con el Espesor de Breslow medido de forma continua.

Las **Tablas 19 y 20** muestran las correlaciones entre el espesor de Breslow medido cuantitativamente con el resto de variables cuantitativas u ordinales del estudio. Así pues, existe correlación significativa positiva (de mayor a menor correlación) con nivel de Clark, positividad p53, diámetro mayor, positividad Ki67 y diámetro menor. Por otro lado, existe correlación significativa negativa (de mayor a menor correlación) con tiempo libre de enfermedad e infiltrado linfocitario.

		Edad	Diámetro mayor	Diámetro menor	Tiempo de evolución en meses	Tiempo libre de enfermedad
Espesor de Breslow	Correlación de Pearson	,198	,342	,258	-,164	-,379
	Significación	,101	,004	,031	,175	,001
	N	70	70	70	70	70

Tabla 19. Variables cuantitativas relacionadas con el Espesor de Breslow

		Fototipo	Nivel de Clark	Infiltrado linfocitario	Positividad p53	Positividad Ki67
Espesor de Breslow	Rho de Spearman	-,117	,814	-,261	,506	,336
	Significación	,334	,000	,029	,019	,136
	N	70	70	70	21	21

Tabla 20. Variables ordinales asociadas con el espesor de Breslow

Las asociaciones significativas descritas son similares tanto si categorizamos el espesor de Breslow, como si lo consideramos de forma continua.

6.- Edad

La tabla 17 (**Tabla 21**) muestra los resultados obtenidos del análisis bivariante de edad, en el que se han analizado diferencias de edad respecto al resto de variables cualitativas recogidas en el estudio. Se han incluido todas las variables con significación $< 0,1$.

De esta manera, el grupo de personas de mayor edad presentaron asociación estadísticamente significativa con los parámetros anatomopatológicos de elastosis, forma clínica MLA (y por tanto localizaciones acrales) y celularidad fusocelular y con la ausencia de antecedentes de melanoma familiar.

Por otro lado también apreciamos en la tabla 17, las personas de más edad tienen más tendencia a desarrollar metástasis, aunque hay que considerar los otros factores previamente mencionados que se discutirán en el apartado correspondiente.

VARIABLE	CATEGORÍA	N	MEDIA (EDAD)	DESV. TÍP. (EDAD)	E.T. MEDIA (EDAD)
Antecedente de M.familiar (T=2,152; g.l.=68; p=0,035)	No	68	54,37	16,032	1,944
	Sí	2	29,50	20,506	14,500
Aparición de metástasis (T= -1,716; g.l.=68; p=0,091)	No	49	51,47	16,257	2,322
	Sí	21	58,76	16,392	3,577
Elastosis (T= -2,223; g.l.=68; p=0,03)	No	66	52,61	16,357	2,013
	Sí	4	71,00	7,616	3,808
Forma clínica (F= 5,851; g.l.=2; p=0,005) (MLA dif. Sign. Resto)	SSM	33	52,88	15,376	2,677
	MLA	13	67,46	10,260	2,846
	MP	17	50,82	15,347	3,722
Localización (F= 4,853; g.l.=6; p<0,001) (mano y pie dif. Sign. Muslo)	Hombro	4	55,00	6,164	3,082
	Antebrazo	6	55,17	21,646	8,837
	Brazo	9	51,67	13,684	4,561
	Mano	6	69,83	9,196	3,754
	Muslo	6	32,17	12,592	5,141
	Pierna	28	50,64	14,397	2,721
	Pie	11	64,55	14,556	4,389
Celularidad (F= 4,626; g.l.=2; p=0,013) (epiteloide dif. Sign. Fusocelular)	Total	70	53,66	16,525	1,975
	Epiteloide	49	50,18	16,378	2,340
	Fusocelular	7	66,86	14,622	5,527
	Mixta	11	60,18	12,663	3,818

Tabla 21. Contrastes de igualdad de medias de edad para variables cualitativas.

En la tabla 18 se muestran las correlaciones de edad con el resto de variables cuantitativas (coeficiente de correlación de Pearson) y ordinales (coeficiente de correlación de Spearman).(**Tabla 22**).

Existe una correlación estadísticamente significativa en las personas de más edad con los siguientes parámetros: Tamaño del tumor (Diámetros mayor y menor), tiempo libre de enfermedad y tiempo de evolución en meses, espesor de Breslow, nivel de Clark, fototipo y positividad para la expresión de Ki 67.

Variables	Coef. Correlación (edad)	Sig. (bilateral)
Diámetro mayor	0,388	,001
Diámetro menor	0,504	,000
Tiempo de evolución en meses	0,015	,904
Tiempo libre de enfermedad	-0,204	,091
Espesor de Breslow	0,198	,101
Fototipo	,023	,849
Nivel de Clark	,200	,097
Infiltrado linfocitario	-,005	,967
Positividad p53	,010	,967
Positividad Ki67	,320	,157

Tabla 22. Correlación entre edad y variables cuantitativas y ordinales.

7.- Sexo

Los resultados obtenidos del análisis bivalente de sexo, en el que se ha analizado su asociación con el resto de variables cuantitativas del estudio, se exponen en la tabla 19. (**Tabla 23**).

Existe una correlación estadísticamente significativa con el sexo varón y las variables diámetro mayor y menor, libre de enfermedad, y espesor de Breslow.

