



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**  
**DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA**

**TESIS DOCTORAL**

**TUMORES MELANOCÍTICOS DE LA  
CAVIDAD ORAL**

**María P. Amérigo Góngora**  
**Sevilla, 2017**

Don **Guillermo Machuca Portillo**, Doctor en Medicina, Médico Especialista en Estomatología, Prof. Titular y Catedrático (acreditado ANECA) de Estomatología de la Facultad de Odontología de la Universidad de Sevilla,

**CERTIFICA:**

Que ha dirigido el trabajo de Tesis Doctoral titulado **“TUMORES MELANOCÍTICOS DE LA CAVIDAD ORAL”**, realizado por Dña. María P. Amérigo Góngora que presenta para optar al Grado de Doctora en Odontología.

Sevilla, 2017

Fdo. Prof. Guillermo Machuca Portillo  
Director

Fdo. María P. Amérigo Góngora  
Doctoranda

AGRADECIMIENTOS

Al Prof. Guillermo Machuca Portillo, Profesor Titular acreditado ANECA a Catedrático de Estomatología de la Facultad de Odontología de la Universidad de Sevilla, y al Dr. Joaquín Américo Navarro (mi padre), Jefe de Servicio de Anatomía Patológica del Complejo Hospitalario Torrecárdenas de Almería desde el año 1982 (actualmente jubilado), sin cuya motivación, incondicional ayuda, ilimitada paciencia, permanente apoyo e incalculable esfuerzo, este trabajo de Tesis no hubiera visto la luz. Gracias a ambos, desde la memoria del corazón.

Deseo mencionar, ineludiblemente, mi gratitud al Prof. Daniel Torres Lagares, Profesor Titular de Estomatología de la Facultad de Odontología de la Universidad de Sevilla, por su ayuda, consejos y dedicación en la estructuración, desarrollo y revisión final del presente trabajo.

Al Dr. Antonio García Escudero FEA del Dpto. de Anatomía Patológica del Hospital Clínico Universitario "Virgen Macarena" de Sevilla y al Profesor Ricardo González Càmpera, Catedrático y Jefe del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Clínico Universitario "Virgen Macarena" de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla (actualmente jubilado) por sus consejos, enseñanzas, supervisión, ayuda en la selección del material y acceso a los archivos del Departamento. Asimismo, expreso mi gratitud y reconocimiento a todo el personal técnico que ha intervenido en el procesamiento y tinción de las muestras seleccionadas.

De manera muy puntual al personal del Servicio de Anatomía Patológica del Complejo Hospitalario Torrecárdenas (CHT) de Almería, que ha colaborado en este trabajo, a la Dra. Matilde Nievas Soriano (médica especialista de Anatomía Patológica) y principalmente a Dña. Ma Dolores Blanco Flores (Técnica Especialista de Anatomía Patológica y Citotecnóloga Diplomada por la IAC).

A Dña. Adela María Muñoz Oña, Administrativa, por su ayuda en la maquetación de la Tesis y estructuración de la iconografía

Al Director de la UGC de Cirugía Maxilofacial del CHT (Dr Fernando Espín Gálvez) por su generosa aportación iconográfica

Al Dr. Andrés Pérez Pérez, Jefe del Servicio de Gestión de Usuarios del CHT por agilizar y facilitar el acceso a la documentación clínica cuando fue preciso.

Al Dr. José M<sup>a</sup> Roig Álvaro, FEA de la UGC de Biotecnología del Hospital de Poniente de El Ejido, por la búsqueda bibliográfica más reciente y por la aportación de textos de complicado acceso.

**A mis hijos: Cayetana,  
Andrés  
y Joaquín**

**A mi marido, Andrés**



**TESIS DOCTORAL**

**TUMORES MELANOCÍTICOS  
DE LA CAVIDAD ORAL**

## ABREVIATURAS

AC: Anticuerpo

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AFIP: Instituto de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de Norteamérica

AJCC: Comité Americano del Cáncer

AP: Anatomopatológico/Anatomía Patológica

BCG: Biopsia del ganglio centinela

BRAF: Proto-oncogen, localizado en el cromosoma 7q 34.

CD 1a: Marcador de células de Langerhans

CD 68: Marcador de macrófagos

CDK4: Gen supresor tumoral

CDKN2A: Gen supresor de tumores, que codifica la proteína p16

CGA: Campo microscópico de gran aumento (400x), equivalente aproximadamente a 1 mm<sup>2</sup>

CHT: Complejo Hospitalario Torrecárdenas

CMF: Cirugía Maxilofacial

CO: Cavidad oral

DERMA: Dermatología

DFSP: Dermatofibrosarcoma Protuberans

DTIC: Dacarbacina

F ODONT: Facultad de Odontología de Sevilla

FDA: Organismo estatal de USA para el control de alimentos y fármacos

GNAQ: Gen ligado a una proteína de membrana (guanina) que codifica y modula diversos mecanismos celulares

Gy: Gray (unidad de medida radioactiva) = 100 rads

HE: Tinción convencional de hematoxilina-eosina

HQ: Técnica/estudio histoquímica/o

HUVM: Hospital Universitario "Virgen Macarena"

IAC: Academia Internacional de Citología

IMHQ: Técnica/estudio inmunohistoquímica/o

IMT: Inmunoterapia

LDH: Láctico-deshidrogenasa

LSM: Lesión solitaria melanocítica

MAT: Melanoacantoma

MCM: Mácula melanótica

MM: Melanoma maligno

MMC: Melanoma maligno cutáneo

MMCC: Melanoma mucoso de cabeza y cuello

MMM: Melanoma maligno mucoso

MMO: Melanoma maligno oral

NA: Nevo azul

NAO: Nevo azul oral

NGFR (p75): Oncogen, proteína de membrana reguladora de la apoptosis

NM: Nevo melanocítico

NMO: Nevo melanocítico oral

NRAS: Proto-oncogen, proteína de membrana, regulador de la división celular

OMS: Organización Mundial de la Salud

p14: Proteína reguladora del ciclo celular

p21: Gen humano localizado en el cromosoma 6 (ubicación 6p21.2), que codifica a un inhibidor de la kinasa dependiente de la ciclina.

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa (amplificación DNA)

PET: Tomografía por emisión de positrones

QT: Quimioterapia

RMN: Resonancia magnética nuclear

RT: Radioterapia

Skp2: Proteína kinasa reguladora del crecimiento tumoral

SOX10: Factor de transcripción ligado al desarrollo de la cresta neural

TAC: Tomografía axial computarizada

TEAP: Técnico especialista en Anatomía Patológica

TMO: Tumor melanocítico oral

UGC: Unidad de Gestión Clínica

UICC: Unión Internacional contra el Cáncer

# **ÍNDICE**

## **I. INTRODUCCIÓN**

<b>1. BASES PRELIMINARES.....</b>	<b>02</b>
<b>2. CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS Y FUNCIONALES DE LA MUCOSA ORAL</b>	
<b>2.1. <u>Generalidades</u>.....</b>	<b>02</b>
<b>2.2. <u>Epitelio</u>.....</b>	<b>03</b>
2.2a. Mucosa masticatoria queratinizada.....	04
2.2b. Mucosa de revestimiento no queratinizada.....	06
2.2c. Mucosa especializada.....	07
2.2d. Otras células del epitelio (no escamosas).....	07
<b>2.3. <u>Membrana basal</u>.....</b>	<b>09</b>
<b>2.4. <u>Lámina propia</u>.....</b>	<b>10</b>
<b>2.5. <u>Submucosa</u>.....</b>	<b>12</b>
<b>2.6. <u>Renovación cíclica celular del epitelio mucoso</u>.....</b>	<b>12</b>
<b>2.7. <u>Cambios de la mucosa oral con la edad</u>.....</b>	<b>13</b>
<b>3. MELANOCITOS DE LA MUCOSA BUCAL</b>	
<b>3.1. <u>Histofisiología de los melanocitos de la mucosa oral</u>.....</b>	<b>14</b>
<b>3.2. <u>Pigmentación fisiológica (racial)</u>.....</b>	<b>16</b>
<b>4. LESIONES PIGMENTADAS DE LA MUCOSA ORAL</b>	
<b>4.1. <u>Aspectos generales</u>.....</b>	<b>18</b>
<b>4.2. <u>Clasificación y Aproximación diagnóstica</u>.....</b>	<b>18</b>
4.2a. Lesiones pigmentadas difusas, múltiples o bilaterales.....	19
4.2b. Lesiones pigmentadas focales o solitarias.....	24

4.2b1. Algoritmos de inducción diagnóstica.....	28
<b>4.3. <u>Indicaciones de realización de biopsia</u>.....</b>	<b>30</b>
<b>5. LESIONES SOLITARIAS MELANOCÍTICAS CAVIDAD ORAL</b>	
<b>5.1. <u>Concepto y clasificación</u>.....</b>	<b>32</b>
<b>5.2. <u>Lesiones melanocíticas reactivas</u></b>	
<b>5.2a. Mácula Melanótica y lesiones afines.....</b>	<b>32</b>
<b>5.2b. Melanoacantoma.....</b>	<b>36</b>
<b>5.3. <u>Tumores melanocíticos</u></b>	
<b>5.3a. <u>NEVOS</u>.....</b>	<b>37</b>
5.3a1. Epidemiología	
5.3a2. Presentación clínica	
5.3a3. Histopatología	
<b>·Nevo melanocítico</b>	
·Juntural	
·Subepitelial	
·Compuesto	
<b>·Nevo azul</b>	
<b>·Otros nevos</b>	
5.3a4. Diagnóstico diferencial	
5.3a5. Tratamiento y Prevención	
<b>5.3b. <u>MELANOMA</u>.....</b>	<b>42</b>
5.3b1. Epidemiología	
5.3b2. Etiopatogenia y factores de riesgo	
5.3b3. Clínica y métodos diagnósticos	
5.3b4. <u>Diagnóstico</u> Histopatológico	
·Factores anatomopatológicos predictivos	
·Subtipos histológicos	
·Perfil inmunohistoquímico	
5.3b5. Estadificación	
5.3b6. Diagnóstico diferencial	

- 5.3b7. Tratamiento
- 5.3b8. Pronóstico y supervivencia
- 5.3b9. Biopsia incisional en Melanoma
- 5.3b10. Prevención y cribado

## **II. PLANTEAMIENTO DEL TEMA**

<b>1. HIPÓTESIS.....</b>	<b>75</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>75</b>

## **III. MATERIAL Y MÉTODOS**

<b>1. CASOS: PROCEDENCIA Y SELECCIÓN DE PACIENTES.....</b>	<b>78</b>
<b>2. DATOS CLÍNICOS.....</b>	<b>80</b>
<b>3. ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO CONVENCIONAL.....</b>	<b>81</b>
<b>4. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO Y BIOMOLECULAR.....</b>	<b>82</b>
<b>5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....</b>	<b>87</b>
<b>6. PUNTUALIZACIONES ÉTICAS.....</b>	<b>87</b>

## **IV. RESULTADOS**

<b>1. ASPECTOS GENERALES.....</b>	<b>90</b>
<b>2. DATOS CLÍNICOS POR TIPOS DE TUMORES</b>	
<b>2.1. <u>Nevo Melanocítico</u>.....</b>	<b>90</b>
<b>2.2. <u>Melanoma</u>.....</b>	<b>93</b>
<b>3. ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO CONVENCIONAL</b>	
<b>3.1. <u>Nevo Melanocítico</u>.....</b>	<b>96</b>
<b>3.2. <u>Melanoma</u>.....</b>	<b>99</b>
<b>4. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO Y BIOMOLECULAR</b>	
<b>4.1. <u>Nevo Melanocítico</u>.....</b>	<b>102</b>
<b>4.2. <u>Melanoma</u>.....</b>	<b>104</b>

## **V. DISCUSIÓN**

<b>1. CRÍTICAS CONCEPTUALES Y CONSIDERACIONES GENERALES.....</b>	<b>109</b>
<b>2. DATOS CLINICO-PATOLÓGICOS, INCLUYENDO ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO Y BIOMOLECULAR.....</b>	<b>111</b>
<b>2.1. <u>Nevo Melanocítico</u>.....</b>	<b>111</b>
<b>2.2. <u>Melanoma</u>.....</b>	<b>115</b>
<b>3. TÉCNICAS DE APOYO DIAGNÓSTICO</b>	
<b>3.1. Inmunohistoquímica y patología biomolecular.....</b>	<b>122</b>
<b>3.2. Dermoscopia (<u>Mucoscopia</u>).....</b>	<b>122</b>

<b>4. TRATAMIENTO SUPERVIVENCIA Y PREVENCIÓN.....</b>	<b>125</b>
<b>VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>128</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>131</b>
<b>VIII. APÉNDICE.....</b>	<b>150</b>



## **I. INTRODUCCIÓN**

## **1. BASES PRELIMINARES**

La cavidad oral (CO) es una encrucijada en la que convergen los mecanismos de masticación, deglución, fonación, recepción sensitiva y respiración, y configura junto con el labio una parte importante de los rasgos fenotípicos y estéticos del individuo, como fuente de expresión y de comunicación.

Como consecuencia del gran número de factores locales y sistémicos a los que está sometida la mucosa oral, existe un amplio espectro de lesiones que pueden afectar a la misma: hamartomatosas, inflamatorias, degenerativas, pigmentarias, displásicas y neoplásicas. En la presente revisión abordaremos, desde una perspectiva general, las lesiones pigmentadas de la CO y trataremos, con mayor énfasis y de un modo detallado, los tumores de la mucosa bucal y labial, derivados de los melanocitos.

## **2. CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS Y FUNCIONALES DE LA MUCOSA ORAL**

### **2.1. Generalidades**

La mucosa bucal forma una unidad anatómica, histológica y funcional, de tal manera que, a pesar de las diferencias topográficas que presenta, toda ella, es un mismo conjunto fisiopatológico.

La CO está delimitada anatómicamente por seis paredes virtuales: la anterior, constituida por los labios; la posterior, representada por la

unión con la orofaringe, denominada el istmo de las fauces, limitada posteriormente por el paladar blando y por la úvula y lateralmente por los pilares amigdalares; la superior, integrada por la bóveda palatina; la inferior, que corresponde a los dos tercios anteriores de la lengua y suelo de la boca; y, finalmente, las dos paredes laterales, conformadas por las mejillas (1, 2). Histológicamente, la membrana mucosa que reviste la cavidad bucal consta de tres capas diferenciadas: una capa externa (húmeda) constituida por epitelio escamoso estratificado; una capa subyacente de tejido conectivo denso, llamada lámina propia o corion; y una tercera capa más profunda, la submucosa, presente únicamente en la mucosa de las mejillas, del labio y del paladar blando (3-6).

## **2.2. Epitelio**

El epitelio que tapiza la mucosa oral es de tipo escamoso y poliestratificado, similar a la epidermis, totaliza de 50 a 80 capas de células y tiene un grosor medio de  $366,6 \pm 53,3 \mu\text{m}$ , con ostensible variabilidad: desde  $190 \pm 40 \mu\text{m}$  en la mucosa del suelo de la boca hasta  $580 \pm 90 \mu\text{m}$  en el epitelio de la mejilla (7). Se extiende desde el ribete cutáneo-mucoso de los labios hasta el istmo de las fauces y se continúa a nivel de los labios con la piel, por una zona de transición (borde libre), y por el istmo de las fauces con la mucosa faríngea, con variable grado de queratosis y paraqueratosis, habitualmente asociado a un considerable engrosamiento de la crestas epiteliales (3, 5).

Las células de este epitelio mucoso se disponen en múltiples estratos que ascienden desde la membrana basal hasta la superficie. Éstos son: estrato basal o germinativo, estrato espinoso y estrato granuloso. Según las regiones intraorales puede incluir una banda superficial de ortoqueratina o paraqueratina (mucosa masticatoria) o no estar queratinizado (mucosa de revestimiento), lo que refleja la adaptación del tejido a la función, como sucede en todo el organismo (3, 5).

Las características de las tres variedades de mucosa que se encuentran en la CO son las siguientes:

**2.2a. Mucosa masticatoria queratinizada:** Este tipo de mucosa, que reviste la encía y el paladar duro, está sometida, por la acción de la masticación, a fuertes mecanismos de presión y de fricción. La encía se encuentra fijada al hueso y no incluye submucosa, que sin embargo está presente en la región lateral del paladar duro (4).

El borde rojo del labio (prolabio) también está revestido por una fina banda ortoqueratósica, que descansa en una lámina propia con abundantes papilas hipercapilarizadas: de ahí el color bermellón de la cara externa de la mucosa labial. Subyacentemente incluye una amplia submucosa que conecta con el músculo propio (3, 4, 6).

La capa basal del epitelio que recubre la mucosa masticatoria contiene de dos a tres capas de células menos diferenciadas, responsables de la división y renovación celular (5). Son de

morfología cúbica o columnar y ultraestructuralmente poseen filamentos intermedios que expresan por inmunohistoquímica citoqueratinas 13 y 14, productoras de proteínas (8-10).

Las células escamosas adyacentes, más diferenciadas, contienen más desmosomas, son de mayor tamaño, adoptan forma poliédrica y comprenden más tipos de citoqueratinas -1, 6, 10 y 16-, como reflejo de una mayor diferenciación celular (10, 11). En la zona más superficial de este estrato celular comienzan a aparecer pequeños gránulos de membrana, de aspecto ultraestructural similar a los de la epidermis (5, 12). Más superficialmente se encuentra el estrato granuloso, compuesto por células moderadamente aplanadas, con disminución del tamaño nuclear y con los característicos gránulos de queratohialina, intensamente basófilos con microscopía óptica (4). Los gránulos de membrana aumentan en número y contribuyen a la permeabilidad celular, se fusionan a la membrana celular y su contenido se libera al espacio intercelular. El engrosamiento de la membrana celular y la agregación de los filamentos de queratina se inicia en las áreas de transición de estos estratos, dando lugar a que las células queratinizadas aumenten el espesor de la membrana plasmática, incluyan numerosos filamentos empaquetados de queratina y pocos desmosomas y carezcan de organelas (3, 5, 11).

Las células más superficiales del epitelio son las que están en contacto directo con la CO. Cuando no muestran núcleos el epitelio se describe como ortoqueratinizado, y si los núcleos no se desprenden y

quedan retenidos en la célula (nucleos picnóticos), el epitelio se denomina paraqueratinizado (5). Esta última capa de epitelio queratinizado es habitual en la encía. Al igual que la epidermis la capa queratinizada reduce la permeabilidad de la mucosa oral, si bien la permeabilidad del epitelio mucoso es aproximadamente diez veces mayor que la permeabilidad del epitelio cutáneo (13).