Variable	Sexo	N	Media	Desv. Típ.	E.T. media
Edad (F=1,32; p=0,26)	Varón	16	57,81	16,125	4,031
	Mujer	54	52,43	16,588	2,257
Diámetro mayor (F=3,17; p=0,079)	Varón	16	2,250	1,0080	,2520
	Mujer	54	1,737	1,0130	,1379
Diámetro menor (F=8,46; p=0,005)	Varón	16	1,794	,8410	,2103
	Mujer	54	1,222	,6415	,0873
Tiempo de evolución en meses (F=0,125; p=0,72)	Varón	16	28,13	35,543	8,886
	Mujer	54	25,52	22,364	3,043
Tiempo libre de enfermedad (F=4,81; p=0,032)	Varón	16	44,56	48,422	12,105
	Mujer	54	68,63	35,240	4,796
Espesor de Breslow (F=3,61; p=0,062)	Varón	16	4,238	3,2820	,8205
	Mujer	54	2,433	3,3507	,4560

Tabla 23. Contrastes de igualdad de medias de variables cuantitativas según sexo.

A continuación se muestran los resultados estadísticos obtenidos tras realizar contrastes de independencia de sexo con el resto de variables cualitativas (**Tabla 24**).

Existe una correlación estadísticamente significativa entre el sexo masculino y profesiones fotoexpuestas, MLA, aparición de metástasis, presencia de ulceración, celularidad fusocelular, y espesor de Breslow superior a 2 mm. Por otro

lado el sexo femenino muestra una correlación estadísticamente significativa con profesión relacionada con las tareas del hogar y forma anatómica SSM.

Variables	Prueba χ^2	Grados de libertad	Significación (p)
Sexo (varón)- profesión (expuesto) Sexo (mujer)- profesión (sus labores)	15,129	2	0,001
Sexo (varón) – MLA Sexo (mujer) – SSM	8,768	2	0,012
Sexo (varón) - metástasis	3,951	1	0,064
Sexo (varón) – ulceración	3,795	1	0,051
Sexo (varón) – celul. (fusocelular)	5,434	2	0,066
Sexo (varón) –Breslow (>=2 mm.)	8,536	3	0,04

Tabla 24. Contrastes de independencia de sexo con parámetros categóricos.

En cuanto al estudio de la asociación de sexo con las variables ordinales, se obtienen niveles de Clark y positividad de Ki67 más elevados en los hombres que en las mujeres, aunque no llega a ser estadísticamente significativo (**Tabla 25**).

Variables	Estadístico de J-T	Sig.
Estratos de edad	357,500	,287
Fototipo	363,500	,313
Nivel de Clark	299,000	,052
Infiltrado linfocitario	386,000	,494
Positividad p53	42,500	,440
Positividad Ki67	26,000	,054

Tabla 25. Contrastes de igualdad de medias de variables ordinales según sexo.

8.- p53

En la interpretación de estos resultados hay que considerar en todo momento la poca muestra que presenta positividad p53 (3 individuos).

En la **tabla 26** siguiente se exponen los resultados obtenidos del análisis bivalente de p53, en el que se ha analizado su asociación con el resto de variables cuantitativas del estudio.

Variables	P53	N	Media	Desv. Típ.	E.T. media
Edad (U Mann-Whitney=46,5; p=0,944)	-	32	58,69	15,249	2,696
	+,++	3	59,33	4,041	2,333
Diámetro mayor (U Mann-Whitney=25; p=0,177)	-	32	2,262	1,0435	0,1845
	+,++	3	2,833	0,7638	0,4410
Diámetro menor (U Mann-Whitney=43; p=0,773)	-	32	1,641	0,7733	0,1367
	+,++	3	1,667	0,5774	0,3333
Tiempo de evolución en meses (U Mann-Whitney=36; p=0,516)	-	32	23,84	22,063	3,900
	+,++	3	14,67	8,327	4,807
Tiempo libre de enfermedad (U Mann-Whitney=21,5; p=0,126)	-	32	47,56	44,819	7,923
	+,++	3	12,00	13,892	8,021
Espesor de Breslow (U Mann-Whitney=8,5; p= 0,013)	-	32	4,313	3,4545	0,6107
	+,++	3	10,000	2,0000	1,1547

Tabla 26. Contrastes de igualdad de medias de variables cuantitativas según p53.

Como se puede observar, tan sólo hay correlación estadísticamente significativa con el Espesor de Breslow ($p=0,013$), sin que exista correlación con el resto de las variables consideradas.

No se ha obtenido ninguna asociación estadísticamente significativa entre positividad p53 y el resto de parámetros. Esto es debido fundamentalmente a la poca muestra de positividad p53 + ó ++ (3 individuos). En cuanto al estudio de la asociación de p53 con las variables ordinales, no se obtuvo ninguna asociación con significación $<0,1$.

9.- Ki-67

En la **tabla 27** se exponen los resultados obtenidos del análisis bivalente de ki67, en el que se ha analizado su asociación con el resto de variables cuantitativas del estudio.

Variables	Ki67	N	Media	Desv. Típ.	E.T. media
Edad (U Mann-Whitney=112; p=0,849)	+	9	59,11	12,514	4,171
	++,+++	26	58,62	15,477	3,035
Diámetro mayor (U Mann-Whitney=101; p=0,544)	+	9	2,322	,7596	,2532
	++,+++	26	2,308	1,1171	,2191
Diámetro menor (U Mann-Whitney=85; p=0,225)	+	9	1,811	,6294	,2098
	++,+++	26	1,585	,7923	,1554
Tiempo de evolución en meses (U Mann-Whitney=78; p=0,137)	+	9	25,89	12,514	4,171
	++,+++	26	22,08	23,757	4,659
Tiempo libre de enfermedad (U Mann-Whitney=79,5; p=0,162)	+	9	48,67	20,162	6,721
	++,+++	26	43,08	50,066	9,819
Espesor de Breslow (U Mann-Whitney=68,5; p=0,064)	+	9	3,544	4,4621	1,4874
	++,+++	26	5,235	3,3958	,6660

Tabla 27. Contrastes de igualdad de medias de variables cuantitativas según Ki-67.

Como podemos apreciar existe una asociación estadísticamente significativa entre la intensidad de expresión de Ki-67 y el espesor tumoral (p=0,064), sin apreciar dicha correlación con el resto de las variables cuantitativas estudiadas.

A continuación se muestran los resultados estadísticos obtenidos tras realizar contrastes de independencia de Ki67 con el resto de variables cualitativas (**Tabla 28**).

Existen asociaciones estadísticamente significativas entre baja expresividad del antígeno Ki-67 (+) y actividad mitótica escasa (<1), forma anatomoclínica SSM y celularidad epitelioide. Por otro lado la expresividad intensa(++,+++) del antígeno Ki-67 se relaciona estadísticamente con el sexo varón, Ojos claros, Presencia de tumor previo, nº nevus superior a 20, nº mitosis >1 y positividad p53 (+,++).

Variables	Prueba χ^2	Grados de libertad	Significación (p)
Ki67 (++,+++)- Sexo (varón)	6,32	1	0,015
Ki67 (++,+++)- ojos (claros)	3,59	1	0,081
Ki67 (++,+++)- tumor previo (sí)	3,27	1	0,07
Ki67 (++,+++)- n° nevus (>20)	4,523	1	0,05
Ki67 (+)- forma anatonoclínica (SSM)	17,52	4	<0,001
Ki67 (++,+++)- n° mitosis (>1)	3,52	1	0,056
Ki67 (+)- n° mitosis (<1)	6,53	2	0,035
Ki67 (+)- celularidad (epitelioide)	8,08	4	0,075
Ki67 (++,+++)- ulceración (sí)	6,205	2	0,06
Ki67 (++,+++)-p53(+,++)	7,159	4	0,128*

Tabla 28. Contrastes de independencia de KI-67 con parámetros categóricos.

* Según la significación asintótica bilateral del Test de Monte Carlo.

En cuanto al estudio de la asociación de Ki-67 con las variables ordinales, no se obtuvo ninguna asociación con significación <0,1.

10.- LOH (Pérdida de heterocigosidad de p53).

En la **tabla 29** siguiente se exponen los resultados obtenidos del análisis bivariente de LOH y su asociación con el resto de variables cuantitativas.

Variables	LOH	N	Media	Desv. Típ.	E.T. media
Edad (U Mann-Whitney=93,5; p=0,18)	Sí	24	56,17	14,896	3,041
	No	11	64,36	12,777	3,852
Diámetro mayor (U Mann-Whitney =90; p=0,132)	Sí	24	2,217	1,1052	,2256
	No	11	2,518	,8388	,2529
Diámetro menor (U Mann-Whitney =73; p=0,03)	Sí	24	1,533	,8287	,1691
	No	11	1,882	,4996	,1506
Tiempo de evolución en meses (U Mann-Whitney =4,45; p=0,024)	Sí	24	16,79	11,967	2,443
	No	11	36,73	30,279	9,129
Espesor de Breslow (U Mann-Whitney =75; p=0,042)	Sí	24	5,558	3,8108	,7779
	No	11	3,145	2,9787	,8981

Tabla 29. Contrastes de igualdad de medias de variables cuantitativas según LOH.

Existe una correlación estadísticamente significativa entre la pérdida de heterocigosidad de p53 y el espesor tumoral, así como otras variables relacionadas con el tamaño del tumor (Diámetro menor) y sus características evolutivas (Tiempo de evolución en meses).

A continuación se muestran los resultados estadísticos obtenidos tras realizar contrastes de independencia de LOH con el resto de variables cualitativas (**Tabla 30**).

Variables	Prueba χ^2	Grados de libertad	Significación (p)
LOH (No)- localización (pie)	10,16	5	0,057
LOH (Sí)- nivel de Clark (5)	7,16	3	0,061

Tabla 30. Contrastes de independencia de LOH con parámetros categóricos.

En relación a la posible asociación entre el grado de expresividad de Ki-67 y LOH, aunque no se obtuvo significación ($p=0,329$, significación asintótica bilateral), existen indicios que relacionan la pérdida de heterocigosidad (LOH) con mayor intensidad en la expresión de Ki-67 tal y como se muestra en la **Tabla 31**.

Variables	LOH (si)	LOH (no)
Ki-67 +	55,6%	44,4%
Ki-67 ++,+++	73,1%	26,9%

Tabla 31. Relación porcentual entre las variables LOH y grado de expresión de Ki-67.