### **2.2b. Mucosa de revestimiento no queratinizada:**

Esta mucosa recubre las mejillas, zona intrabucal del labio, paladar blando, cara ventral lingual y suelo de la boca. Consta de capa submucosa y sus funciones consisten en la protección y en la distensión de las partes que reviste (4).

La capa basal de este epitelio es similar al de la mucosa masticatoria, con la expresión de un tipo de queratina adicional, la citoqueratina 19, además de las citoqueratinas 4 y 13, reflejo de la diferenciación celular (10, 11). En la capa intermedia las células se aplanan, aumentan los filamentos de queratina y van alcanzando las capas más altas del epitelio. En definitiva, sucede algo parecido a lo referido en el epitelio de la mucosa queratinizada. Las células de la capa más superficial exhiben un engrosamiento de la membrana y liberan abundantes gránulos intracitoplásmicos asociados a membrana. Hasta que los núcleos persisten en esta capa más superficial hay una disminución gradual del volumen de las organelas, así como de los desmosomas, antes de que las células se descamen (4, 10).

**2.2c. Mucosa especializada:** Recubre el dorso de la lengua en forma de unas estructuras queratinizadas que corresponden a las papilas linguales: filiformes, fungiformes y circunvaladas. El epitelio de este tipo de mucosa incluye los botones gustativos y consta de capa submucosa (2, 6).

**2.2d. Otras células presentes en el epitelio mucoso:**

En torno al 90% de la celularidad del epitelio corresponde a células escamosas; el 10% restante está representado por melanocitos (ver más adelante), células de Langerhans y células de Merkel.

·Células de Langerhans: Hay más de 1000 millones de células de Langerhans distribuidas en la superficie corporal. Representan menos del 2% de las células del epitelio mucoso oral, su origen es mesodérmico y pertenecen al sistema mononuclear fagocítico (14, 15). Son células dendríticas inmaduras prototípicas, que pueden captar antígenos pero no estimular a los linfocitos como se ha señalado (16). Están ubicadas principalmente en el estrato espinoso epitelial y con microscopia y tinciones convencionales muestran un núcleo oscuro y un citoplasma claro (4). En las preparaciones teñidas con técnicas inmunohistoquímicas, tales como CD-1a, CD-68 y PS-100, se reconocen las numerosas prolongaciones dendríticas que extienden hacia los queratinocitos adyacentes, y, aunque no están unidas por desmosomas, presentan una molécula de adhesión, la E-cadherina, que refuerza su unión con las células escamosas (4, 14, 17). El rasgo más característico de las células de Langerhans,

observado con microscopia electrónica, es la presencia intracitoplásmica de unas organelas denominadas gránulos de Birbeck, que poseen una configuración raquetoide, cuya formación y función no se conoce con exactitud, si bien se postula que se originan por endocitosis antigénica (4). Estas células activan rápidamente la primera línea de respuesta contra los antígenos lipídicos bacterianos y virales por medio de las moléculas CD1, aún ante una carga antigénica muy baja; también parecen activarse ante cargas antigénicas neoplásicas del epitelio (15).

·Células de Merkel: Están presentes en la piel y en las mucosas si bien se concentran en la piel de palmas y plantas; histológicamente, se localizan en el estrato basal del epitelio, contactan con los queratinocitos a través de desmosomas y carecen de neurofilamentos, por lo que el origen neuroectodérmico, que inicialmente se presumía, actualmente no se sustenta (4, 18). Existen numerosos hechos, que indican que las células de Merkel tienen un origen similar a los queratinocitos, porque, si bien con técnicas IMHQs son positivas para cromogranina (marcador neuroendocrino), presentan un perfil de citoqueratinas similar a las células escamosas, a excepción de la citoqueratina 20, considerada marcador específico de las células de Merkel normales y neoplásicas (18). Se ha demostrado que las células de Merkel son mecanorreceptores de adaptación lenta y pueden reaccionar como receptores sensitivos (18).

### **2.3. Membrana basal**

Está presente en todos los epitelios como zona de sustento; es reconocible con Hematoxilina-eosina, su visión se magnifica con la técnica histoquímica del PAS, y cuando se identifica con microscopía electrónica, se constata que posee dos regiones: la lámina basal, sintetizada por las células epiteliales, y la lámina reticular, que la sintetizan las células del tejido conectivo subepitelial (7,19).

\*Lámina basal: Esta estructura se observa con el microscopio electrónico de transmisión como una doble lámina rectilínea de distinta densidad: la lámina densa y la lámina lúcida. La lámina densa aparece conformada por una tupida red rica en colágeno IV y en heparán, mientras que la lámina lúcida contiene laminina y entactina (19-21).

\*Lámina reticular: Está compuesta por fibras inmersas en una matriz de glucosaminoglicanos. Su grosor varía en consonancia con el grado de fricción del epitelio, siendo más gruesa en los epitelios queratinizados. Está constituida por las siguientes fibras:

Fibras de anclaje: Son fibras de colágeno VII, que finalizan en la lámina densa y forman espirales con zonas de anclaje denominadas placas de anclaje (19-21).

Fibras reticulares: Incluyen principalmente reticulina (colágeno I y III) y están distribuidas de manera paralela al epitelio entre las fibras de anclaje. La fibronectina que poseen colabora en la fijación de la lámina reticular a la lámina basal (19).

El espesor de la membrana basal es aproximadamente de 0,6 a 0,74 nm, excepto la del suelo de la boca que no sobrepasa 0,3 nm (5). Posee varias funciones. Aparte de ser la estructura de fijación entre tejido epitelial y conectivo, sirve de filtro físico y químico (malla de colágeno tipo IV), al restringir el paso de cargas negativas; otras funciones consisten en guiar la migración celular en el proceso de reepitelización de heridas y actuar, además, como barrera defensiva (19, 21).

La membrana basal de la CO incluye características especiales, siendo más gruesa la de los epitelios no queratinizados. El epitelio descansa sobre la membrana basal, a la que permanece firmemente adherido, y esta, a su vez, se encuentra en continuidad, subyacentemente, con la lámina propia. La morfología de esta unión varía en relación con el tipo de epitelio y con las necesidades funcionales de la zona (5).

#### **2.4. Lámina propia o corion**

Está representada por tejido conectivo fibroso de variable grosor, que confiere sostén y nutrición al epitelio. Esta función está reforzada por la presencia de papilas con vasos y nervios que varían en longitud y espesor. Dicho tejido conectivo puede ser laxo, denso o semidenso según la topografía de la mucosa oral (5). Comprende glándulas seromucinosas que son especialmente prominentes en la lámina propia del paladar duro (6). El estroma en torno a los dientes contiene restos epiteliales de aparente origen odontogénico y amplios nidos epiteliales del órgano de Chievitz que se encuentran en la

lámina propia de la región retromolar del triángulo (1).

Entre las células presentes en esta capa encontramos fibroblastos, macrófagos, linfocitos, células plasmáticas y basófilos. Existe una estrecha relación entre los fibroblastos y la población epitelial de queratinocitos anexa, ya que la secreción de interleuquina I por el queratinocito activado promueve la proliferación y actividad del fibroblasto, que es el encargado de la secreción de prostaglandina que estimula la proliferación y diferenciación de las células escamosas (7, 19).

La matriz extracelular de la lámina propia es especialmente rica en tres tipos de fibras (3).

- Fibras colágenas que resisten las fuerzas de tracción y evitan deformaciones de la mucosa.

- Fibras elásticas que devuelven el tejido a la normalidad después de la tensión.

- Fibras reticulares que mantienen la elasticidad de la pared de los vasos sanguíneos.

En algunas áreas la lámina propia está adherida directamente al periostio y en otras asienta sobre la submucosa.

En la lámina propia existe una abundante inervación con numerosas terminaciones nerviosas sensoriales, que recogen información sobre la percepción del dolor, de la temperatura, del tacto y de la presión (4).

## **2.5. Submucosa**

Se compone de un tejido conectivo laxo destinado a unir la mucosa a los tejidos adyacentes. Está presente en las áreas donde se produce movimiento y que suelen estar expuestas a los mecanismos masticatorios y de fricción. Su espesor es variable e incluye glándulas salivares, vasos, nervios y tejido graso (2, 4-6). Las arterias se dividen en esta zona para configurar ramas más pequeñas que alcanzan la lámina propia y las fibras nerviosas son mielínicas cuando atraviesan la submucosa desde tejidos subyacentes, pero pierden la vaina de mielina antes de dividirse en la lámina propia.

En la submucosa hay más adipocitos y menos fibroblastos y colágeno, además de glándulas salivales, vasos sanguíneos, linfáticos y terminaciones nerviosas que forman los corpúsculos táctiles de Meissner (2, 4).

## **2.6. Renovación cíclica celular del epitelio**

Existen algunos estudios que han demostrado que las células de la capa basal del epitelio mucoso corresponden a células madre con un ciclo celular lento, al igual que las células transitorias, y un grupo de células maduras no proliferativas, llamadas células postmitóticas, que permanecen en la capa basal un período variable de tiempo antes de diferenciarse en células espinosas (22-24).

Los cambios descritos, las diferencias regionales y la cinética del epitelio mucoso son similares a la epidermis. Se sabe que la cinética del epitelio mucoso es diferente en las distintas áreas de la mucosa

oral y además variable. Esta variación en la reposición celular se ha estudiado parcialmente con diferentes métodos (22, 23). De cualquier modo el índice de producción celular del epitelio oral es alto, si bien es de dos a tres veces inferior al de la epidermis (25).

### **2.7. Cambios de la mucosa oral relacionados con la edad**

Como todo el organismo, la mucosa oral sufre cambios degenerativos o involutivos con el paso del tiempo. Alguno de los escasos estudios al respecto pone de manifiesto una atrofia de la mucosa oral en relación con la edad, pero, al no estar realizado en individuos selectivamente sanos, es probable que esta atrofia sea reflejo de diversas alteraciones consecutivas a medicación, inadecuada nutrición y/o algún tipo de enfermedad sistémica (26). Otro estudio que evalúa el grosor de la mucosa oral en individuos de 18 a 96 años, muestra que con los años se produce una disminución discreta del espesor del epitelio, junto con un aplanamiento del tejido conectivo subyacente (27). Sin embargo, la literatura incluye un trabajo opuesto al anterior, a partir de la mucosa oral de individuos sanos entre 15 y 65 años, cuyas variables estudiadas fueron la edad en relación con los distintos tipos de mucosa e histológicamente no se observaron cambios significativos, relacionados con el aumento de la edad; la mucosa gingival reveló más cambios histológicos que los otros tipos de mucosa, pero no estuvieron relacionados con el incremento de la edad; la morfología de las crestas y papilas tampoco varió con la edad; y la hiperplasia de los estratos epiteliales se

evidenció como una característica predominante sobre la hipertrofia o la atrofia, sin relación directa con la edad (28).

No existen publicaciones sobre la reposición de los queratinocitos del epitelio oral, aunque se ha señalado que el crecimiento por reposición del epitelio, al menos en la epidermis, se reduce con la edad (25). Se ha demostrado también que la permeabilidad de la piel aumenta con los años, y que en la mucosa oral igualmente aumenta, pero en menor cantidad y dependiendo de las regiones bucales (29).

Otros trabajos demuestran un aumento de la sequedad de la mucosa oral asociada con la edad, pero es más probable que sea debido a cualquier tipo de medicación suministrada al individuo (26).

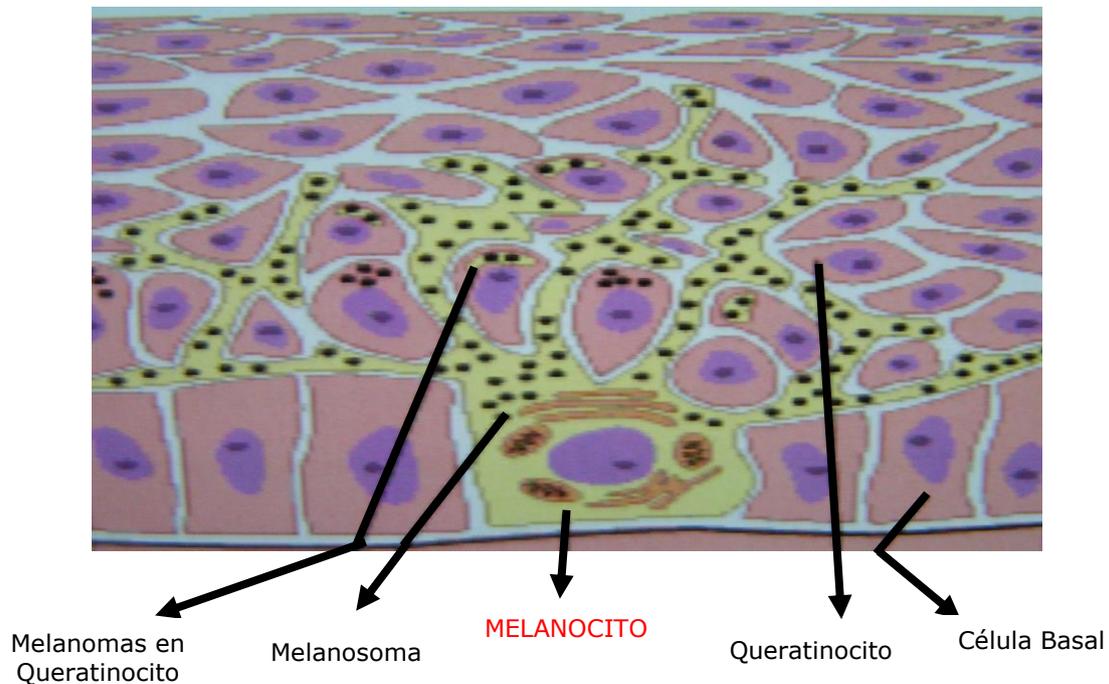
### **3. MELANOCITOS DE LA MUCOSA BUCAL**

#### **3.1. Histofisiología de los melanocitos de la mucosa oral**

Los melanocitos son las células responsables de la producción de melanina, el principal pigmento que da color a la piel, ojos, pelo y semimucosas. No se identificaron hasta el año 1927 (30) y algo más tarde fueron estudiados con detalle mediante microscopía convencional y ultraestructural, comprobándose que los melanocitos de las mucosas son estrictamente similares a los de la piel (12, 31).

Los melanocitos orales están radicados en la capa basal del epitelio en una proporción aproximada de uno por cada 10-15 células epiteliales, y la densidad de estas células en la mucosa oral y sinonasal es de 1.500/mm<sup>2</sup>, de 800/mm<sup>2</sup> en la piel del abdomen y de

2380/mm<sup>2</sup> en el prepucio (32). En el siguiente esquema se muestra un melanocito en relación con las células escamosas del epitelio mucoso estratificado de la CO (**Fig. 1**).



**Fig. 1. Melanocito en relación con las células escamosas del epitelio**

Mediante la tinción con hematoxilina y eosina es difícil reconocer éstas células claras ubicadas en la capa basal del epitelio escamoso. La elongación y la interdigitación de las mismas se aprecia con facilidad con tñiones histoquímicas clásicas de impregnación argéntica (Masson Fontana o Grimelius) o inmunohistoquímicas, tales como proteína S-100, HMB-45 y Melan-A (33).

Su función no es bien conocida, aunque al parecer protegen la piel del potencial nocivo que sobre el DNA pueden producir los rayos ultravioleta, uno de los mayores factores de riesgo en la génesis del

melanoma. Sus funciones en las mucosas no están del todo claras, aunque es posible que ejerzan una protección del revestimiento mucoso contra efectos citotóxicos (34, 35).

El melanocito se origina en la cresta neural desde la cual emigra en primer lugar a la epidermis de la región de la cabeza y el cuello, alrededor de la décima semana de gestación (36).

En el epitelio de las mucosas la melanina produce un color marrón (37) y dependiendo de la profundidad a la que se encuentre en los tejidos exhibirá una tonalidad azulada, grisácea o negruzca (efecto Tyndall).

Hay algunos estudios que han demostrado estadísticamente que con el paso de los años aumenta el número de melanocitos en las mucosas (33). Y atendiendo a ésta interesante observación se ha especulado que, paralelamente al incremento de los melanocitos normales, la frecuencia de las lesiones tumorales melanocíticas, tales como nevos y melanomas, también aumentaría con la edad (37).

### **3.2. Pigmentación fisiológica (racial)**

La pigmentación fisiológica, también llamada racial o étnica, se observa usualmente en afro-americanos y otros individuos de piel oscura, como árabes, indios y latino-americanos. Parece ser genéticamente adquirida, pero la intensidad de la misma frecuentemente está influida por factores físicos, químicos y hormonales (37, 38). Clínicamente cursa como una pigmentación difusa y bilateral, aunque también puede presentarse como máculas

pigmentadas de configuración y tamaño variables y coalescentes (37, 39).

Aunque la pigmentación fisiológica usualmente se advierte en la infancia, se hace más evidente en la pubertad y aumenta en el transcurso de los años, aunque hay casos atípicos que se observan desde el nacimiento (40). La tonalidad de la pigmentación varía desde ligeramente oscura a marrón, y la encía, excepto en el borde marginal, junto con la mucosa bucal son las zonas usualmente pigmentadas, y menos habitualmente los labios, paladar y lengua (37, 41).

Si bien la pigmentación fisiológica representa la causa más frecuente de pigmentación oral en individuos de piel oscura y no suele conllevar problemas de diferenciación clínica; hay que tener en cuenta la posibilidad de que éstas lesiones correspondan a una pigmentación en relación con alguna enfermedad sistémica, especialmente cuando la pigmentación fisiológica se presenta en individuos blancos de origen caucasiano y después de la edad media adulta (37).

Histologicamente se manifiesta por un aumento de la melanina de los melanocitos, sin hiperplasia melanocitaria concurrente, y clara presencia de melanina en los queratinocitos basales, además de melanófagos en la lámina propia superficial (42).

La pigmentación racial es totalmente inocua (37) y únicamente se suele tratar por razones estéticas, generalmente mediante terapia de blanqueo.

## **4. LESIONES PIGMENTADAS DE LA MUCOSA ORAL**

### **4.1. Aspectos generales**

Las lesiones pigmentadas de la CO no son infrecuentes en la práctica odontológica y la mayoría son banales. Pero es muy importante que para su diagnóstico y manejo se tengan presentes las siguientes consideraciones, que denominamos claves diagnósticas.

*·Adoptan una forma de presentación focal o localizada, o bien bilateral, múltiple o difusa*

*·Pueden ser debidas a causas tanto endógenas como exógenas*

*·Reflejan, indistintamente, procesos sistémicos o locales*

*·Pueden presentarse en niños o en adultos*

*·El abanico de posibilidades diagnósticas es muy extenso.*

Ante un espectro, especialmente amplio, de alteraciones de la pigmentación oral, es preciso que el especialista tenga un mínimo conocimiento para poder discernir, al menos, entre lesiones con y sin participación sistémica, focales o difusas, y principalmente diferenciar lesiones benignas de malignas, aunque éstas últimas se caracterizan por su rareza (37-39, 41, 42).