ANALISIS MULTIVARIANTE

Para estudiar factores asociados a la aparición de metástasis se utilizaron modelos de regresión logística binaria multivariante. Como variable dependiente se consideró la variable **aparición de metástasis** medida de manera dicotómica, y como variables independientes se incluyeron: por una parte todas las variables asociadas de manera significativa con la aparición de metástasis (extraídas del análisis bivalente) y por otra parte todas aquellas variables que, sin estar asociadas significativamente con la variable dependiente, sí que se consideró que tenían relevancia médica.

Las variables consideradas son las siguientes (en negrita se indican las categorías de referencia): Espesor de Breslow, medida de manera cuantitativa y cualitativa (se analizó un total de 7 categorizaciones distintas); N° mitosis, dicotómica (<1; >=1); Infiltrado linfocitario, dicotómica (no o ligero; **moderado o intenso**); Sexo, dicotómica (**varón**; mujer); Tumor previo, dicotómica (no; **sí**); Celularidad, categórica (**epitelioide**; fusocelular; mixta) con balonizante, linfocitoide y pleomórficas como perdidos por falta de muestra; Ulceración, dicotómica (no; **sí**); Diámetros menor y mayor, cuantitativas. Inicialmente se ajustó el modelo con todas las variables menos 'forma clínica' (debido a la poca muestra en MLA, MN y MSN) y nivel de Clark, debido a que en la actualidad este parámetro como ya hemos comentado solo se tiene en cuenta en nivel I y ha quedado sustituido por el espesor de Breslow que proporciona más información.

El modelo final obtenido está formado por las variables espesor de Breslow, n° mitosis, infiltrado linfocitario, tumor previo y celularidad. Se han obtenido idénticos resultados independientemente del criterio de inclusión y exclusión por pasos utilizado. Al ajustar el modelo únicamente hubo 3 casos perdidos (4,3%).

El modelo fue estadísticamente significativo con un ajuste de $-2 \log$ de la verosimilitud de 49,24 ($\chi^2=30,668$; g.l.=6; $p<0,001$). Como medida de bondad de ajuste se calculó el estadístico de Hosmer y Lemeshow, obteniendo un valor de 12,414 (g.l. 8; $p=0,134$) indicando que el modelo se ajusta satisfactoriamente.

Se obtuvo un R^2 de Nagelkerke=0,527 (el modelo es capaz de explicar casi el 53% de la variabilidad de la aparición de metástasis). También se calculó el cuadrado del coeficiente de correlación de Pearson entre la respuesta (metástasis) y las probabilidades predichas obteniendo un valor de 0,4543. Por lo tanto, basándonos en el coeficiente de correlación de Pearson, las 5 variables predictoras consideradas explican el 45,43% de la variabilidad de la respuesta.

Este modelo presenta un porcentaje total de clasificación correcta entre lo estimado y lo observado del 85,1% (**Tabla 32**), siendo mejor la clasificación en el grupo de individuos sin metástasis (93,8%) que en el de metástasis (63,2%).

Observado		Pronosticado		Porcentaje correcto
		Aparicion de metástasis		
		No	Sí	
Aparicion de metástasis	No	45	3	93,8
	Sí	7	12	63,2
Porcentaje global				85,1

Tabla 32. Clasificación de los individuos observados/predichos (corte en 0.5)

La **Tabla 33** muestra la estimación de los coeficientes del modelo, sus errores estándar, las pruebas de significación y las OR ajustadas con sus intervalos de confianza al 90%.

Variable dependiente: metástasis	Beta	S.E.	Wald	gl	p	OR	I.C. 90% para OR	
							Inferior	Superior
Espesor de BRESLOW	,222	,110	4,067	1	,044	1,249	1,042	1,497
Nº mitosis (referencia: <1)	1,613	,834	3,742	1	,053	5,020	1,273	19,791
Infiltrado linfocitario (referencia: moderado o intenso)	1,850	,867	4,548	1	,033	6,358	1,527	26,480
Tumor previo (referencia: sí)	1,916	,870	4,852	1	,028	6,792	1,625	28,399
Celularidad (referencia: epiteliode)			8,177	2	,017			
Celularidad (fusocelular)	3,404	1,19	8,133	1	,004	30,07	4,223	214,143
Celularidad (mixta)	,565	,917	,380	1	,538	1,760	,389	7,958
Constante	-4,77	1,20	15,8	1	,000	,008		

Tabla 33. Coeficientes del modelo predictivo.

Así pues, por cada aumento de 1 mm. en el espesor de Breslow y a igualdad del resto de parámetros (nº mitosis, infiltrado linfocitario, tumor previo, celularidad), la probabilidad de tener metástasis aumenta un 25% (OR=1,249; I.C.90%=[1,042-1,497]). Si entre dos individuos la única diferencia de entre todas las variables del modelo es que uno tiene 3 mm. más de espesor que otro, su probabilidad de desarrollar metástasis aumentará casi el doble.

En cuanto al número de mitosis, un individuo con nº mitosis \geq 1, tiene 5 veces más de probabilidad de desarrollar metástasis que otro con nº mitosis $<$ 1 y con idénticos valores en el resto de parámetros (OR=5,02; I.C.90%=[1,273-19,791]).