### **4.2. Clasificación y Aproximación diagnóstica**

Las lesiones pigmentadas de la CO se pueden clasificar de manera sistematizada de dos maneras: atendiendo a su forma de presentación (lesiones focales o difusas) o a la tonalidad de su pigmento. También pueden dividirse en aquellas de origen endógeno y exógeno.

Comentaremos brevemente las lesiones pigmentadas que aparecen en la CO, si bien las lesiones pigmentadas melanocitarias serán abordadas más adelante de modo extenso y detallado.

#### **4.2a. Lesiones pigmentadas difusas, múltiples o bilaterales.**

Las lesiones difusas o múltiples, atendiendo a su forma de aparición, pueden cursar de forma precoz o aparecer en la vida adulta.

Las lesiones de presentación precoz incluyen:

*Pigmentación racial* (comentada con anterioridad).

*Síndrome de Peutz-Jeghers*, que es una rara enfermedad genética, asociada a la mutación del gen LKB1/STK11 del cromosoma 19 (43). Clínicamente se caracteriza por máculas pigmentadas en la piel y en las mucosas, asociado a poliposis hamartomatosa intestinal con un aumento del riesgo de cáncer en muchos órganos, incluyendo el intestino delgado, estómago, colon, páncreas, tiroides, mama y tracto genital (43). Estas máculas melanóticas son muy características, pequeñas y múltiples, y muy ostensibles en los labios y en torno a los mismos; también pueden observarse en la mucosa intraoral y de forma confluyente (37).

*Síndrome de Albright*: Está causado por mutaciones en el gen GNAS1 y se expresa como un mosaicismo, es decir, que la alteración genética no está en todas las células del paciente. Esta enfermedad no es hereditaria, se desarrolla en el periodo de embriogénesis y no se transmite a los descendientes (44). Clínicamente se expresa por

un desarrollo sexual prematuro, deformidades óseas, acromegalia, gigantismo, anomalías suprarrenales, hipertiroidismo, lesiones hepáticas, quistes ováricos y máculas melanóticas grandes en la piel y raramente en las mucosas, labio y CO (37). El tratamiento únicamente es sintomático: se trata el gigantismo que puedan presentar los pacientes y se extirpan los tumores que se pudieren desarrollar.

*Síndrome de Laugier-Hunziker:* Es una enfermedad adquirida, benigna, sin participación sistémica, que cursa con máculas melanóticas pigmentadas en labios, mucosa oral y en las uñas, donde exhiben un patrón característico en forma de bandas longitudinales hiperpigmentadas en la matriz ungueal (37). Histológicamente las lesiones orales están conformadas por un aumento de la melanina en los melanocitos de la capa basal y en los queratinocitos próximos, además de melanófagos en el tejido conectivo superficial (41, 42).

*Complejo de Carney:* Es un síndrome muy raro que se distingue por múltiples neoplasias cutáneas (mixomas), tumores endocrinos y máculas melanóticas cutáneas y mucosas; se transmite de forma autosómica dominante, en cuyos pacientes se han localizado dos locus genéticos, 2p16 y 17q 22-24 (45, 46). El número de casos publicados no excede de 400. El tratamiento como cualquier otro síndrome genético es meramente sintomático.

Cuando se desarrollan lesiones pigmentadas orales, difusas/múltiples y su presentación es en adultos hay que considerar dos opciones:

asociadas a signos sistémicos y sin evidencia de signos sistémicos.

Las enfermedades de aparición en adultos, que cursan con alteraciones sistémicas son principalmente:

*Enfermedad de Addison:* Es un tipo de adrenalismo primario, causado por tumores malignos o por adrenalitis autoinmune, consistente en un déficit de producción de las hormonas de la corteza suprarrenal, lo que ocasiona una alta producción de ACTH, que ocasiona una pigmentación difusa de piel y mucosas y en ocasiones (1/3 de los casos) representan las manifestaciones iniciales de la enfermedad (37, 39, 42). El tratamiento es sintomático, es decir, tratar la enfermedad de base, con lo cual las lesiones pigmentadas pueden regresar.

*Pigmentación por metales pesados,* raramente la exposición accidental o ocupacional a metales pesados pueden ocasionar intoxicaciones diversas, generalmente asociadas a pigmentación difusa de la cavidad oral, que ocasionalmente están relacionadas con la absorción de plomo o de plata, además de mercurio. Actualmente no se observan cuadros de intoxicación por éstos metales que antiguamente portaban algunos fármacos. La pigmentación que aparece es de tonalidad azul-negrucza formando una línea a lo largo del margen gingival y la intensidad de la pigmentación parece estar en relación con la inflamación de la encía y con la cantidad de metal absorbido (37, 42).

*Sarcoma de Kaposi (VIH):* La presentación del sarcoma de Kaposi

aparece en individuos infectados por VIH es múltiple y progresiva. Se considera responsable del desarrollo de la enfermedad a un herpes virus (HVV-8), también llamado herpes virus asociado al sarcoma de Kaposi (42, 47). Las lesiones del sarcoma de Kaposi aparecen como máculas melanóticas múltiples, ubicadas en la superficie cutánea y en la mucosa oral y alternativamente en la mucosa labial. También se afectan los órganos internos que desarrollan tumores. Estas lesiones son de tonalidad marrón a púrpura y con el tiempo pueden desarrollar nódulos, ulceración, hemorragia o necrosis (39). El diagnóstico definitivo requiere la realización de una biopsia, que exhibe una densa proliferación de células fusiformes, asociada a una proliferación de vasos, irregulares y con hematíes extravasados.

*Hemocromatosis:* La hemocromatosis, también denominada diabetes bronceada, frecuentemente se acompaña de una pigmentación azul-grisácea del paladar duro, encía y mucosa bucal. Esta pigmentación esta causada por depósitos de hierro conteniendo ferritina y hemosiderina, en la piel y en las membranas mucosas (48).

Cuando existen lesiones pigmentadas orales de distribución difusa o múltiple y sin patología sistémica es necesario plantear las siguientes opciones:

*Pigmentación por fármacos:* Algunos fármacos de uso común pueden dar lugar en algunos pacientes a una pigmentación de la mucosa bucal y gingival. La patogénesis de esta pigmentación por fármacos varía dependiendo del fármaco que la ocasione; puede ser debida por

acumulación de melanina o directamente por acumulación de los metabolitos de la misma. Los ejemplos más conocidos de pigmentación oral farmacológica son a consecuencia de tratamientos prolongados con minociclina, antimaláricos y citostáticos (37, 39, 42, 49-52). Generalmente una vez suspendida la administración del fármaco, la pigmentación desaparece gradualmente en la mayoría de las ocasiones (37).

En la tabla siguiente aparecen relacionadas por grupos genéricos los principales fármacos que ocasionan pigmentación oral; en ésta tabla se incluyen, además, drogas de abuso como la heroína y la nicotina.

**Tabla 1. Pigmentación oral en relación con fármacos y otras sustancias lesivas\***

<b>Antibióticos</b>	<b>Antifúngicos</b>	<b>Antipalúdicos</b>	<b>Antivirales</b>	<b>Antipsicóticos</b>
Tetraciclina	Ketoconazol	Cloroquina	Zidovudina	Clorpromacina
Minociclina				
<b>Antiarrítmicos</b>	<b>Hormonales</b>	<b>Citostáticos</b>	<b>Vitamínicos</b>	<b>Drogas abuso</b>
Amiodarona	ACOs	Bleomicina	Caroteno	Heroína
	Estrógenos	Busulfan		Nicotina
	ACTH	Ciclofosfamida		
		Doxorubicina		
		5-Fluoracilo		

\*Modificado de Kauzman et al (39) y Dereure (49)

Pigmentación postinflamatoria: Algunas lesiones inflamatorias mucosas, fundamentalmente el liquen plano, pueden dar lugar a una pigmentación de las mucosas. Esto se observa fundamentalmente en los pacientes de piel oscura. Clínicamente aparecen como múltiples máculas marrones o negruzcas, anexas a lesiones de liquen plano

reticular o erosivo. La patogénesis de ésta pigmentación no permanece clara (39).

Histológicamente hay una producción aumentada de melanina que se acumula en los melanocitos y en los macrófagos del tejido conectivo subepitelial superficial.

Melanosis del fumador (melanosis tabáquica): El consumo de cigarrillos es responsable de pigmentación oral en el 21,5 % de los fumadores; su intensidad esta en relación con el número de cigarrillos consumidos y parece ser que depende de algunas sustancias que incluyen los cigarrillos como aminos, nicotina y benzopireno (53). Consisten en melanosis localizadas principalmente en la encía, paladar duro y comisuras bucales, de una tonalidad marrón negruzca y es más común en mujeres (41). Histológicamente el epitelio de la membrana basal muestra aumento de la melanina y hay, además, numerosos melanofagos en el corion superficial. Los hijos de fumadores también pueden presentar ese tipo de melanosis que generalmente desaparece una vez abandonado el hábito de fumar (54-56).

#### **4.2b. Lesiones pigmentadas focales o solitarias**

Cuando éstas lesiones pigmentadas orales son **focales/localizadas** distinguimos tres tipos de tonalidad: rojo/azul/púrpura; azul/grís y marrón. Consideraremos en primer lugar las lesiones de tonalidad **rojo-azul-púrpura,**

Algunas de ellas desaparecen mediante la presión y otras permanecen.

Las lesiones que **desaparecen a la presión (diascopia positiva)** y adoptan una tonalidad blanquecina similar a la piel normal comprenden las siguientes:

**Hemangiomas y otras malformaciones vasculares:** Los hemangiomas son tumores benignos vasculares localizados fundamentalmente en la piel y con mucha menor frecuencia en la cavidad oral, siendo la lengua el lugar más común de los hemangiomas y de otras malformaciones vasculares; en las lesiones pequeñas una diascopia positiva (blanqueamiento de la lesión) suele ser indicativa de este tipo de lesiones (42, 57).

Cuando las lesiones **no se aclaran con la presión (diascopia negativa)** las posibilidades que es necesario tener en mente son:

**Trombo o Hematoma.** Estas lesiones vasculares no suelen crear serios problemas de diagnóstico diferencial por su característica apariencia (39).

Las lesiones pigmentadas orales de **presentación focal/localizada** y de **tonalidad azul-grisácea** incluyen:

**Tatuaje por amalgama:** El desplazamiento accidental de partículas metálicas a los tejidos blandos orales durante los procesos de restauración dental en los que se utiliza amalgama pueden dar lugar a un tatuaje o pigmentación por depósitos anómalos de la amalgama. A pesar de la alta prevalencia de estas lesiones entre la

población general, existe escasa información disponible en la literatura. Buchner et al (58) identificaron 268 casos de tatuaje por amalgama (1,3%) en 20.731 especímenes procedentes de la CO. Otros autores estiman que la frecuencia del Tatuaje por amalgama es el doble que la de la Mácula melanótica y diez veces mayor que la de los Nevos melanocíticos (59).

La etiología del tatuaje por amalgama puede ser yatrógena o traumática. Las lesiones varían de 0,1 a 2 cm y suelen ser solitarias y raramente múltiples; la encía y los arcos alveolares son los lugares más frecuentemente afectados, aunque excepcionalmente puede presentarse por emigración en otras zonas, sin relación con la región dentaria (por ejemplo: en el suelo de la boca, lengua o mucosa de la mejilla) (37). El diagnóstico está basado fundamentalmente en los signos clínicos y en la anamnesis del paciente, que puede referir algún tipo de restauración dental. Estas lesiones únicamente se extirpan por causas estéticas empleando a veces laserterapia (42). Generalmente no se advierten cambios inflamatorios en la periferia de la lesión y la diascopia es negativa. La realización de una radiografía nos pone de manifiesto, en más del 25% de las ocasiones (37), los gránulos radio-opacos de la amalgama; si no se confirma radio-opacidad es preciso realizar una completa anamnesis y una detallada historia clínica que incluya la totalidad de los antecedentes del paciente hasta varios años antes de que haya sido explorado, y si persisten las dudas tras una radiografía negativa es obligado efectuar

una biopsia, cuyo examen histopatológico mostrará en la lámina propia gránulos oscuros y fragmentitos sólidos de metal, entremezclados con la colágena y usualmente fagocitados por células gigantes multinucleadas, tipo cuerpo extraño (42).

Otros tatuajes: Existen lesiones labiales o intraorales causadas por diversos cuerpos extraños (41, 42), que se produce el propio individuo, de manera inconsciente o consciente. Suelen ser lesiones planas, de color negro-azulado, generalmente únicas y de variable tamaño.

Entre las lesiones autoprovocadas de forma inconsciente, no son raros, sobre todo en los niños, los tatuajes por grafito de los lápices o por tinta de bolígrafos o plumas estilográficas, que usualmente se localizan en el paladar duro y menos frecuentemente en la encía. Una lesión parecida, puede encontrarse en individuos que usan pasta dentífrica con contenido de carbón.

Los pigmentos utilizados en tatuajes estéticos o rituales del labio o CO en ocasiones generan una respuesta adversa, inflamatoria y/o granulomatosa a cuerpo extraño, por un mecanismo de rechazo a los metales contenidos en la tinta del tatuaje. En estos casos el pigmento suele reconocerse al estudio microscópico como un punteado granular distribuido en pequeños cúmulos pardo-negrucos en el seno de un tejido fibroso denso, que se magnifican utilizando un microscopio de luz polarizada, que suele permitir tipificar el tipo de sustancia empleada para dar color, sin necesidad de recurrir a caros y

sofisticados métodos como la espectrofotometría o microanálisis con RX. Así, generalmente, el mercurio expresa una birrefringencia roja; el cadmio amarilla; el cromo verde; el cobalto azul; y el carbono y el grafito negra (60).

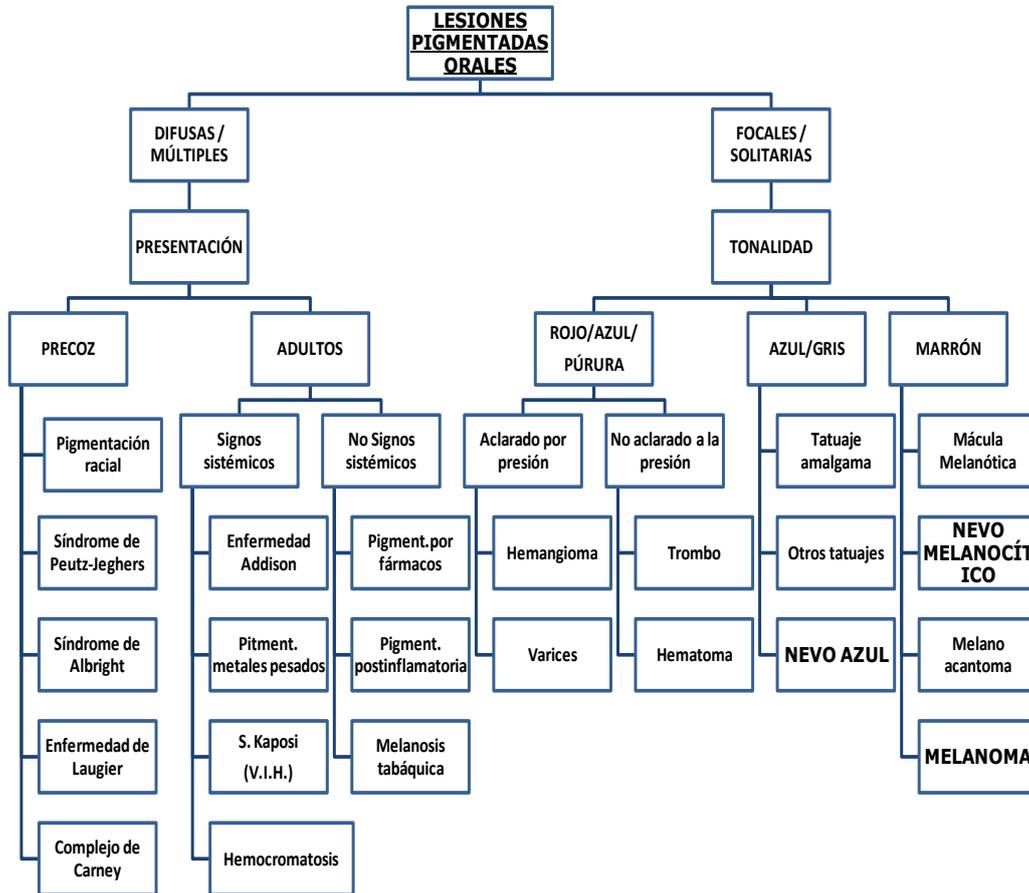
El resto de las lesiones pigmentadas focales/localizadas y de tonalidad azul/grisácea y marrón, correspondientes a Nevo azul, Mácula melanótica, Melanoacantoma, Nevo melanocítico y Melanoma, serán tratadas en los subapartados 5 (LESIONES SOLITARIAS MELANOCÍTICAS DE LA CAVIDAD ORAL) y 5.3 (**Tumores melanocíticos**).

4.2b1. A continuación se incluyen dos ***algoritmos diferenciales de inducción diagnóstica***, de fácil y rápida comprensión, con el ánimo de que el odontoestomatólogo general pueda disponer de unos esquemas básicos que le permitan de manera sencilla, y como medida inicial, la posibilidad, aplicando cascadas inductivas, de contar con una aproximación diagnóstica.: uno general, que contempla y delimita las **Lesiones pigmentadas orales (Tabla 2)**; otro, puntualiza la cascada de medidas que el odontoestomatólogo debe adoptar ante una **Lesión pigmentada sospechosa de tatuaje por Amalgama (Tabla 3)**.

#### ***\*Lesiones pigmentadas orales***

Las lesiones pigmentadas de la CO se pueden clasificar, sistematizar o diagramar, mediante algoritmos diagnósticos a partir de dos grandes líneas de lesiones: difusas/múltiples y focales/localizadas.

**Tabla 2.- Diagrama general de inducción diagnóstica de las lesiones pigmentadas orales.**

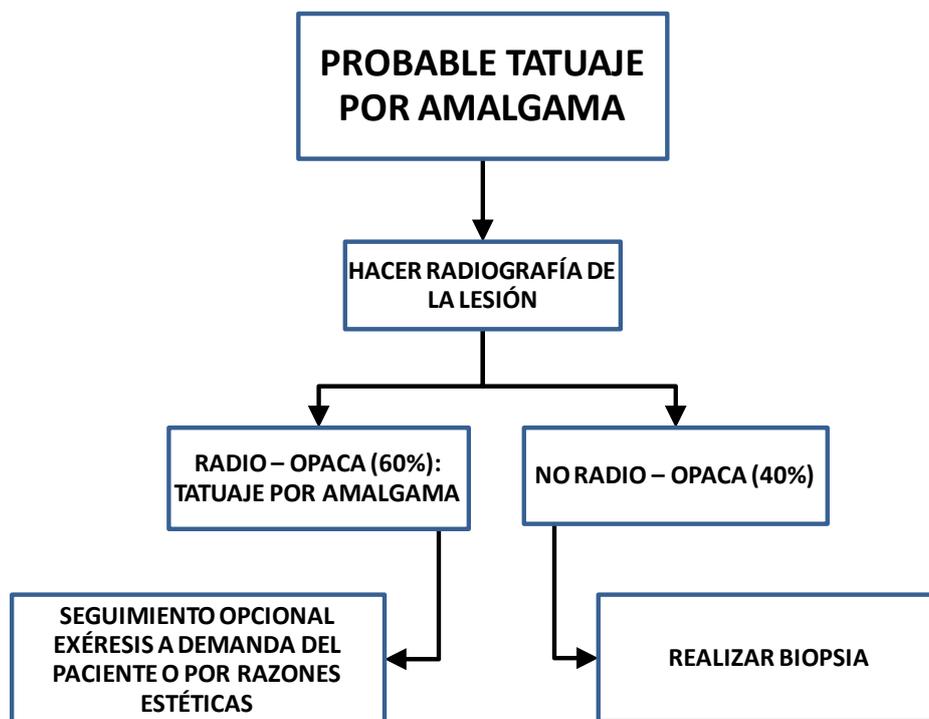


Modificado de Kauzman et al (39)

**\*Lesión sospechosa de tatuaje por amalgama**

Los pasos a seguir ante una lesión sospechosa de tatuaje por amalgama, que es la lesión pigmentada -casi siempre solitaria- más habitualmente observada en la CO- corresponde al 1.8%-, aparecen reflejados en el siguiente algoritmo.

**Tabla 3. Lesiones pigmentadas orales solitarias: Planteamiento del odontostomatólogo ante la sospecha de un tatuaje por amalgama**



#### **4.3. Indicaciones para la realización de biopsia**

Ante la observación de cualquier tipo de pigmentación oral es ineludiblemente necesario tener presentes los siguientes puntos (61, 62).

-Observar la lesión detalladamente, considerando: localización, coloración, tamaño, límites (homogéneos o no), superficie (lisa o irregular), si es elevada o plana, y proceder a efectuar una

dermatoscopia si hay accesibilidad y una placa radiográfica si procede.

-Llevar a cabo una anamnesis exhaustiva: antecedentes familiares, hábitos, ocupación profesional, tiempo de evolución y cambios que se hayan producido en la lesión desde su aparición.

-Si no se cuentan con garantías para establecer un diagnóstico debe hacerse una biopsia, cuyas indicaciones –algunas ya reseñadas- se relacionan en la tabla siguiente.

***Tabla 4. Lesiones pigmentadas orales en las que debe realizarse una biopsia***

**LESIONES PIGMENTADAS ORALES: Indicación de biopsia**•

***-Cualquier alteración patológica que no se diagnostique clínicamente***

***-Lesiones sin etiología definida que persistan más de 2 semanas y no respondan a tratamientos tópicos endodóncicos o a antibioterapia.***

***-Todo tipo de lesiones con la mínima sospecha de premaligna o maligna***

***-Lesiones que desarrollen un rápido crecimiento, sin causa justificable***

***-Lesiones en las que no se consiga establecer una relación causa-efecto***

***-Lesiones de tonalidad rojiza, azul, gris, marrón o negruzca (o con colores entremezclados), sin diagnóstico clínico claro***

***-Cualquier lesión no rodadera, adherida a estructuras adyacentes***

***-Lesiones presentes en localizaciones de alto riesgo, tales como suelo de la boca y lengua***

***-Confirmación de un diagnóstico clínico de sospecha***

***-Lesiones que provoquen en los pacientes afectados situaciones de ansiedad, malestar o cancerofobia y solo requieran un procedimiento quirúrgico carente de riesgo, banal y mínimo, como es la biopsia***

• Basado parcialmente en datos obtenidos de Alexander et al y King y McGuff (61, 62)

## **5. LESIONES SOLITARIAS MELANOCÍTICAS DE LA CAVIDAD**

### **ORAL**

#### **5.1. Concepto y clasificación**

La denominación, clasificación y/o adscripción nosológica de las lesiones solitarias melanocíticas orales, que incluyen varias series y revisiones en la literatura, carecen de homogeneidad y una parte de estas publicaciones reflejan criterios diferentes y hasta contrapuestos (37, 41, 63-68).

Como se abundará en la Discusión, las *LSMs de la CO* se han clasificado en dos grupos: *Lesiones reactivas* (MCM y MAT) y *Tumores* (NMO –incluido el NA- y MMO).

Repasaremos las características más significativas de la MCM y del MAT y describiremos, tras realizar una detallada y selectiva revisión de la literatura, las características clinicopatológicas, inmunohistoquímicas y terapéuticas de los NMOs y MMOs.

#### **5.2. Lesiones solitarias melanocíticas reactivas**

##### **5.2a. MÁCULA MELANÓTICA ORAL Y LABIAL (Y LESIONES AFINES)**

La mácula melanótica (MCM) oral es una lesión pigmentada benigna y, según se ha señalado, clínicamente bien definida (37).

Posiblemente sea más frecuente de lo expresado en la literatura como se demuestra en dos amplias series en las que las MCMs orolabiales representan del 0.4 al 0.5% de la totalidad de las biopsias bucales (63, 66), aunque en una serie amplísima, más reciente, que

reune 665 MCMs se refleja una prevalencia más alta (0.7%), representando el 86.1% de las LSMs de la cavidad bucal (65).

Las MCMs son lesiones habitualmente únicas, bien delimitadas, de tonalidad homogénea, azulada, marrón o negruzca y de un tamaño inferior a 1 cm (37, 39, 63). Aparecen usualmente en individuos de origen caucasiano, con predominio en mujeres; la edad media de presentación se sitúa en 43.7 años y el labio y la encía son las localizaciones más frecuentes -31.1% y 31%, respectivamente- (65).

Las MCMs ubicadas en el labio suelen ser más grandes (37) y, al contrario de lo que sucede con las efélides, no sufren modificaciones con la luz solar (63).

La dermatoscopia pone de manifiesto un patrón homogéneo y lineal, sin focos radiados o globulares (69).

En una extensa serie (63) los diagnósticos clínicos más comunes fueron de efélides (o melanosis focal) y de nevo pigmentario, así como de tatuaje por amalgama, y en el 21% de los casos se solicitaba que se descartase un melanoma.

El examen histopatológico suele mostrar ligera elongación de epiteliales, con acantosis y queratosis, junto con hiperpigmentación de la capa basal, mas llamativa en las lesiones labiales, y agregados de melanófagos en el corion superficial, a veces con presencia de fibroblastos activos, sin aumento de los melanocitos basales (65, 66), si bien en la serie de Buchner y Hansen (63) en el 4.7% de las MCMs de la CO se observó un discreto aumento de los melanocitos en la

capa basal. En el mismo sentido, LeBoit et al (64) han apuntado la existencia de un ligero –y a menudo imperceptible– incremento de melanocitos en la capa basal, observable con más sencillez y claridad con técnicas histoquímicas de impregnación argéntica (Masson-Fontana, Whartin-Starry, etc.); asimismo, otros autores demuestran en la totalidad de las 15 MCMs labiales, examinadas mediante micrometría, un neto aumento del número de melanocitos basales, estadísticamente muy significativo en relación con los del epitelio normal (70). Apoyando estas observaciones, Massi y LeBoit (71) señalan que los melanocitos presentes en la MCM pueden corresponder al doble o al triple de los normales, aunque éste aumento puede pasar inadvertido mediante secciones rutinarias teñidas con HE, si bien puede ser visualizado de manera mucho más clara con técnicas HQs o IMHQs, reservando las denominaciones de “activación melanocítica” o “mácula no proliferativa” para aquellas lesiones en las que no se reconoce un mínimo aumento de los melanocitos basales, incluso recurriendo a técnicas HQs o IMHQs.

Son lesiones inocuas que generalmente no requieren tratamiento (37), aunque si se presentan dudas diagnósticas, sobre todo en las de localización palatina, deben extirparse y realizar estudio anatomopatológico (63).

El nombre de *melanosis focal* se emplea para aquellas lesiones con presencia microscópica de pigmento en el epitelio y/o lámina

propia/submucosa, de causa generalmente conocida, frecuentemente asociada clínicamente a otras lesiones no pigmentadas (63).

Las *efélides* o pecas son comunes y miden menos de 5 mm de diámetro. Exhiben una coloración marrón oscura y adoptan una configuración macular. Aparecen solo en la piel –no en las mucosas, excepto el borde rojo labial-, en áreas expuestas al sol, aumentan de pigmentación con la exposición solar y se aclaran al cesar ésta (63).

Las efélides no revelan incremento alguno de los melanocitos basilares y la epidermis carece de alteraciones microscópicas, a excepción de la hiperpigmentación de la capa basal (63). Cuando se ven en gran número en la región perioral y fundamentalmente labial, hay que tener en mente las posibilidades diagnósticas de una Enfermedad de Addison y especialmente de un Síndrome de Peutz-Jeghers (42).

No requieren tratamiento alguno. Éste tipo de lesiones, salvo cuando están asociadas a cualquiera de los síndromes reseñados, son completamente banales (37, 42).

El *lentigo* [RAE: del lat. *lentigo*], mal llamado y escrito por los profesionales “léntigo” (no es una palabra esdrújula sino llana), denominado clasicamente *lentigo simple*, es común y aparece de forma múltiple como máculas marrones en la piel, la encía y los labios; usualmente está relacionado con la edad y no está influido por la exposición solar (63, 71).

Microscópicamente está constituido por una hiperplasia de melanocitos, dispuestos individualmente, junto con un alargamiento de crestas epiteliales y un aumento de la melanina basilar (37, 42).

### **5.2b. MELANOACANTOMA**

En un estudio donde se recoge una amplia serie de LSMs de la mucosa oral y labial (773 casos), el melanoacantoma (MAT) solo comprende el 0.9% (65). Son raros y cursan como una lesión pigmentada de la mucosa oral o labial que aparece generalmente en mujeres jóvenes afro-americanas, constituida histológicamente por una proliferación de melanocitos dendríticos asociados a un aumento del espesor del epitelio, con acantosis y queratosis focal o difusa (70, 72). Clínicamente aparecen como lesiones focales, maculares o ligeramente elevadas e hiperpigmentadas, con un color que varía de marrón oscuro a azul y pueden confundirse con un melanoma (42, 72).

Las lesiones orales son completamente distintas de las cutáneas que son interpretadas como una variedad de queratosis seborreica (68).

El MAT de la mucosa bucal suele estar relacionado con factores externos, como traumatismos, lo que posiblemente explique su súbita aparición y rápido crecimiento (37, 42).

Se ha señalado que el MAT oral corresponde a una lesión reactiva sin potencial maligno, que desaparece de modo espontáneo una vez que el estímulo productor ha cesado (42). No obstante, para garantizar el diagnóstico es preciso realizar biopsia ante la mínima duda.

Se han efectuado trabajos para comparar el MAT labial con la MCM labial y oral y no se han encontrado diferencias significativas desde el punto de vista microscópico, a excepción de focos de espongiosis, infiltrado inflamatorio subepitelial de eosinófilos y melanocitos intraepiteliales en el MAT (70).

En un estudio inmunohistoquímico de 10 casos de MAT se ha comprobado que la totalidad expresan inmunorreactividad para HMB-45 (72), lo que no aporta conocimiento adicional alguno sobre esta entidad.

### **5.3. Tumores Melanocíticos**

#### **5.3a. NEVOS MELANOCÍTICOS**

Los nevos melanocíticos de la mucosa oral (NMOs) son lesiones proliferativas de los melanocitos, similares a las cutáneas, que se localizan en la capa basal o en el tejido conectivo subepitelial (lámina propia/submucosa) o en ambas zonas.

El primer nevo de la CO fue documentado en el año 1943 (73). Inicialmente se propuso para los NMOs el término poco afortunado de nevo intralámina propia (74); más tarde, otros autores (75) no aportaron nada mejor a la denominación anterior y los designaron nevos intramucosos, denominación que aún persiste.

Hace unos años los NMOs se categorizaban como hamartomas, hasta demostrarse que corresponden a verdaderos tumores, en la medida que a menudo expresan el proto-oncogen BRAF y menos usualmente

otras mutaciones genéticas, como el oncogen NRAS y el GNAQ (76, 77).

Una búsqueda informática a través de *Medline* recogió únicamente alrededor de 120 artículos de NMOs publicados desde 1965 a 2005, muchos de ellos correspondientes a casos aislados o series muy pequeñas (78).

5.3a1. Epidemiología: La prevalencia e incidencia del NMO no se ha estudiado de forma sistemática. No obstante, en un amplio estudio efectuado en una sola región de USA (Carolina del Norte) se refiere que el NMO representa el 0.1% de 90.000 biopsias de una unidad de cirugía maxilofacial, durante un periodo de 19 años (79). Otro estudio (78), que incluye a toda la población holandesa y aporta 119 casos de NMOs recolectados durante 15 años, refleja que la incidencia en Holanda de NMOs extirpados es de 4.35 casos/10 millones de habitantes/año.

El NMO comprende el 11.8% de las lesiones solitarias melanocíticas de la CO (65). La relación mujer-hombre es de 1.5:1, sin preferencia racial, con un rango de edad de 3 a 85 años (80, 81), situándose la edad media, en las grandes series, de 30.5 a 36.6 años de edad (65, 78, 79, 82).

En la publicación de Meleti et al (78), se señala que ninguno de los 119 nevos estudiados estaba asociado a melanoma por lo que se infiere que los NMOs no corren riesgo de malignizarse, prácticamente. Al hilo de esta consideración, otros autores (57) expresan que el

riesgo de malignización de un NMO es extremadamente mínimo (aproximadamente 1/1.000.000).

5.3a2. Presentación clínica: Generalmente los NMOs se descubren en exámenes odontológicos de rutina (78). La localización más común es el paladar duro seguido de la mucosa bucal y de la encía (65, 78, 79, 82), encontrándose en el paladar alrededor de la mitad de ellos (65, 78, 79).

Se ha señalado que la ubicación más habitual de los NMOs en el paladar está relacionada con la mayor cantidad de melanocitos existentes en la mucosa palatina (34). Son típicamente lesiones solitarias, y excepcionalmente múltiples (83), bien circunscritas, de configuración ovoide y macular, y menos frecuentemente elevadas y papulares, e incluso polipoides, con un tamaño medio de 5 mm (37, 79, 81).

Más del 98% de los NAOs son pigmentados, con una tonalidad que va de marrón a negra o de azul a grisácea y a veces la pigmentación es variada (79, 81).

5.3a3. Histopatología: Son similares histológicamente a los nevos cutáneos y al igual que en la piel se distinguen los siguientes tipos (65, 78):

***Nevo melanocítico ordinario*** que se clasifica en tres subtipos:

--*Nevo juntural*, representado por una proliferación de melanocitos, con pigmentación variable y morfología usualmente lentiginosa, ubicados en la interfase epitelio-tejido conectivo.

--*Nevo subepitelial* que corresponde a una proliferación de melanocitos generalmente de morfología ovoide, que asientan en la lámina propia y/o submucosa, en forma de amplios agregados y regueros

--*Nevo compuesto* que incluye una proliferación de melanocitos dispuestos tanto en la interfase epitelio-tejido conectivo como en la región subepitelial.

***Nevo azul común*** caracterizado por una proliferación de melanocitos fusiformes, bipolares y dendríticos, con abundante melanina y un patrón de crecimiento fascicular, situados en el tejido conectivo subepitelial. Una subvariante poco común de NA es el *NA Celular* (84) o *NA Epiteliode* (85, 86). ***Otras variantes de Nevos***, incluido el *Nevo combinado* (87), mezcla de los anteriores, es de presentación muy rara en la mucosa oral. Prácticamente se han descrito todas las variantes de nevos cutáneos en la CO, que aparecen en la literatura como casos excepcionales. Así se han recogido casos de NMO recurrente (88), de células névicas gigantes multinucleadas (89), neurotizado (90), de células "balonizadas" (91), diversos casos de nevo de Ota asociados a pigmentación oral (92-94), no pigmentado (95), nevo azul celular atípico-infiltrativo (96), de Spitz (97), displásico -no muy convincente- (82) y desmoplásico (98).

En las series más importantes (65, 78-82), el más frecuente por tipos histológicos es el nevo melanocítico subepitelial (55-80%), seguido del nevo azul (8-32%). Como los NMOs se localizan en las regiones

posteriores de la cavidad oral –hasta el 44% en paladar duro- no son fáciles de visualizar (65).

La inmensa mayoría de los NMOs son adquiridos. En la literatura inglesa al parecer únicamente existen seis casos bien documentados de NMOs congénitos (99, 100).

5.3a4. Diagnóstico diferencial: Los nevos amelanóticos, que suponen aproximadamente el 15% de los NMOs primarios, suelen confundirse con otras lesiones no pigmentadas tales como fibromas de irritación o papilomas (80). Los nevos pigmentados usuales plantean problemas diferenciales con los tatuajes, con la MCM y con el melanoma precoz (37,65).

5.3a5. Tratamiento y Prevención: Aunque en los NMOs, el riesgo de malignización es prácticamente nulo (57, 78), Eisen (37) opina que la extirpación de todas estas lesiones es práctica y recomendable, argumentando, principalmente, la imposibilidad de diferenciarlos clínicamente, en la mayoría de las ocasiones, de un melanoma precoz.

No existe prevención para los NMOs, en virtud de que no están expuestos al sol que es el factor cancerígeno principal de las lesiones pigmentadas melanocíticas (37, 78).

Como la inmensa mayoría de los nevos orales y de los melanomas precoces se detectan en las revisiones odontoestomatológicas, habría que prestar énfasis en la exploración detallada de la región posterior

de la cavidad oral dónde suelen asentar con mayor frecuencia ambos tipos de tumores (37, 65).

### **5.3b. MELANOMA**

El melanoma primario de las mucosas es un tumor raro, que comprende el 0.03% de todos los diagnósticos nuevos de cáncer (101), por lo que su conocimiento clínico-patológico, patogenético y terapéutico es escaso y en algunas parcelas confuso; además, el diagnóstico de los melanomas mucosos (MMMs) suele hacerse, por su localización, en una fase tardía de la enfermedad, lo que determina que el pronóstico sea extremadamente desfavorable (101).