Para el infiltrado linfocitario, un individuo sin infiltrado o con infiltrado ligero aumenta en más de 6 veces la probabilidad de tener metástasis con respecto a otros individuos con infiltrado linfocitario moderado o intenso y con idénticos valores en el resto de parámetros (OR=6,358; I.C.90%=[1,527-26,48]).

Un individuo sin tumor previo tiene casi 7 veces más de probabilidad de desarrollar metástasis que otro con tumor previo e idénticas características del resto de parámetros (OR=6,792; I.C.90%=[1,625-28,399]).

Para la celularidad, un individuo con celularidad fusocelular aumenta a 30 la probabilidad de tener metástasis respecto a otro con celularidad epitelioide e idénticas características del resto de parámetros (OR=30,072; I.C.90%=[4,223-214,143]). Para los individuos con celularidad mixta, aunque no se obtienen resultados estadísticamente significativos, sí se observa una mayor probabilidad de tener metástasis que en individuos con celularidad epitelioide e idénticas características del resto de parámetros (OR=1,76; I.C.90%=[0,389-7,958]).

El modelo matemático que se obtiene es el siguiente:

$$p = \frac{1}{1 + e^{4,769 - 0,222*br - 1,613*mit - 1,85*inf - 1,916*tprevio - 3,404*cel(fusocelular) - 0,565*cel(mixta)}}$$

donde p es la probabilidad de tener metástasis (cuanto más cercano esté del valor 1 más probable será). Este modelo puede utilizarse para predecir la probabilidad de que un individuo determinado tenga metástasis.

Por ejemplo, una mujer con un espesor de Breslow de 0,4, con número de mitosis < 1, infiltrado linfocitario intenso, sin tumor previo y con celularidad epitelioide, tiene una probabilidad de padecer metástasis de 0,06 ó dicho de otra forma, tiene un 6% de posibilidades de padecer metástasis.

$$p = \frac{1}{1 + e^{4,769 - 0,222*0,4 - 1,613*0 - 1,85*0 - 1,916*1 - 3,404*0 - 0,565*0}} = 0.05929$$

ESTUDIO COMPARATIVO DE MELANOMAS METASTASICOS DE EXTREMIDADES Y CABEZA Y CUELLO

En este apartado el objetivo consistió en comparar parámetros demográficos y clínicos entre dos muestras independientes con pacientes que han desarrollado metástasis, diferenciándose en que está formada por individuos con melanoma de extremidades y melanoma de cabeza y cuello. Para ello se fusionaron ambas bases de datos, obteniendo una con todas las características comunes, para posteriormente realizar un análisis bivariante, siendo la localización básica (extremidades ó cabeza y cuello) la variable dependiente.

En un primer análisis descriptivo se eliminaron variables por muestra insuficiente: *antecedentes de melanoma familiar* (100% no en ambas muestras), *antecedentes de carcinoma visceral familiar* (100% no en cabeza y cuello; 90,5% en extremidades), *cáncer cutáneo asociado* (100% no en cabeza y cuello; 95,2% no en extremidades), *cáncer visceral asociado* (100% no en cabeza y cuello; 85,7% no en extremidades), *forma anatomoclínica y localización* (se consideran formas y localizaciones distintas según el tipo de melanoma), *invasión angiolinfática* (85,7% no en cabeza y cuello; 100% no en extremidades), *invasión perineural* (100% no en extremidades y en cabeza y cuello), *satelitos* (92,9% no en cabeza y cuello; 95,2% no en extremidades).

La **Tabla 34** muestra los estadísticos descriptivos de las **variables continuas** (edad, diámetro mayor y menor, tiempo de evolución, tiempo libre de enfermedad y espesor de Breslow) para cada muestra de melanoma, de extremidades o de cabeza y cuello, y las pruebas estadísticas que nos determinan si existen diferencias significativas entre ambas muestras.

		E.T.						
		Intervalo de confianza para la media al 95%			Desv. típ.	Mín	Máx	Media
Cáncer	Media	Límite inferior	Límite superior					
Edad (U M-W=115; p=0,293)	Extremidades	58,76	51,30	66,22	16,4	26	83	3,577
	Cabeza y cuello	64,14	54,01	74,28	17,5	33	88	4,690
Diámetro mayor (U M-W=76; p=0,016)	Extremidades	2,457	1,931	2,984	1,16	1,2	5,0	,2524
	Cabeza y cuello	1,557	1,084	2,030	,8197	,6	3,0	,2191
Diámetro menor (U M-W=97; p=0,096)	Extremidades	1,686	1,305	2,067	,8368	,8	4,5	,1826
	Cabeza y cuello	1,271	,877	1,666	,6832	,5	2,6	,1826
Tiempo de evolución en meses (U M-W=107,5; p=0,186)	Extremidades	21,10	13,68	28,51	16,3	2	72	3,554
	Cabeza y cuello	66,86	21,18	112,54	79,1	3	240	21,14
Tiempo libre de enfermedad (U M-W=112,5; p= 0,249)	Extremidades	18,19	11,00	25,38	15,8	0	55	3,449
	Cabeza y cuello	11,50	4,67	18,33	11,8	0	38	3,162
Espesor de Breslow (U M-W=138; 0,761)	Extremidades	4,819	3,100	6,538	3,78	,8	12,0	,8241
	Cabeza y cuello	5,171	2,887	7,456	3,96	1,0	12,0	1,057

Tabla 34. Bivariante Melanoma con parámetros cuantitativos.