5.3b1. Epidemiología: La incidencia de los melanomas mucosos de cabeza y cuello (MMCCs) es alrededor de 4 casos/10 millones de habitantes/año en USA (35) y comprende el 0.7% de la totalidad de los melanomas (102).

En un importante estudio epidemiológico en el que se revisan 67 registros de cáncer se extraen 319 casos de MMO, que representan el 0.26% de todos los cánceres de la CO, no excediendo en ningún registro del 0.001/100.000 personas/año, siendo el paladar (47%) y la encía (27.6%) los lugares más habituales de presentación (103).

A partir de los datos procedentes del archivo nacional del cáncer de USA, se conoce que los melanomas cutáneos suponen el 91%, mientras que los oculares, mucosos y primarios de origen desconocido representan el 5.2%; 1.3%; y 2.2% de los casos, respectivamente (102).

La frecuencia comparativa del MMO respecto a otros cánceres de la cavidad oral es del 0.5%, mientras que el carcinoma escamoso alcanza el 87% (104).

A pesar del marcado aumento de la incidencia del MMC en los últimos años, la del MMM permanece estable (105), con un pico de incidencia entre 70 y 79 años, dos décadas más tarde que el MMC (101). La edad de aparición más frecuente del MMO se sitúa entre la cuarta y la séptima década de la vida, con una edad media de 56 años y afecta predominantemente a hombres con una relación H:M de 2.8:1 (106, 107) y, en contra de lo señalado principalmente por autores japoneses (108, 109), la incidencia es similar entre caucasianos, asiáticos y afroamericanos (102). Muy probablemente, la incidencia del MMM esté sobrestimada en asiáticos debido a la baja incidencia de melanoma en esta raza (101).

En un estudio donde se recoge una amplia serie de LSMs de la mucosa oral y labial (773 casos), los melanomas y las "proliferaciones melanocíticas atípicas" representan el 0.6% cada una (0.006% del total de biopsias orales), siendo el paladar la zona de localización preferente de los melanomas [60%] (65). Estos mismos autores concluyen que las lesiones solitarias melanocíticas de la CO, especialmente las de localización palatina, deben biopsiarse para descartar que se traten de un melanoma (65).

La inmensa mayoría de los estudios de MMO primario provienen de la literatura en lengua inglesa; en español existen muy pocas

publicaciones, que se tratan, generalmente, de casos aislados o series muy cortas, a excepción de 3 estudios, dos de ellos procedentes de Argentina y México que describen 10 y 14 casos de MMO, respectivamente (110, 111), y un tercero más reciente, publicado en inglés si bien en una revista editada en España, que incluye una importante revisión epidemiológica a partir de una serie de 97 MMOs recolectados en tres centros sanitarios de Lima durante un periodo de 56 años (112). Existe otro trabajo también de autores latinoamericanos, que comprende un estudio cooperativo de Brasil y Bolivia de 35 casos de MMO, pero está publicado en una revista editada en USA (113).

Mediante una compleja búsqueda bibliográfica se han logrado recoger 19 casos de MMO publicados en España (114-122), que incluyen dos series que aportan siete y tres casos (118, 120). Sin embargo, los 7 casos aportados por Caballero y Guixard (118) se recolectaron en dos centros, uno de Barcelona y otro de Toulouse, y al no precisarse el origen hospitalario de los pacientes no puede saberse a ciencia cierta el número de casos de MMOs publicados en España procedentes de hospitales españoles.

#### 5.3b2. Etiopatogenia y Factores de riesgo:

Claramente el sol juega un papel determinante en el desarrollo del melanoma cutáneo; sin embargo, los factores de riesgo que se han relacionado con el MMO son poco consistentes (123), tales como procesos traumáticos por irritación crónica de prótesis, higiene oral

inadecuada, tabaquismo, quemaduras y aspiración y/o ingestión de diversas sustancias carcinogénicas (124), incluido el formaldehído (125). Pero no hay pruebas de que el tabaco y la irritación provocada por prótesis dentales tengan alguna relevancia en la etiología de los MMOs (126)

Es una evidencia constatada que las lesiones melanocíticas cutáneas aumentan de tamaño y de pigmentación en el curso del embarazo, especialmente en la piel tirante del abdomen, pero, a pesar de la creencia tradicional, no se ha demostrado científicamente que la gestación influya de alguna manera en la incidencia, presentación, desarrollo o curso evolutivo de los MMCs (127). No existen estudios sobre MMOs y embarazo, pero es presumible, como ocurre con los cutáneos, que no haya relación alguna. Asimismo, no se ha comprobado aumento del riesgo de desarrollar MMC en mujeres que han sido consumidoras de contraceptivos orales, independientemente de la duración; no obstante, se ha puntualizado que posiblemente el riesgo sea algo mayor en premenopáusicas que prosiguen consumiendo anticonceptivos (128). Hay al respecto una interesante publicación que demuestra una expresión similar de receptores de estrógenos en nevos de pacientes con melanoma, comparada con la ausencia de estrógenos en nevos de pacientes sin melanoma, lo que sugiere que las hormonas esteroideas, en concreto los estrógenos, podrían traducir alteraciones moleculares que interviniesen en la transformación de un nevo en un melanoma (129).

En el MMO se han demostrado varias mutaciones genéticas. En un estudio comparativo mediante hibridación genómica de DNA, en diferentes subtipos de melanoma, se ha advertido que mientras los melanomas de zonas expuestas a la radiación solar, pero sin lesiones actínicas asociadas, tienen frecuentes mutaciones en el proto-oncogen BRAF; su expresión es rara, sin embargo, en los melanomas localizados en mucosas, áreas acrales y en regiones cutáneas con cambios actínicos (130). Algunos melanomas localizados en zonas acrales, en mucosas y en regiones cutáneas con lesión actínica crónica incluyen mutaciones y amplificaciones del receptor de membrana tirosin-quinasa (KIT) tipo III (131), lo que posibilita el tratamiento con fármacos con efecto "diana", como el *Imatinib*®, en aquellos pacientes en fase de enfermedad avanzada.

*Susceptibilidad genética.* La proporción de melanomas con una base familiar varía del 6% al 14% y en torno al 20% de los individuos con historia familiar de melanoma tienen mutaciones en el gen CDKN2A, ligado al cromosoma 9p21, un gen supresor de tumores que codifica dos proteínas con actividad supresora tumoral, la p16 y la p14; con menor frecuencia también se ha encontrado en muy pocas familias una mutación del gen supresor tumoral CDK4, ligado al cromosoma 12q14, que codifica la p16 (132). A partir de una revisión, en consonancia con los criterios dimanados de la Sociedad Americana de Oncología y del Consorcio de Genética del Melanoma, no existe evidencia, al día de hoy, de que la determinación rutinaria de

marcadores genéticos, en pacientes con riesgo de melanoma familiar, tenga utilidad clínica (133). Más recientemente, otros autores (134) en una amplísima revisión y puesta al día de 22 biomarcadores diagnósticos y 39 biomarcadores predictivos IMHQs, además de varios marcadores genéticos y epigenéticos, concluyen que, si bien bastantes marcadores evaluados ofrecen resultados inicialmente prometedores, todavía no se ha constatado la utilidad clínica de ninguno de ellos en grandes series; sin embargo, hay que centrarse y profundizar en las investigaciones de aquellos marcadores predictivos o con influencia en el pronóstico de los melanomas que puedan favorecer el manejo de los pacientes con enfermedad avanzada y la aplicación terapéutica de fármacos con efecto de “dianas moleculares”. En el mismo sentido, Read et al (135) opinan que, el descubrimiento de nuevos genes de alta penetrancia, aparte de los conocidos CDKN2A y CDK4, la determinación rutinaria de marcadores genéticos no se recomienda en la actualidad debido al complejo papel poligénico que determina clínicamente la aparición de un melanoma.

En relación a nuestro país, los representantes de las sociedades españolas de patología y oncología médica han consensuado los biomarcadores necesarios para encarar el tratamiento de los pacientes con melanoma metastásico, que incluyen mutaciones del gen BRAF V600E y opcionalmente del c-kit en pacientes con melanoma primario, acral o mucoso (136).

Se ha postulado que el MMO podría desarrollarse a partir de lesiones melanocíticas previas, o concurrentes, tales como máculas melanocíticas, melanosis y nevos, (116, 137-139), que en el 30% de los casos podrían preceder a los melanomas (139), en colisión con las observaciones de otros investigadores que señalan que el riesgo de transformación de un NMO en melanoma es prácticamente nulo (78) o extremadamente mínimo -aproximadamente 1/1.000.000- (57), lo que está reforzado con las documentaciones histológicas de MMOs desarrollados a partir de lesiones melanocíticas benignas que son excepcionales (140, 141).

Es curioso que los pacientes que sobreviven tras presentar un melanoma, tienen, con respecto a la población general, un riesgo de 32x de desarrollar un segundo tumor maligno (142).

5.3b3. Presentación clínica y Métodos diagnósticos complementarios: Habitualmente los MMOs son asintomáticos, aunque pueden asociarse a pérdida de piezas dentales y dolor; suelen presentarse como máculas, placas, úlceras o nódulos, generalmente múltiples y con satelitis, de límites asimétricos e irregulares y de coloración variable, negruzca, grisácea, púrpura, rojiza o blanquecina (106, 107), aunque del 5% al 15% son amelanóticos o rosados (107), refiriendo otros autores que hasta 1/3 de los MMOs son amelanóticos (143).

El diagnóstico de un MMO requiere confirmar que no se trate de una metástasis de un MMC primario y comprobar la extensión tumoral y la

afectación de estructuras anatómicas, mediante pruebas de imagen tales como TAC, RMN y PET (101), esta última de gran utilidad para la estadificación de MMCCs (144). El PET permite establecer –como método complementario- el estadiaje tumoral y seleccionar a aquellos pacientes con enfermedad metastásica susceptibles de cirugía (145), aunque puede dar falsos negativos (146)

Se encuentra en la literatura un trabajo peculiar, en el que se describe que a través de una gasa mojada se recoge la melanina en los MMOs, estableciéndose el diagnóstico clínico (147).

Las elevaciones séricas de LDH y S-100beta, junto con otra proteína más reciente, Amiloide A, son marcadores bioquímicos contrastados, que determinan el pronóstico en melanomas y son útiles para controlar el curso de la enfermedad neoplásica y la respuesta a la terapia (148).

Los aislados estudios dermatoscópicos en MMO señalan la presencia de una pigmentación difusa con un entramado irregular, focos sin pigmento, glóbulos gruesos y pseudópodos irregulares y estrellados (69).

5.3b4. Diagnóstico Histopatológico: No es fácil determinar si un MMO es primario o metastático. Aunque las metástasis de melanoma en la CO son consideradas una rareza, como se señala en algunas publicaciones de casos aislados (149, 150). Sin embargo, en una serie se demuestra que el 19% de los MMOs son metastásicos (151).

El diagnóstico de MMO primario exige, ineludiblemente, la asunción de los tres criterios siguientes, propuestos por Greene et al (152) hace más de 60 años y actualmente vigentes y válidos:

- Demostración clínica y microscópica de tumor en la mucosa oral
- Presencia histológica de actividad juntural en el tumor
- Exclusión de la existencia de un melanoma primario extraoral

Hay otros signos histológicos que abundan en el diagnóstico de Melanoma primario oral, cuales son: a) invasión del epitelio; b) ulceración; c) invasión neural/vascular; d) existencia de lesión melanocítica previa; e) pigmentación; f) localización generalmente en el paladar o la encía y rara en la base de la lengua; y g) extensión habitual a las glándulas salivales menores (35).

A continuación (**Tabla 5**) se esquematizan las características diferenciales entre MMC y MMM.

**Tabla 5. Melanoma Cutáneo vs Melanoma Mucoso [Φ]**

	<b>Melanoma Cutáneo</b>	<b>Melanoma Mucoso</b>
·Casos/millón/año USA	153.5	2.2
·% Melanomas	91.2%	1.4 %
·Edad media aparición	55 años	67 años
·Relación H/M	2/1.3	1.5/2.8
·Incidencia (tendencia)	Aumento progresivo	Estable
·Estadíaaje AJCC	Establecido	Desde 7ª ed.MMCC*
Presentación	< 1/3 con enf avanz	1/2 con enf avanz
·Aspecto amelanótico	1.8%–8.1%	20%–25%
·Factores de riesgo	Exposición al sol	Desconocidos
·Raza	Bl, 94%;Negra, 0.8%	Bl, 85%;Negra, 7%
·Metástasis a distancia		
-Piel	13%	38%
-T. Subcutáneo	32%	32%
-Ganglios distantes	5%	34%
-Pulmón	18%	36%
-Hígado	14%	20%
·Radioterapia adyuvante		
en tumor primario	Inefectiva	General indic base tumor
·Supervivencia media/5a	80%	20%
·Mutaciones c-KIT	< 5%	15%–22%
·BRAFV600E	50%–60%	Raras

\*AJCC. Manual de Estadíaaje del Cáncer. 7ª ed. 2010

[Φ]Modificada/ampliada de Mihajlovic et al (153) y Seetharamu et al (154)

Del 50 al 70% de los melanomas exhiben melanina en variable cantidad, signo básico para establecer el diagnóstico anatomopatológico (59). Los tipos clinicopatológicos de MMCs propuestos por Clark et al (155), aparte de que carecen de influencia pronóstica, no son aplicables a la mucosa oral; tampoco los niveles de invasión por la ausencia de dermis en las mucosas. El MMO se ha dividido en 3 subtipos histológicos a partir de la celularidad predominante: de células fusiformes, de células poligonales/ovoides, y de celularidad mixta, sin que se haya encontrado correlación con el pronóstico (59). El patrón arquitectural conforma generalmente nidos, cordones y fascículos, con presencia en ocasiones de áreas alveolares y desmoplásicas (106).

Histológicamente los MMOs primarios están caracterizadas por nidos de células ovoides y más a menudo fusiformes, con marcada atipia y pleomorfismo, invasión vascular frecuente, neto crecimiento vertical, amplia infiltración y multicentricidad, factores que determinan la conducta agresiva, el desarrollo rápido de metástasis y la imposibilidad de control local (146). El 30% tiene un espesor de 1.5 a 4 mm y el 70%  $\geq$  4 mm (106)

La demostración mediante microscopía electrónica de melanosomas en estadio II es una clave diagnóstica de melanoma; otros hallazgos ultraestructurales frecuentes consisten en la presencia de pseudoinclusiones nucleares, nucleolos prominentes y filamentos

citoplásmicos intermedios, correspondientes a filamentos de vimentina (156).

*·Factores Anatomopatológicos predictivos.*

En el MMC la profundidad de invasión tumoral microscópica en mm es el único factor predictivo del pronóstico de validez incuestionable (157), que resiste todos los análisis estadísticos. Desafortunadamente, no ocurre así en el MMO, en cuyos informes anatomopatológicos no suele incluirse este dato (126), que, además, no se hace constar en el manual de estadiaje del cáncer de 2010 de la AICC (158).

En otra publicación se evalúan varios signos histopatológicos y se pone de manifiesto que los parámetros pronósticos predictivos del MMC (espesor, nivel de invasión, ulceración, índice de mitosis o infiltración neural), carecen de relevancia pronóstica en el MMM; sin embargo, otros factores analizados por estos autores, como invasión vascular, polimorfismo celular y necrosis, cuando se someten a análisis de univariantes están relacionados con un pronóstico desfavorable, pero cuando se incluyen en un análisis de multivariantes pierden el valor predictivo pronóstico (159).

Existe un estudio muy interesante, aunque solo incluye 10 casos, en el que se demuestra que el tamaño en cm<sup>2</sup> y la profundidad de invasión en mm del MMO conllevan influencia pronóstica, si bien con baja significación estadística (160).

En una serie de 59 casos de MMO y nasosinusal se pone de manifiesto que el estadio clínico, el espesor tumoral  $\geq$  de 5 mm, la invasión vascular y las metástasis a distancia son parámetros pronósticos independientes estadísticamente (161). No obstante, la profundidad de invasión ha sido estudiada por algunos autores en los MMOs con resultados conflictivos (162). En una serie de 74 casos de MMCC cuando la invasión en profundidad es inferior a 0.5 mm la supervivencia es del 30%, de 0.5 a 1 mm del 18% y del 10% cuando el tumor infiltra más de 1 mm, concluyendo que el espesor tumoral no guarda relación con la supervivencia (162). Se ha apuntado respecto el espesor de los MMOs, que raramente son detectados clínicamente hasta que la invasión tumoral en profundidad no sobrepasa 3 mm (163). En otro estudio se ha evidenciado que la profundidad de invasión solo se correlaciona con una supervivencia más pobre cuando excede de 7 mm (164). Otra investigación (165) que analiza 51 casos de MMO encuentra que los pacientes con tumores  $\geq$  4 cm al igual que aquellos  $\geq$  55 años cursan con peor pronóstico.

Respecto al tipo histológico que clásicamente se creía que no tenía relación con el pronóstico (59) en un análisis estadístico, relativamente reciente, se constata que el tipo histológico epitelioide de MMO conlleva peor pronóstico y que los casos carentes de respuesta linfoide intratumoral tienen un riesgo mayor de desarrollar metástasis a distancia (166).

·*Subtipos histológicos.*

·*Melanoma desmoplásico.* Es uno de los diagnósticos más conflictivos, fuente de interpretación anatomopatológica errónea y, consecuentemente, de demandas judiciales por mala práctica en USA (167). Microscópicamente presenta marcadas atipias y numerosas mitosis, estroma colagenizado, cicatricial y mucinoso, agregados linfoides, notable invasión neural y actividad juntural histológica. No es fácil diferenciarlo de otras lesiones como cicatrices, nevo desmoplásico, nevo azul esclerosante, sarcoma, neurofibrosarcoma, leiomiosarcoma y DFSP (167, 168), por lo que es preciso recurrir a paneles IMHQs.

La expresión de genes de diferenciación melanocitaria está disminuida en el melanoma desmoplásico y por el contrario la de otros genes, incluidos factores neurotróficos, está aumentada, siendo la expresión de clusterina muy alta (169).

·*Melanoma sobre nevo azul.* Hace unos años se publicó el primer caso de melanoma asociado a un NA de la mucosa labial, que cursó con metástasis tras la resección quirúrgica, y al cabo de un corto seguimiento (1 año) el paciente permanecía libre de tumor (170).

·*Nevo Azul Atípico celular.* Muy recientemente se ha publicado el primer caso de nevo azul celular atípico en la CO, localizado en la mucosa yugal, indistinguible clínicamente del NAO, pero con rasgos histológicos que hacen preciso diferenciarlo de un melanoma (96).

·*Melanoma "tipo animal" (Melanocitoma epitelioides)*. Un solo caso se ha recogido en la literatura de melanoma "tipo animal/equino" (Melanocitoma epitelioides pigmentado) localizado en paladar (171).

·*Perfil Inmunohistoquímico*.

El reconocimiento clínico-patológico del MMCC entraña dificultades y problemas diferenciales, siendo preciso la mayoría de las veces recurrir a paneles IMHQs (172).

Actualmente se dispone de un buen número de ACs monoclonales contra antígenos de diferenciación melanocítica, sobradamente conocidos, utilizados para garantizar el diagnóstico en los MMCs. Sin embargo, hasta hace poco, el conocimiento y el empleo de estos ACs para el diagnóstico de MMOs era bastante reducido, hasta la publicación de un estudio IMHQ (173) en el que se analizaron 35 MMOs con 5 ACs: S-100, T311 (antitirosinasa), A103 (Melan-A), D5 (factor de transcripción antimicrophthalmia) y HMB-45, con resultados semejantes a los MMCs. Así, 34/35 casos (97%) expresaron inmunorreactividad para la S-100, incluyendo los 5 melanomas desmoplásicos integrados en el estudio, 30 (85%) mostraron positividad para Melan-A y 25 (71%) para HMB-45, constatándose, por una parte, que el inmunofenotipo de los MMOs es similar al de los MMCs, y, por otra, que la anti-proteína S-100, por su alta sensibilidad, sigue siendo el marcador melanocitario por excelencia.

*Marcadores IMHQs predictivos.* En los últimos años se han publicado numerosos estudios inmunohistoquímicos y biomoleculares en pacientes con melanomas, la gran mayoría encaminados a la búsqueda de parámetros predictivos pronósticos, relacionados con factores ambientales, topográficos, patogenéticos y epigenéticos, que posibiliten terapias con fármacos “con efecto diana”; sin embargo muy poco se ha avanzado en el conocimiento y manejo de los MMMs, como sucede ancestralmente, desde hace más de 30 años en todas sus parcelas, incluidos resultados contrapuestos y opiniones antagónicas. No obstante, haremos mención a las publicaciones que ofrecen algo de interés o aportan resultados que puedan tener relación con el curso evolutivo de los pacientes con MMMs y principalmente MMOs.

Se ha demostrado en los MMOs una correlación significativa entre índice de Ki-67 y el desarrollo de metástasis ganglionares, metástasis a distancia y supervivencia de los pacientes (174). Y, además, aparte de la correlación de este factor con el curso evolutivo de los melanomas, cuando la inmunotinción con HMB-45 no es la habitual, el empleo de este marcador de proliferación celular, MIB1 (AC ki-67), puede ser resolutivo: en las lesiones benignas marca los melanocitos de la zona juntural y algunos de la dermis papilar en porcentaje inferior al 5%; valores superiores al 10% favorecen el diagnóstico de lesión maligna (175).

En los MMCCs se ha investigado la significación de reguladores del ciclo celular y responsables de la apoptosis, para entender la vía patogénica y entrever una posible relación pronóstica, pero con resultados heterogéneos. Al respecto, un estudio concluye que la sobreexpresión de p53 está asociada a un pronóstico desfavorable y la sobreexpresión de bcl-2 es un marcador pronóstico adverso en MMCs de espesor intermedio (176); otro, que evalúa 28 casos de MMO, demuestra que la positividad para bcl-2 y p53 y la negatividad frente a la p16 es un resultado frecuente en MMMs primarios, que probablemente forme parte del proceso de la patogénesis tumoral, añadiendo que la inmunoexpresión para bcl-2 es un predictor de buen pronóstico en los MMMs iniciales (177).

En MMCs la inmunorreactividad para CD 10 se asocia a un crecimiento más rápido del tumor, y en las metástasis de melanomas la positividad para CD 10 es mayor que en los tumores primarios (178). Más recientemente se ha puesto de manifiesto que la expresión inmunohistoquímica de CD 10 en MMCs está significativamente correlacionada con el espesor tumoral, el nivel de Clark y la ulceración, y que cuando la expresión de CD 10 se somete a un análisis estadístico de multivariantes, emerge como un factor de predicción pronóstica significativo e independiente (179).

La p21 y la Ciclina D1, que ofrecen inmunorreactividad en 13 casos testados de MMO e invariablemente revelan inmunotinción negativa en la totalidad de los 38 casos de NMOs estudiados, no solo es

probable que tengan un coprotagonismo importante en la patogénesis de los melanomas, sino que son una buena herramienta para diferenciar entre tumores orales benignos y malignos (180). Los mismos investigadores observan altos niveles de expresión de la proteína Skp2 en melanomas de la mucosa bucal, que raramente exhibe positividad nuclear en los NMOs y según señalan es probable que desarrolle alguna función en la progresión de los MMOs, aparte de su utilización como un auxiliar más para separar las lesiones melanocíticas orales benignas de los melanomas (181).

Tanto las lesiones melanocíticas benignas como malignas son inmunorreactivas para c-kit, aumentando la positividad de las células proliferantes ubicadas en la epidermis en ambos tipos de lesiones, en relación con la edad de los pacientes y siendo mayor, en intensidad y porcentaje, en los melanocitos intradérmicos de las lesiones malignas; sin embargo, la expresión de c-kit es negativa en melanomas metastásicos. Por tanto, parece que el c-kit aporta escaso valor para diferenciar lesiones melanocíticas benignas de melanomas (182), aunque su utilidad como "diana terapéutica" está sobradamente demostrada (130, 131).

Se ha comprobado en los melanomas una significativa coexpresión de Nestina (filamento intermedio presente en las células de origen neuroectodérmico) con SOX9 y SOX10 (factores de transcripción que a su vez parece que regulan la expresión de nestina), demostrándose que la Nestina se asocia muy significativamente a la presencia de

ulceración y que la inmunorreactividad de SOX09 está relacionada con estadios avanzados del tumor, lo que sugiere que estos marcadores conllevan un pronóstico negativo en melanomas (183).

Los melanomas desmoplásicos, cutáneos y mucosos, además de la dificultad diagnóstica que suelen plantear clínicamente y con microscopía convencional (167, 168), en ocasiones muestran un inmunofenotipo falseado o paradójico. En los raros casos de sospecha de melanoma desmoplásico sin expresión para S-100 la ostensible inmunotinción para NGFR (p75) es de extraordinaria utilidad (184). Como hay casos excepcionales de melanomas desmoplásicos con inmunotinción positiva para CD-34, que simulan muy estrechamente un DFSP (185), y otros con inmunoexpresión para Actina (186) indistinguibles de un leiomioma, en todos los casos, afortunadamente muy raros, en que se entreeva minimamente la posibilidad de que la lesión se trate de un melanoma desmoplásico, es imprescindible recurrir a paneles IMHQs para no incurrir en errores diagnósticos (167, 168).

Muy recientemente se ha corroborado mediante IMHQ, que el SOX10, factor de transcripción que tiene un importante papel en el desarrollo de los melanocitos, es un marcador de una altísima especificidad (100%) en melanomas desmoplásicos, usualmente negativos frente a otros marcadores IMHQs convencionales de melanoma, tales como HMB-45 y Melan A (187); la inmunorreactividad, generalmente intensa y difusa, frente a SOX10 en los melanomas desmoplásicos

permite diferenciarlos de otros tumores afines morfológicamente como sarcomas y carcinomas escamosos sarcomatoides (187).

También se ha significado que la alteración de los patrones inmunorreactivos de algunas moléculas de adhesión, principalmente de las integrinas y de las proteínas inmunoglobulinoides, pueden influir en la patogénesis y en la conducta biológica de los MMOs (188).

5.3b5. Estadificación: Prasad et al (189) propusieron un sistema de microestadiaje del MMM en pacientes sin metástasis ganglionares (estadio clínico I), considerando 3 niveles:

- Nivel I, melanoma puro "in situ", sin invasión o solo con microinvasión;
- Nivel II, invasión limitada a la lámina propia; y
- Nivel III, invasión profunda o de los tejidos anexos.

Esta microestadificación ha sido empleada por otros autores, en su forma original o modificada, sin correlación con el curso evolutivo (123).

La estadificación (TNM) de los cánceres de cabeza y cuello del manual de la 7ª edición de la AJCC incluye por primera vez los MMMs (158).

Aproximadamente, 2/3 de los MMMs se localizan en la región sino-nasal, 1/4 en la cavidad oral y el resto aparecen solo de forma esporádica en otras zonas mucosas de la cabeza y del cuello. Hasta los tumores de pequeño tamaño se comportan de manera agresiva, conllevan un alto índice de recurrencia y una escasa supervivencia.

Para reflejar esta conducta agresiva, incluso los melanomas primarios confinados a la mucosa se consideran lesiones T3, mientras que los melanomas mucosos en fase avanzada se clasifican como T4a y T4b (158). Los criterios anatómicos de extensión para definir los tumores como *moderadamente avanzados* (T4a) y *muy avanzados* (T4b) se detallan más adelante (Tabla 6). La estadificación de la AJCC para los melanomas mucosos en Estadio I no refleja los signos histológicos para las lesiones T3, ya que la mayoría de los casos se presentan en fases avanzadas (lesiones T3); inclusive las que afectan al epitelio y/o lámina propia. Los melanomas mucosos *in situ* se excluyen de la estadificación de la AJCC debido a su extraordinaria rareza (158).

**Tabla 6. Categorización TNM del Melanoma Mucoso de cabeza y cuello**

**Tumor primario (T)**

TX No valorable la existencia de Tumor primario

T3 Enfermedad confinada a la mucosa

T4a Enfermedad moderadamente avanzada

Tumor afectando tejidos blandos profundos, cartílago, hueso, o piel adyacente

T4b Enfermedad en fase muy avanzada

Tumor que afecta cerebro, dura, base craneal, pares craneales inferiores (IX, X, XI, XII), espacio masticador, arteria carótida, espacio prevertebral, o estructuras mediastínicas

**Ganglios linfáticos regionales (N)**

NX Metástasis en ganglios linfáticos regionales no valorable

N0 No evidencia de metástasis en ganglios linfáticos regionales

N1 Presencia de metástasis en ganglios linfáticos regionales

### **Metástasis a distancia (M)**

M0 No metástasis a distancia

M1 Metástasis a distancia

### **Estadio anatómico/Grupos pronósticos**

<b>Estadio</b>	<b>T</b>	<b>N</b>	<b>M</b>
III	T3	N0	M0
IVA	T4a	N0	M0
	T3	N1	M0
	T4a	N1	M0
IVB	T4b	N Cualq.	M0
IVC	T 4 Cualq	N Cualq.	M1

*\*Tomado de Edge SB et al. AJCC Staging Cancer, 7ª ed. 2010 (158)*

En definitiva, la primera vez que la AJCC en la 7ª edición de 2010, incluye en el Manual de estadiaje del cáncer la categorización TNM y el estadiaje de los MMCCs, aporta muy poco.

#### 5.3b6. Diagnóstico diferencial:

Los MMOs se pueden confundir con varias lesiones benignas. Las melanosos son extremadamente comunes entre los afro-americanos y se localizan principalmente en la encía. Basándose en la localización, bilateralidad y simetría, una melanosos es bastante diferente de una lesión maligna. Encontramos varias lesiones pigmentadas, benignas y malignas que pueden ocasionar serias dificultades en el diagnóstico diferencial con un MMO. Las principales son: MCM, Tatuaje por amalgama, Melanosos tabáquica, Pigmentación postinflamatoria, Melanosos por fármacos, MAT, NMO, Tumores Vasculares (benignos y malignos), en especial Granuloma Píogénico, sarcoma de Kaposi, Linfoma y Carcinoma (37, 101, 106, 126).

5.3b7. Tratamiento: Mientras que en los MMCs las diferentes pautas, ensayos y sistematizaciones terapéuticas han conllevado un aumento muy satisfactorio de la supervivencia, el MMM permanece con similares expectativas desde hace más de tres décadas, a pesar de los múltiples ensayos terapéuticos aplicados (35, 105). Está comprobado, que la combinación de márgenes quirúrgicos libres de tumor junto a tratamiento adyuvante favorece netamente la supervivencia de pacientes con cáncer oral –no melanoma- (190).

El *tratamiento electivo* y principal del MMM es la *resección quirúrgica* con márgenes quirúrgicos libres de tumor y linfadenectomía cervical si existen ganglios clínicamente positivos (191, 192). Pero a las dificultades inherentes del tratamiento quirúrgico del MMO, respecto a su localización anatómica y a la necesidad de preservar estructuras vitales, se suman, por una parte, que el control local del tumor no predice la supervivencia, ya que muchos pacientes con una resección aparentemente total desarrollan recidivas (106), y, por otra, que el 25% de los pacientes con

MMO presentan metástasis ganglionares en el momento del diagnóstico (161), debiendo reservarse la disección ganglionar para los casos con metástasis ganglionares confirmadas clínicamente antes de la cirugía (193). De cualquier forma, aunque existen diversas opiniones al respecto, no hay pruebas que sustenten de manera evidente que la disección ganglionar electiva mejore la supervivencia (194, 195). A título individual en la década de los 90 unos autores japoneses (109), elaboraron unas estrategias quirúrgicas para evitar/disminuir el colapso anatómico de los tejidos orales y/o la pérdida de las funciones oro-labiales. Estas son: 1. Escisión del tumor primario por vía intraoral dejando un margen quirúrgico libre de al menos 1.5 cm; 2. Extirpación de ganglios metastásicos si los hubiere; 3. Plantear QT y/o RT adyuvante (109).

En los últimos años, han ido apareciendo algunos autores que se muestran contrarios a la realización de la biopsia del ganglio centinela

(BGC) como técnica estándar en el manejo de pacientes con melanoma localizado (197-198). El principal argumento en contra de la utilización rutinaria de dicha técnica es que la linfadenectomía electiva o profiláctica –ofrecida a todos los pacientes con MMC localizado– no ha demostrado un aumento de la supervivencia frente a la linfadenectomía terapéutica o diferida –reservada sólo para aquellos pacientes con metástasis ganglionares clínicamente palpables– en los diversos estudios diseñados con tal fin. Por tanto, es deducible que la BGC y la linfadenectomía selectiva posterior también carezcan de efectos beneficiosos para el paciente. En definitiva, la BGC con colorante o radioisótopo en pacientes con MMO, aunque es motivo de controversia y no influye en el pronóstico, facilita el establecimiento del estadiaje y puede replantear la actitud terapéutica (199).

La *Radioterapia* postoperatoria, si bien no influye en la supervivencia, si se ha comprobado que disminuye la recurrencia local (200, 201). Meleti et al (123) aplicando una dosis total de 30 Gy en fracciones de 6 Gy 2 veces por semana, logran disminuir ligeramente la tasa de recidiva local pero sin modificación de la supervivencia. Para otros investigadores, sin embargo, la RT fraccionada a dosis  $\geq$  de 3Gy (dosis media total de 50 Gy) ha resultado efectiva en el control local del tumor y en el aumento de la tasa de supervivencia, especialmente en pacientes jóvenes (202).

En pacientes con MMCCs en estadio I se han utilizado nuevas técnicas radioterapéuticas tras la resección quirúrgica, como RT de intensidad modulada, hipofraccionada dirigida por TAC y tridimensional computarizada, lográndose disminuir la recurrencia local, la progresión tumoral loco-regional y el desarrollo de metástasis a distancia, con un índice de toxicidad aguda grado II en el 19% de los pacientes tratados (203).

La *Quimioterapia* con Dacarbacina (DTIC), que durante bastantes años ha sido el único citostático aprobado por la FDA para utilizar de forma individual en el tratamiento del melanoma metastásico, se ha empleado en pacientes con metástasis en régimen de monoquimioterapia a largo plazo -30 años- con respuesta en torno al 20%, y respuesta completa de 5-6 meses del 5% (204), aunque en otros ensayos (205) las tasas de respuesta son inferiores (7%-15%), e incluso algunos investigadores señalan que la quimioterapia adyuvante con DTIC (sola o combinada) no tiene efecto en la supervivencia (161).

Se ha corroborado que la monoquimioterapia con *DTIC* es un tratamiento electivo en pacientes con Melanoma en estadio IV, en la medida que otras pautas de poliquimioterapia, como el régimen Dartmouth {*DTIC, Cisplatino, Carmustina y Tamoxifeno*} no ofrecen cambios estadísticamente significativos respecto a la supervivencia o respuesta tumoral (205). La eficacia terapéutica de la *Temozolomida* se ha demostrado que es igual a la de la *DTIC*, en

relación con la supervivencia global y la supervivencia libre de tumor, por lo que debe considerarse una alternativa en pacientes en fase metastásica avanzada (206).

Finalmente, parece ser que la QT adyuvante tiene un valor predictivo pronóstico favorable en los MMCCs (207).

*Terapia Biomolecular/Inmunoterapia.* Existe un estudio multicéntrico en pacientes con melanoma en fase avanzada (208) en el que utilizando dosis de 3 mg de *Ipilimumab* -Ac monoclonal bloqueante de los linfocitos citotóxicos, estimulantes y activadores de los linfocitos T- con DTIC se obtiene una supervivencia media de 11,4 meses, similar a la reflejada en otro ensayo (209) en el que a los pacientes se les administra, sin embargo, dosis de 10 mg. La respuesta objetiva a la quimioterapia utilizando los dos fármacos fue del 14.3% y del 5.4% con *Ipilimumab* solo (209). y la supervivencia media fue, respectivamente, de 14.3 y 11.4 meses. Muy recientemente se han llevado a cabo nuevas pautas terapéuticas en pacientes con melanomas avanzados, BRAF V600 positivos, sin tratamiento previo o refractarios a la monoterapia con *Ipilimumab*, empleando *Pembrolizumab* intravenoso con una respuesta objetiva del 26% (210), y combinando *Ipilimumab* con *Nivolumab* lográndose una respuesta objetiva del 61% y respuesta completa del 22% (211). El *Nivolumab* en regimen de monoquimioterapia o combinado con *Ipilimumab* es un tratamiento de primera línea en pacientes con tumores metastásicos avanzados o irreseables, ya que se ha

comprobado, con o sin mutaciones BRAF, que cursan con una alta respuesta objetiva y con prolongada supervivencia (212). La radiación estereotáxica en las metastasis cerebrales de melanoma es bien tolerada en pacientes que reciben *Nivolumab* y la supervivencia aparece prolongada (213).

En pacientes con MMO avanzado, con inmunorreactividad para c-kit, se ha ensayado el tratamiento con *Imatinib* (400 mg, vía oral, 2 veces/día) obteniéndose en ciertos casos una respuesta clínica favorable con un ligero aumento de la supervivencia (131).