Así pues, las mayores diferencias entre ambas muestras vienen determinadas por el diámetro mayor y diámetro menor (**Figs.62-63**), con valores medios de diámetro mayor y menor significativamente superiores a los cabeza y cuello. También se observan grandes diferencias en cuanto a la media de tiempo de evolución al consultar (media=21,1 meses para extremidades y 66,86 para cabeza y cuello), aunque no se obtienen diferencias estadísticamente significativas debido fundamentalmente a la alta dispersión de sus valores (desviación típica=16,3 para extremidades y 79,11 para cabeza y cuello). La muestra de cabeza y cuello, presenta una edad media y un espesor medio de Breslow superiores a los de la muestra de extremidades, aunque no se observan diferencias estadísticamente significativas.

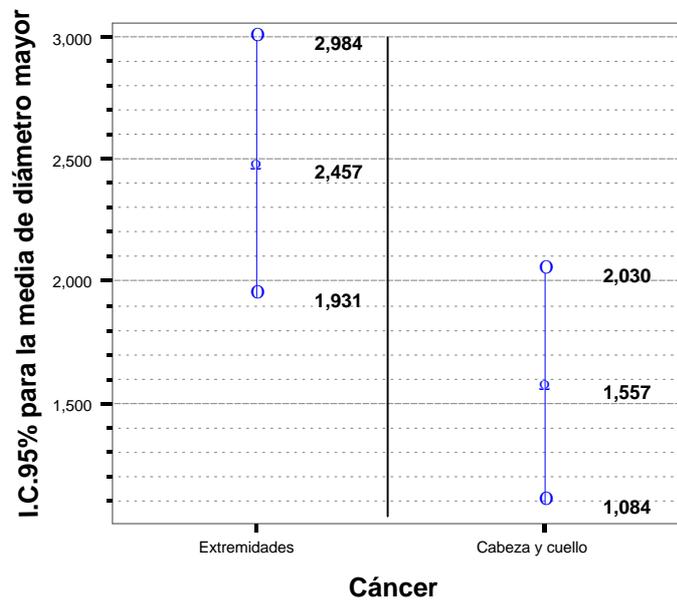


Fig. 62. Barras de error comparativas de diámetro mayor.

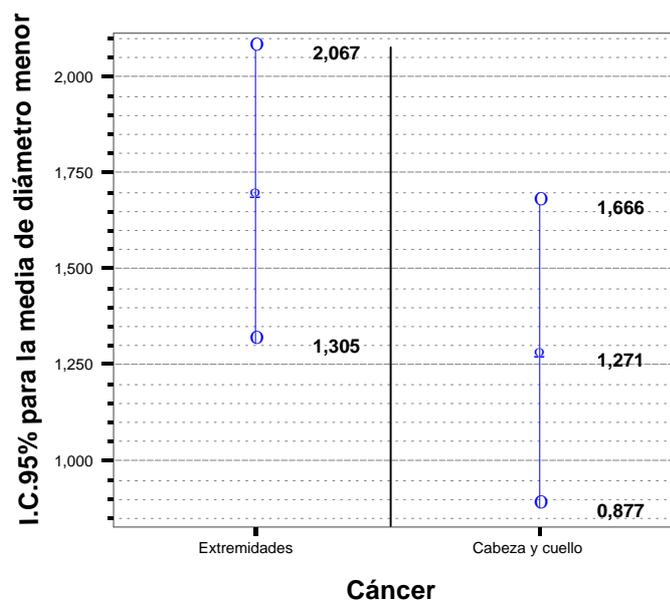


Fig. 63. Barras de error comparativas de diámetro menor.

Las diferencias entre ambas muestras para las variables categóricas se analizaron mediante tablas de contingencia y sus correspondientes contrastes de independencia de χ^2 . La siguiente tabla muestra los resultados obtenidos tras analizar la asociación de ambos tipos de melanoma con los parámetros categóricos del estudio (**Tabla 35**).

Asociación	χ^2	g.l.	Signif.
Extremidades-mujer	3,736	1	0,053
Extremidades- ojos oscuros	12,887	1	<0,001
Extremidades-tumor previo	3,736	1	0,053
Cabeza y cuello –Más de 20 nevus	6,217	1	0,013
Extremidades-quemaduras	3,353	1	0,067
Extremidades-Zona no fotoexpuesta	7,159	1	0,011
Extremidades no elastosis	12,066	1	0,001
Extremidades-p53 negativo	6,917	3	0,048
Extremidades-Loc Ki67 focal	14,464	1	<0,001
Extremidades-HMB45 focal	18,32	1	<0,001

Tabla 35. Bivariante melanoma con parámetros cualitativos.

Se observa que la muestra de individuos con melanoma de extremidades presenta porcentajes significativamente superiores de mujeres, ojos oscuros, tumor previo, más de 20 nevus, quemaduras frecuentes, zona no fotoexpuesta, no elastosis, p53 negativo, localización Ki67 y HMB45 focales, con respecto a los observados por la muestra de individuos con cáncer de cabeza o cuello.