El *Interferón alfa* (el único tipo aprobado por la FDA) es un modificador de la respuesta inmune del individuo, que comenzó a utilizarse desde la década pasada como terapia adyuvante en pacientes con MMCs de alto riesgo, pero tras una etapa de ensayos clínicos esperanzadores, los protocolos más recientes, algunos de ellos aún en curso, han verificado una escasa respuesta, sin aumento significativo de la supervivencia (214), aunque en una publicación relativamente reciente que incluye un ensayo de 15 pacientes con MMCCs en estadio IV, tratados con una modalidad terapéutica utilizada en la década de los 90 (*Cisplatino, Vinblastina, Dacarbazina, Interleukina e Interferon*), desechada posteriormente por su elevada toxicidad, se ha observado que el 20% de los pacientes desarrollan una respuesta parcial y completa en el 27% de los casos, concluyendo los autores que esta variedad de poliquimioterapia, aunque tóxica y en desuso, debe considerarse como una opción en

casos de melanoma mucoso avanzado y agresivo (215). Como terapia tópica se ha utilizado el *Imiquimod*, otro modificador de la respuesta inmune que activa la producción de citoquinas proinflamatorias, en pacientes con MMOs con metástasis, lográndose disminuir las recidivas locales (216).

De manera aislada se han ensayado diversos moduladores de la respuesta biológica, con variados resultados, algunos sorprendentes, como el de una paciente de edad avanzada que a los 7 meses de ser sometida a una mandibulectomía marginal con linfadenectomía bilateral y poliquimioterapia adyuvante, desarrolló metástasis hepáticas que fueron tratadas con *OK432*, un inmunoestimulador de colonias bacterianas, produciendo en la paciente una respuesta total de las metástasis, la cual, a los 46 meses, permanecía con buen estado general y sin tumor (217)

Como modalidad terapéutica conservadora excepcional, unos autores sudamericanos (218), tratan con éxito solo dos casos de MMO superficiales con Iser CO<sub>2</sub> asociado a la extracción dental de las piezas afectadas y legrado de la base del tumor.

5.3b8. Pronóstico y supervivencia: Se han relacionado diversos factores con el pronóstico desfavorable y la escasa supervivencia del MMO, entre los que destacan la localización de los tumores en una zona anatómicamente complicada que no facilita la visibilidad, el diagnóstico en fases tardías, la dificultad para realizar una cirugía radical con márgenes suficientes por las

estructuras anatómicas afectadas, la avanzada edad de algunos pacientes (35, 126) y probablemente la propia naturaleza del MMO que conlleve un comportamiento biológico más agresivo que el MMC (219).

En la primera revisión importante de la literatura que agrupó 105 casos publicados durante 100 años ya se demostró el infausto pronóstico del MMO; así, en 24 casos la supervivencia media fue de 18 meses y medio y solo tres pacientes alcanzaron una supervivencia por encima de 5 años (137). En revisiones posteriores (138, 139) la supervivencia de pacientes con MMO no reflejaba cambios relevantes: a los 3 años era del 33% y a los 5 años del 13 al 20%.

La afectación ganglionar en el MMO reduce sustancialmente la supervivencia media de 46 a 22 meses; al contrario sucede en los pacientes con MMC, cuya supervivencia a los 5 años con ganglios negativos alcanza el 80%, disminuyendo de manera impactante al 39% con ganglios positivos; en los MMCCs las metástasis en ganglios linfáticos regionales no conllevan tan drástica disminución de la supervivencia, bajando del 27% sin ganglios metastásicos al 19% con ganglios afectados (152). La *supervivencia* tan baja del MMO con respecto al MMC, está indudablemente en relación con el crecimiento vertical de la neoplasia, con un estadio avanzado en el momento del diagnóstico y con la imposibilidad de realizar resecciones completas del tumor, que incluyan márgenes quirúrgicos libres (35).

### 5.3b9. Biopsia incisional en el Melanoma oral:

Está muy extendida la creencia de que la escisión incompleta o la biopsia con fines diagnósticos de un melanoma puede condicionar un aumento de la recurrencia local y de las metástasis y una disminución de la supervivencia. En este sentido, en un estudio sobre MMCs (*no mucosos*) se demuestra que los pacientes sometidos a procedimientos quirúrgicos no escisionales, previos a la resección quirúrgica, tales como biopsia incisional, afeitado, PAAF, crioterapia, cauterización, etc., presentan una supervivencia menor y desarrollan metástasis con mayor frecuencia (220). Respecto a los MMOs unos autores japoneses exponen similares planteamientos de forma reiterada en 3 publicaciones (108, 109, 221) y pontifican en una de ellas que la supervivencia en pacientes con MMO puede asemejarse a la del MMC, si no se realizan procedimientos quirúrgicos previos al tratamiento, llegando a alcanzar una supervivencia sorprendente, del 91.7 % a los 5 años –muy al margen de la referida usualmente en la literatura- contrastando muy ostensiblemente con una supervivencia del 25.9 % en los pacientes sometidos a procedimientos quirúrgicos previos a la resección tumoral (203). Sin embargo, en un trabajo en el que se revisa una amplia serie (471 casos) se comprueba que la realización de biopsias diagnósticas (no radicales) no guardan relación alguna con la supervivencia (222); solo ocurre que algunos de estos procedimientos diagnósticos puede que no sean adecuados

(p.e. la biopsia afeitado) debido a que imposibilitan la medición en profundidad de la lesión (223).

5.3b10. Prevención y cribado: La prevención de las lesiones de la mucosa oral tiene una importancia trascendental en aquellas con potencial maligno. Las medidas preventivas más importantes del cáncer oral están dirigidas a la lucha contra el consumo de tabaco y de bebidas alcohólicas, ya que ambos hábitos están asociados con la aparición de cáncer oral en general.

El cribado de lesiones sospechosas de malignidad, tendente a detectar lesiones cancerosas y precancerosas en la cavidad oral, debe incluirse en los exámenes periódicos odontoestomatológicos. En lo concerniente a las lesiones pigmentadas de la CO, la prevención y cribado requieren efectuar revisiones periódicas, que incluyan la realización de biopsia de aquellas lesiones sin causa justificable (p.e. tatuajes por amalgama, pigmentaciones postinflamatorias, atribuibles a tratamiento farmacológico, etc.).

La mejor manera de mejorar el pronóstico del MMO es el establecimiento del diagnóstico en fase precoz, cuyas bases son, por una parte, una buena educación sanitaria de la población, y, por otra, la atención y conocimiento óptimos de los profesionales odontoestomatólogos (35, 126).

## **II. PLANTEAMIENTO DEL TEMA**

## **1. HIPÓTESIS**

Algunas de las lesiones pigmentadas orales son fisiológicas, pero la mayoría son patológicas y usualmente sin pautas diagnósticas sistematizadas y con manejos terapéuticos sin homogeneidad ni bases protocolizadas. Y esto cobra especial relevancia en virtud de que la diferenciación clínica entre un proceso benigno y maligno, en bastantes casos es virtualmente imposible, principalmente cuando se trata de pacientes con lesiones únicas y/o focales, en los que no se dispone de una detallada historia clínica que incluya antecedentes, junto con signos y síntomas relacionados con la presentación de tales lesiones. En los casos que no sea posible establecer un nexo entre causa y efecto, con razonables garantías, es obligatorio realizar una biopsia para contar con un informe anatomopatológico, como única vía de que dispone el especialista clínico para establecer un diagnóstico definitivo.

## **2. OBJETIVOS**

La extensa y compleja patología de las lesiones pigmentadas de la cavidad oral y la existencia en la literatura de criterios contrapuestos y hasta confusos, respecto a nomenclatura, clasificación, tipificación

clínica y abordaje terapéutico, hacen necesario establecer líneas diagnósticas de coordinación y sistematización, porque es preciso que el especialista tenga un mínimo conocimiento para poder discernir, al menos, entre lesiones sistémicas, focales o difusas, y principalmente diferenciar lesiones benignas de malignas.

En el presente trabajo perseguimos tres objetivos:

1. Aproximar al especialista odontólogo a plantear actitudes diagnósticas y terapéuticas racionales, a partir del acercamiento que intentamos establecer sobre el reconocimiento y evaluación de las lesiones pigmentadas orales a través de diagramas de rápida y clara correlación inductiva (diagramas de flujo).
2. Realizar una detallada revisión de la literatura sobre las lesiones solitarias melanocíticas de la CO.
3. Incrementar el conocimiento epidemiológico de los TMOs con la primera serie clínica de origen español, obtenida a partir de los casos de las unidades de gestión de patología de dos hospitales públicos de Andalucía.
4. Aportar los hallazgos demográficos, epidemiológicos, clínico-patológicos e inmunohistoquímicos de la primera serie española de TMOs, incluyendo un análisis comparativo de los casos valorables de MMOs publicados en nuestro país.

### **III. MATERIAL Y MÉTODOS**

## **1. CASOS: PROCEDENCIA Y SELECCIÓN DE PACIENTES**

Se ha realizado una evaluación retrospectiva durante un periodo de 12 años, comprendido desde enero de 1999 a diciembre de 2010, a partir de los datos recolectados de los archivos informáticos y del material histopatológico de las unidades de Anatomía Patológica del Hospital Universitario "Virgen Macarena" de Sevilla y del Complejo Hospitalario "Torrecárdenas" de Almería, cuya cobertura asistencial agrupada es de 823.614 (*Plan Estratégico Hospital Virgen de las Nieves de Granada*), que representa el 11% de la totalidad de la población andaluza (n=7.849.799 en 2005).

Durante este periodo se contabilizaron el número global de biopsias y piezas quirúrgicas examinadas y el de las de la CO y mucosa labial. Para la búsqueda informática de datos se introdujo la asociación y/o cruce de los siguientes términos, agrupados por diagnósticos y por topografía. Por un lado: melanoma, nevus, nevo, melanocítico, nevocelular, Spitz, combinado, melanoacantoma, hiperplasia melanocítica, hiperplasia lentiginosa y lentigo. Por otro lado: cavidad oral (bucal), mucosa oral, mucosa yugal, mejilla, mucosa alveolar, mucosa gingival, encía, paladar (palatina), lengua y labio (mucosa y borde rojo). Posteriormente se realizó otra búsqueda individualizada por topografías.

De un total de 328.037 biopsias recolectadas en ambos centros, en el periodo 1999 a 2010, las biopsias orales totalizaron 5.499 (1.67%). A partir de los criterios expuestos previamente, excluyendo los nevos

localizados en piel de labio y los diagnósticos de hiperplasia melanocítica, hiperplasia lentiginosa, lentigo y nevo no melanocítico, se seleccionaron 13 casos para valorar, agrupados por diagnósticos APs tal como sigue:

-Nevos melanocíticos: 10

-Melanomas primarios: 3

En la siguiente tabla aparecen esquematizados los datos referidos

**Tabla 7. Tumores melanocíticos orales desglosados por centros y por diagnóstico anatomopatológico**

### NEOPLASIAS MELANOCÍTICAS ORALES

Periodo: 1999-2010 (12 años)

Hosp	Población*	Total Bs	Bs orales	T MELANs	NMOs	MMOs
HUVM <sup>1</sup>	529 359	215 965	3 962	9	7	2
			(1.83%)			
CHT <sup>2</sup>	294 255	112 072	1 537	4	3	1
			(1.37%)			
<b>TOTAL</b>	<b>823 614</b>	<b>328 037</b>	<b>5 499</b>	<b>13</b>	<b>10</b>	<b>3</b>
			(1.67%)			

*\*Dirección General de Planificación y Financiación. Consejería de Salud, Junta de Andalucía. Sevilla, 2008*

*\*[www.hvn.es/comp\\_hospitalario/plan\\_gestion\\_2005\\_2010/PlanEstrategicoHUVN.pdf](http://www.hvn.es/comp_hospitalario/plan_gestion_2005_2010/PlanEstrategicoHUVN.pdf)*

1. HU "Virgen Macarena". 2. CHT Torrecárdenas.

NMOs: Nevos melanocíticos orales. MMOs: Melanomas malignos orales

## **2. DATOS CLÍNICOS**

La información obtenida de los archivos de ambos servicios incluyó: género y edad, localización de la lesión, tamaño máximo de la misma (en mm o cm), diagnóstico clínico, procedimiento quirúrgico realizado (biopsia escisional o incisional) y servicio/unidad peticionario/a del estudio AP. Para completar datos, acerca de la evolución y tratamiento, se recurrió al archivo hospitalario general de pacientes y/o al de los servicios de Cirugía Maxilo-facial, Facultad de Odontología y Oncología. La iconografía clínica fue cedida por el Servicio de Cirugía Maxilofacial del CHT y por el Departamento de Estomatología de la Facultad de Odontología de la Universidad de Sevilla, cuya AP es cubierta por el HUVM.

## **3. ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO CONVENCIONAL**

Para el estudio histopatológico, las muestras, fijadas en formol tamponado al 10%, fueron procesadas de forma rutinaria en parafina y teñidas con hematoxilina y eosina. De cada caso se revisaron entre 2 y 4 preparaciones por cada bloque de parafina.

Los parámetros evaluados, atendiendo al tipo de lesiones, fueron:

*-Nevo Melanocítico:* Se agruparon de la manera siguiente

.En relación con la localización microscópica de la proliferación melanocítica se subclasificaron en: *junturales, subepiteliales y compuestos, y Nevo azul.* Se

valoraron, además, el tipo de celularidad, la cantidad de pigmento y el índice de mitosis.

*-Melanoma*

·Tamaño máximo del tumor (en cm) y espesor de invasión (en mm).

·Patrón de crecimiento (vertical/radial), presencia o no de ulceración, grado de afectación del epitelio y evidencia o ausencia de necrosis.

·Tipo de celularidad predominante: Fusiforme, epitelioide o mixta, grado de atipia (1 a 3) y tasa de mitosis (nº de mitosis/10 CGA), con objetivo de 40x.

·Grado de pigmentación (de 1 a 3).

·Respuesta inflamatoria (de 1 a 3).

·Invasión vascular y/o neural.

#### **4. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO Y BIOMOLECULAR**

El estudio del inmunofenotipo de los melanomas incluyó la determinación inmunohistoquímica de los siguientes anticuerpos primarios, algunos de los cuales, según se señala, se emplearon también en los nevos melanocíticos:

a) *Anticuerpo monoclonal Vimentina* (clona V9; Dako®):

La Vimentina, proteína constituyente de los filamentos intermedios celulares, se manifiesta en la membrana y en

el citoplasma de las células de origen mesenquimal y neuroectodérmico. En los melanomas tiene escaso valor como herramienta de apoyo diagnóstico, pero es de gran utilidad como referencia y como control de calidad interno (224).

b) *Anticuerpo policlonal Proteína S-100* (Dako®): Reacciona con la proteína S-100A1 y S-100A6 de los tejidos neuroectodérmicos. La proteína S-100 está presente en el núcleo y en el citoplasma de la celularidad de los tumores melanocíticos (benignos y malignos) y en las metástasis de los melanomas (173, 175) [\*].

c) *Anticuerpo monoclonal Antimelanosoma* (clona HMB-45; Dako®). Se expresa en el citoplasma celular de la mayoría de los melanomas y raramente en otros tumores, apoyando la diferenciación entre lesiones melanocíticas benignas y melanomas. Este anticuerpo citoplásmico también reacciona -con un patrón inmunorreactivo diferente- con los nevos azules y melanocíticos (175) [\*].

d) *Anticuerpo monoclonal Melan-A* (clona A103; Dako®). Se aisló como un antígeno específico de melanoma. Es una proteína de membrana que se expresa en la piel, en la retina y en la mayoría de los melanocitos en cultivo, así como en melanomas y angiomiolipomas (225).

- e) *Anticuerpo monoclonal contra el antígeno Ki-67* (MIB-1, Dako®), cuya reacción se produce en el núcleo de las células durante todas las fases activas del ciclo celular. La sobreexpresión refleja el factor de crecimiento celular y está relacionada con un pronóstico desfavorable en tumores malignos, incluidos melanomas orales (174) [\*].
- f) *Anticuerpo monoclonal p53* (clona 318-6-11, Dako®): Reacciona con la *proteína p53*, un oncogen supresor que se activa por alteraciones del DNA y está presente tanto en la proteína original como en la mutada. Las mutaciones del gen *p53* son una de las alteraciones moleculares más comunes que se identifican en tumores malignos. Su expresión nuclear predice el pronóstico de numerosos tumores (176, 226).
- g) *Anticuerpo monoclonal bcl-2* (Clona 124; Dako®): Marca la *oncoproteína bcl-2* que codifica un gen relacionado con una traslocación cromosómica t(14;18). La oncoproteína *bcl-2*, está presente en el citoplasma celular, desempeña un papel importante en la apoptosis, actuando como inhibidor del proceso apoptótico y se ha constatado que es un factor predictivo adverso en melanomas cutáneos de espesor intermedio (176).
- h) *Anticuerpo monoclonal CD-10* (clona 56C6, Dako®): Reacciona con el antígeno CD-10, metalopeptidasa de la

superficie celular que inactiva péptidos activos. Inicialmente se identificó como el antígeno propio de la leucemia aguda linfoblástica (CALLA), aunque posteriormente su inmunorreactividad en la membrana celular ha sido descrita en otras proliferaciones linfoides y en diversos tumores, incluido el melanoma en el que la sobreexpresión está relacionada con el pronóstico (178, 179) [\*].

- i) *Anticuerpo monoclonal c-kit (CD 117)* [Clona T595; Novocastra®]: Expresa el proto-oncogen c-kit, receptor de membrana tirosin-quinasa (KIT), que interviene en la melanogénesis. Su inmunoreactividad se encuentra en la membrana celular de epitelios, células gliales y melanocitos normales y neoplásicos; en estos últimos, además, como factor predictivo terapéutico en melanomas (131, 182) [\*].
- j) *Anticuerpo monoclonal Receptor de Estrógenos* (Clona 1D5 alfa; Dako®): Permite valorar cuantitativamente la presencia de estrógenos nucleares en el cáncer de mama y es un importante factor predictivo pronóstico y terapéutico. Algunos nevus y melanomas expresan estrógenos (227). [\*]
- k) *Anticuerpo monoclonal CD-34* (Clona QBEnd/10; Dako®): Revela el antígeno CD-34 (glucoproteína de

membrana) y es de gran utilidad en la caracterización de las leucemias y en la identificación de tumores vasculares. Excepcionalmente se manifiesta en melanomas (185).

- I) Para la detección de la sobreexpresión de la *oncoproteína HER-2/neu* se utiliza un anticuerpo policlonal (Dako®), que reconoce un epítipo de la porción intracitoplasmática de la membrana celular de la proteína. La sobreexpresión de HER-2/neu se ha asociado con mal pronóstico en cáncer de mama, así como en otros tipos de cánceres, aunque en melanomas los resultados son controvertidos (228).