En los siguientes gráficos (**Figs.64-69**) se muestran las principales variables estudiadas en los melanomas metastásicos de extremidades y cabeza y cuello, con excepción de la forma clínica y que han sido ya mencionadas en el

análisis bivalente de la muestra de Melanoma de extremidades de acuerdo con las recomendaciones del Comité de Expertos reunido en el año 2001 (Sober A, 2001).

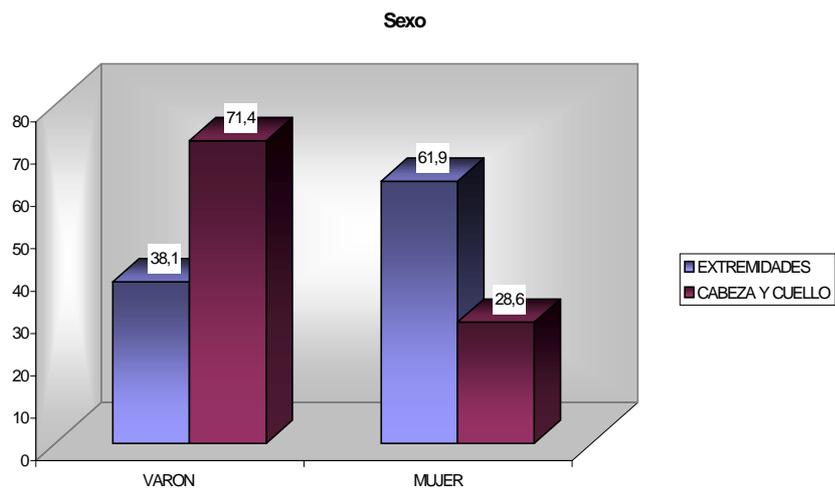


Fig. 64. Sexo

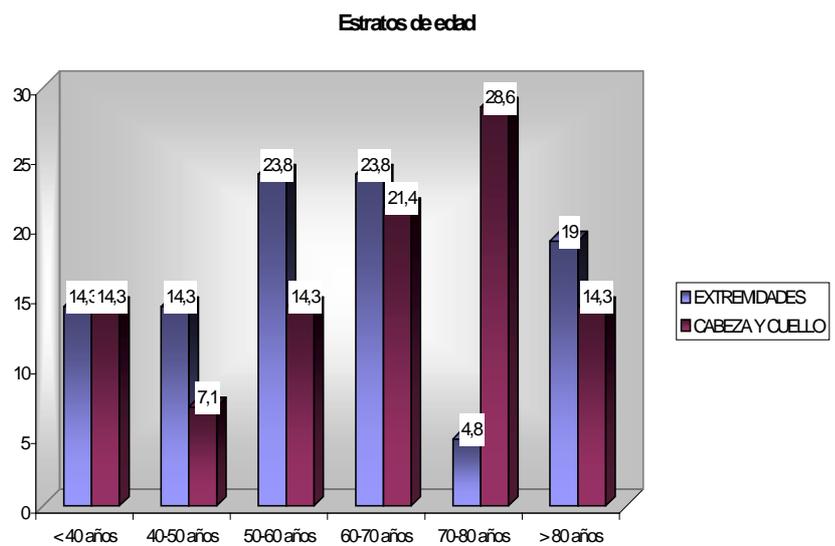


Fig. 65. Estratos de edad

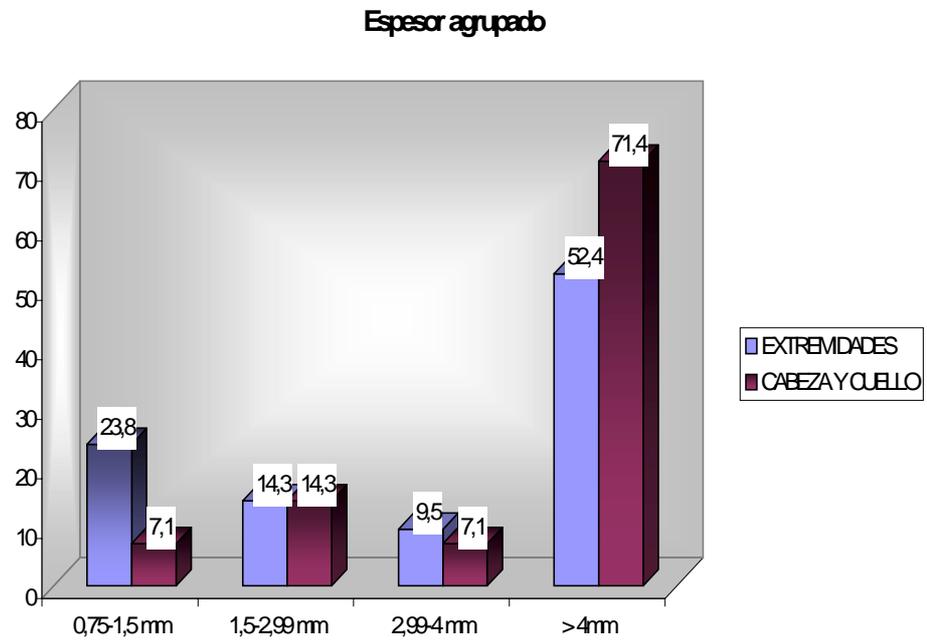


Fig. 66. Espesor agrupado

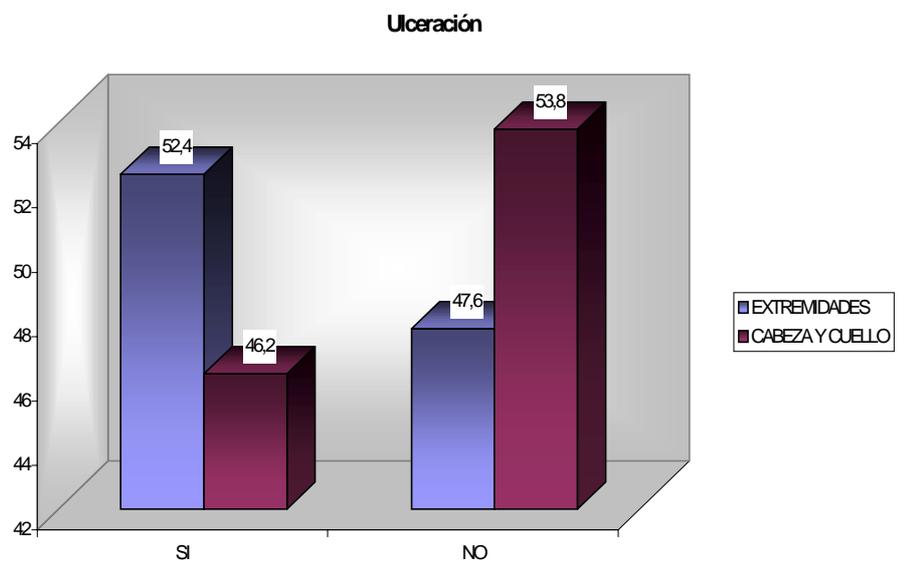


Fig.67. Ulceración

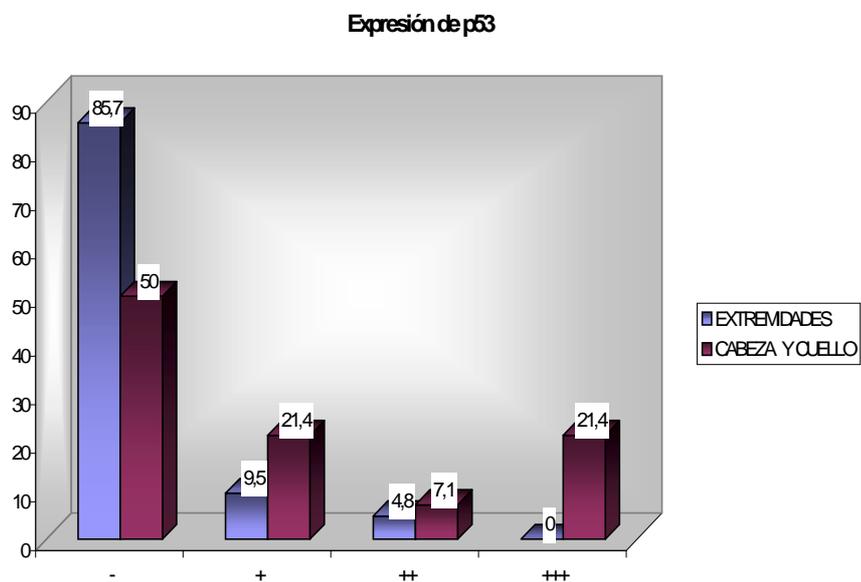


Fig.68. Expresión de p53 (Inmunohistoquimia)

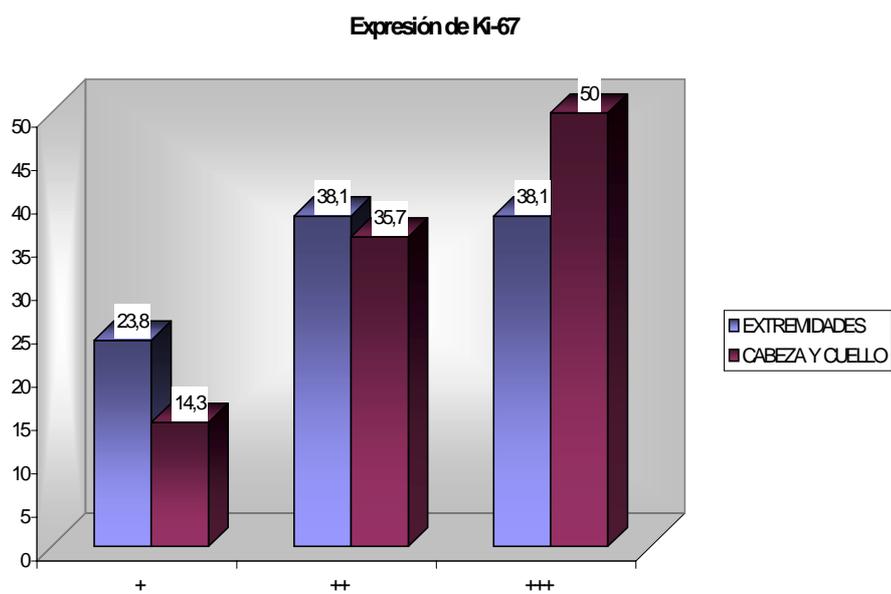


Fig.69. Expresión de Ki-67.