***[\*] Anticuerpos testados también en NMOs***

Para estos exámenes, se realizaron cortes consecutivos, de 4-5 micras, en portas sialinizados capilares, con 75 micras de espacio (*IHC microscope slides flex*), especiales para su uso en el equipo de inmunotinción automatizada *Dako Autostainer Plus*®. Cada una de las preparaciones fue sometida al protocolo de tinción inmunohistoquímica que se describe, empleando para la visualización de la reacción antígeno-anticuerpo el sistema de detección *Envision-peroxidasa /DAB* (ratón-conejo) (Codigo K5007 Dako®).

La inmunorreactividad de las células proliferantes se valoró porcentualmente en 10-15 CGA ( $\approx$  1-1.5 mm).

Método de tinción inmunohistoquímica

- 1) Desparafinar con xilol e hidratación en alcoholes decrecientes hasta agua destilada.
- 2) Recuperación antigénica en sistema cerrado de desenmascaramiento PT Link. El tipo de antígeno de desenmascaramiento ("retrieval") empleado (ph 9) depende de la estandarización del Ac.
- 3) Lavado con TBS 2 min.
- 4) Colocación de los portas, con sus controles correspondientes, en el equipo *Dako Autostainer Plus®*, para proceder de manera programada el proceso de tinción inmunohistoquímica, que a continuación se detalla:

*Protocolo automatizado de inmunotinción Dako Autostainer*

Paso programado	Tiempo (minutos)
<i>Lavado buffer (TBS)</i>	<i>2.00</i>
<i>Bloqueante peroxidasa (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)</i>	<i>5.00</i>
<i>AC primario (dependiendo de cada Ac.)</i>	<i>20-30.00</i>
<i>Lavado en TBS</i>	<i>2.00</i>
<i>Kit visualización. Polímero (Ac. 2º y peroxidasa)</i>	<i>20.00</i>
<i>TBS</i>	<i>2.00</i>
<i>Cromógeno (DAB)</i>	<i>10.00</i>
<i>TBS</i>	<i>2.00</i>
<i>Hematoxilina acuosa</i>	<i>5.00</i>
<i>TBS</i>	<i>2.00</i>
<i>Lavado H<sub>2</sub>O destilada</i>	<i>----</i>

5) *Deshidratación en alcoholes crecientes, xilol y montaje (DPX).*

## **5. MÉTODO ESTADÍSTICO**

El análisis estadístico utilizado ha sido de tipo descriptivo simple, mediante determinación de porcentajes y medidas de tendencia central.

## **6. PUNTUALIZACIONES ÉTICAS**

La doctoranda hace una declaración de las siguientes normas y responsabilidades éticas en la realización del presente trabajo:

- No tener conflicto alguno de intereses.
- No haber realizado experimentos con seres humanos o animales.
- No reflejar datos de los pacientes incluidos en este estudio, que pudieran vulnerar su privacidad o anonimato.

## **IV. RESULTADOS**

## **1. ASPECTOS GENERALES**

Durante el periodo comprendido desde el uno de enero de 1999 al treinta y uno de diciembre de 2010 se han recolectado 13 casos de Tumores Melanocíticos Orales (TMOs) que han significado el 0.23% de la biopsias orales y el 0.0039% del total de biopsias.

Los TMOs se han distribuido por diagnóstico AP, resultando numérica y porcentualmente como sigue:

**-Nevos Melanocíticos: 10 casos [76.92 %]** (7 NMOs + 3 NAOs)

**-Melanomas: 3 casos [23.07 %]**

**Nº Total casos: 13** (13 Pacientes)

En los 2 grupos en que se han dividido las lesiones, se han examinado los siguientes datos: género y edad, localización de la lesión, tamaño máximo de la misma (en mm o cm), diagnóstico clínico, procedimiento quirúrgico realizado (biopsia escisional o incisional) y servicio/unidad petionario/a del estudio AP, de la forma en que se esquematiza en las siguientes tablas, una vez agrupadas las lesiones en razón del diagnóstico AP.

## **2. DATOS CLÍNICOS POR TIPOS DE TUMORES**

### **2.1. Nevo Melanocítico**

En la siguiente Tabla se relacionan los datos clínicos más significativos de los NMOs, junto con el Servicio/Unidad petionario del estudio AP

**Tabla 8. NMOs: Características clínicas**

Caso	Edad Sexo	Localización	Tamaño (mm)	Apariencia* Diagnóstico Clínico	Procedimiento Quirúrgico	S/U Solicitante
1	18/M	Paladar	2	P. L. pigmentada	Escisión	F. ODONT.
2	18/M	Encía	6	E. Fibroma	Escisión	CMF
3	39/H	Paladar	4	P. Tumoración	Incisión	F. ODONT
4	33/H	Muc oral	3	E. Nevus	Escisión	CMF
5	21/M	Paladar D	2	E. Nevus	Escisión	CMF
6	18/M	Paladar	10	E. Neo blanda	Escisión	F. ODONT
7	25/M	Paladar D	3	E. Nevus	Escisión	DERMA
8	47/M	Paladar	4	P. Mácula Melano	Escisión	CMF
9	50/H	Paladar	3	E. Nevus	Escisión	CMF
10	31/H	Muco. oral	7	E. Mácula Melano	Escisión	F. ODONT

\*P: Plana. E: Elevada

Los NMOs han representado el 0.18% de las biopsias orales y el 0.003% de la totalidad de biopsias. La edad media de los pacientes fue de 30 años (rango: 18 a 50 años), con una relación M:H: 1.5:1. Un nevo se localizó en la encía (10%), dos en la mucosa oral (20%) (**Fig. 2**), y siete casos (70%) se localizaron en el paladar (**Fig. 3**). El tamaño medio (en algunos casos obtenido microscópicamente) fue de 4.1 mm (rango: 2 a 10 mm). La presentación clínica cursó, indistintamente, en forma de pápulas o máculas, que se valoraron como lesiones elevadas o planas, respectivamente (**Fig. 2, Fig. 3**). En cuatro casos se realizó el diagnóstico clínico de NMO (40 %) y los seis casos restantes se interpretaron como MCM, 2 casos (20 %), lesión pigmentada, fibroma, tumoración y neoplasia blanda, respectivamente. El diagnóstico clínico -principal o secundario- de Melanoma no aparecía reseñado en ninguna de las informaciones clínicas.

En todos los casos, menos en uno (caso 3), el procedimiento terapéutico consistió en una biopsia escisional. Además, dos de las escisiones mostraron afectación de bordes quirúrgicos; sin embargo, al cabo de 8, 3 y 6 años, respectivamente, no existía constancia de que hubiesen recurrido ninguna de estas 3 lesiones.

El examen AP fue solicitado en 5 casos por CMF (50%); en 4 por la F. ODONT (40 %) y en uno por DERMA (10 %).



**Fig. 2. Lesión ligeramente elevada, grisácea, cerca de comisura, histológicamente Nevo azul común (Caso 9)**



**Fig. 3. Lesión solitaria, macular y pigmentada, histológicamente Nevo melanocítico compuesto (caso 3)**

## 2.2. Melanoma

En el esquema siguiente (*Tabla 9*) se expresan los datos clínicos más importantes y el Servicio/unidad peticionario del estudio AP.

**Tabla 9. Características clínicas de los 3 casos de Melanoma oral**

CASO	EDAD SEXO	LOCALIZ.	TAMAÑO (cm)	DIAGNÓSTICO CLÍNICO	PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO	SUPERV. (meses)	ESTADO TNM*	S/U SOLI.
1	91/H	Encía I	3	Granuloma/ T. maligno	B incisional solo ●	15 MT	IVC	CMF
2	72/M	Paladar B	4.5	C. Escamoso	B incisional +Resección ◇ +QT	21 MT	IV	CMF
3	72/M	Paladar D	1.8	Gr. Piógeno	B incisional + Resección+RT ≠	61 LT	III	CMF

\* **AJCC TNM, 7ª ed. 2010 . RT: Radioterapia. QT: Quimioterapia MT: Muerte por tumor. LT: Vive sin tumor.**

● El paciente rehusó cualquier Tratamiento

◇ Metástasis en 3/12 ganglios regionales

≠ RT hipofraccionada de 36 Gy, en 9 fracciones de 4 Gy (tres por semana)

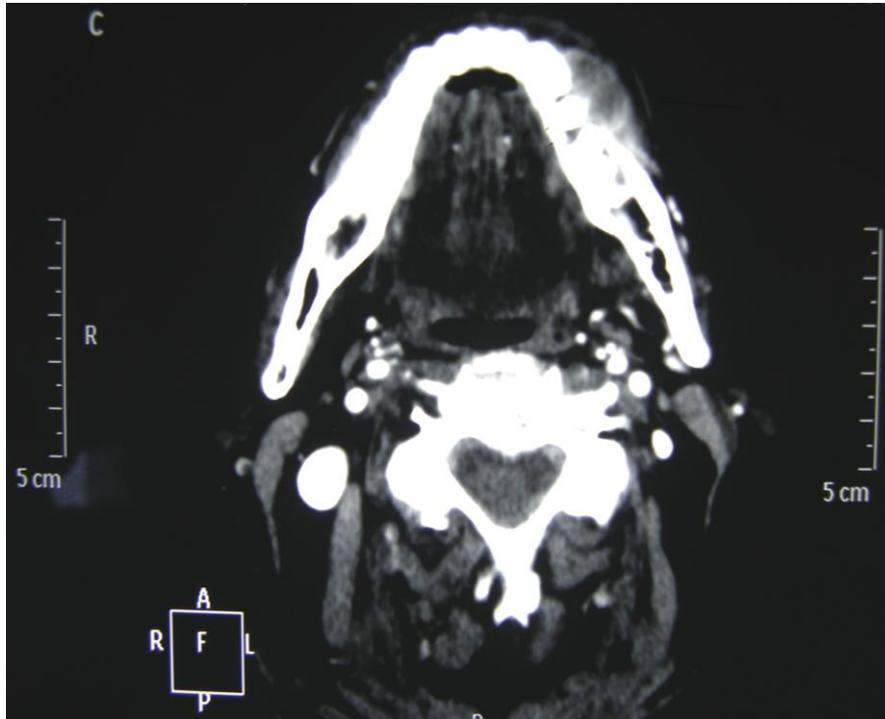
Los MMOs correspondieron al 23.07% de los TMOs, al 0.05% de las biopsias orales y al 0.0009% del total de biopsias.

En ninguno de los casos se realizó el diagnóstico clínico de melanoma. En los 3 casos el servicio peticionario de estudio AP fue CMF.

En las imágenes siguientes se muestran la apariencia clínica (**Fig. 4**) y los hallazgos del TAC (**Fig. 5**) del caso 1



***Fig. 4. Lesión hipertrófica, irregular, multilobular y rosada, en encía insertada (nivel 35-36), con desplazamiento mandibular. Melanoma (Caso 1)***



***Fig. 5 . Tumor de 3x1 cm en zona externa mandibular izquierda, con afectación de cortical ósea, además de 2 adenopatías de 4 y 5 mm en niveles IIA y IIB, del lado izq. Melanoma [TAC] (caso 1)***

### **3. ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO CONVENCIONAL**

#### **3.1. Nevo Melanocítico**

De forma resumida se refieren a continuación (**Tabla 10**) los subtipos histológicos de NMOs y otros datos anatomopatológicos.

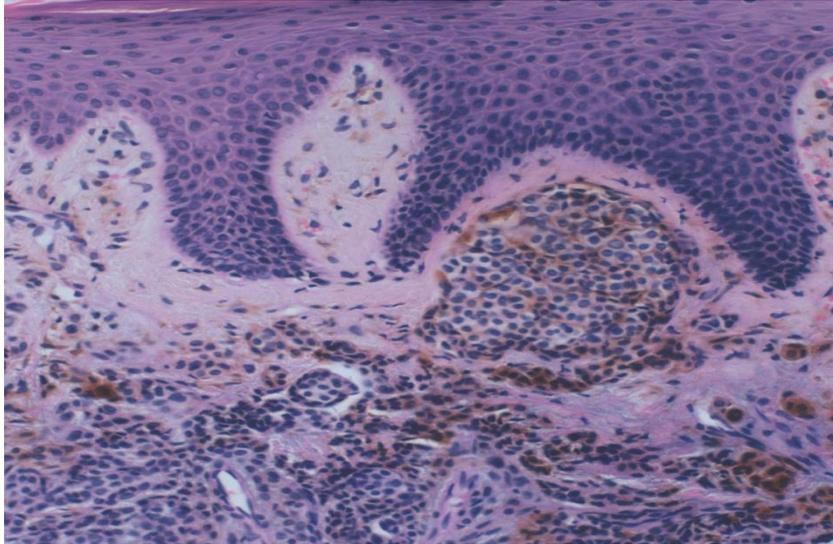
**Tabla 10. Subtipos histológicos de Nevos melanocíticos y otros datos microscópicos**

CASO	SUBTIPO HISTOL	TIPO CELULAR	PIGMENTO (1 a 3)	ÍNDICE MITOSIS (nº mit/10 CGA)
1	NM Juntural	Ovoid/Fusif	2	1
2	NM Compuesto	Ovoide	2	-
3	NM Compuesto	Ovoide	2	-
4	NM Subepitelial	Ovoide	2	-
5	NM Subepitelial	Ovoide	3	-
6	NM Subepitelial	Ovoide	1	-
7	NM Subepitelial	Ovoide	3	-
8	NA Común	Fusiforme	3	-
9	NA Común	Fusiforme	3	-
10	NA Común	Fusiforme	3	-

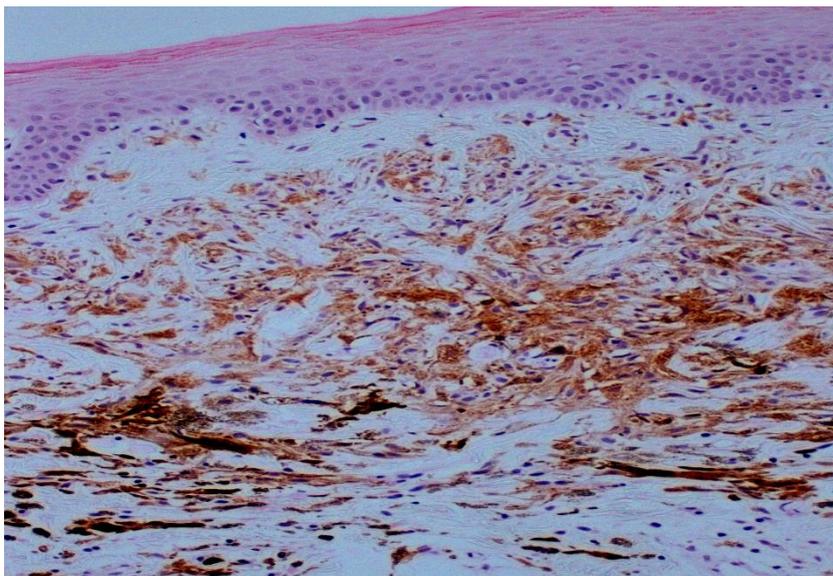
Los subtipos anatomopatológicos de los NMOs se distribuyeron así:

- Nevo melanocítico juntural: 1.
- Nevo melanocítico compuesto: 2.
- Nevo melanocítico subepitelial (**Fig. 6**): 4.
- Nevo Azul común (**Fig. 7**): 3.

Desglosados por subtipos histopatológicos el NM Juntural representó el 10%; el NM Compuesto el 20%; el NA el 30%; y el NM Subepitelial el 40%.



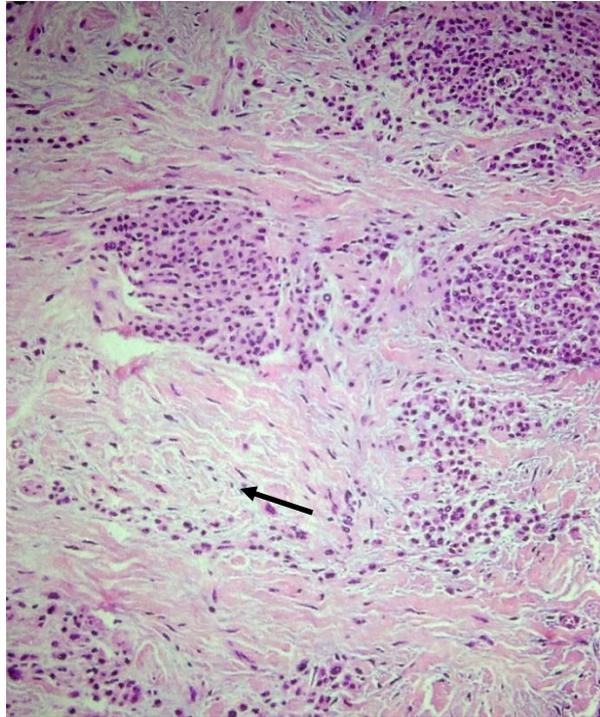
**Fig. 6. Cúmulos y regueros de melanocitos ovoides, de disposición subepitelial y con evidente pigmento melánico. Nevo Melanocítico Subepitelial. HE, 200X (caso 7)**



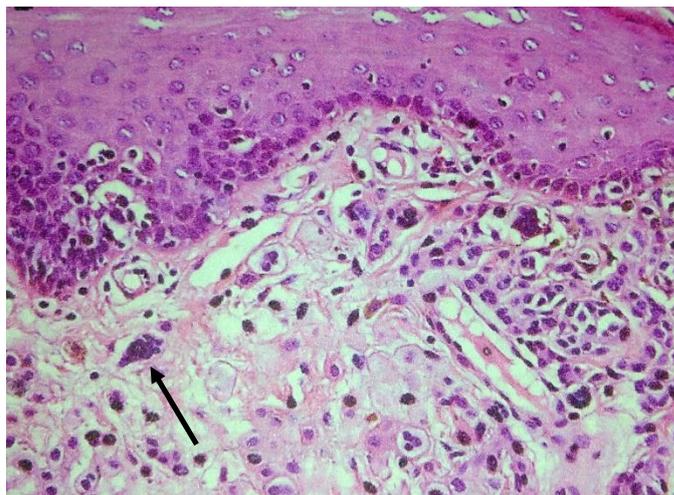
**Fig. 7. Proliferación típica, con patrón fascicular, de melanocitos elongados, fusiformes y dendríticos, con abundante melanina, situados subyacentemente al epitelio. Nevo Azul Común. HE, 200X (caso 8)**

En dos casos de NMs subepiteliales se identificaron signos histológicos muy raros: uno de ellos mostraba cambios mucinosos estromales que solapaban a grupos de melanocitos (**Fig. 8**); otro

exhibía numerosos vasos y algunos melanocitos de núcleo pleomórfico (**Fig. 9**).



**Fig. 8. Cambios mucinosos estromales (flecha) en un NM subepitelial. HE, 100x (caso 4)**



**Fig. 9. Abundantes vasos y presencia de melanocitos de núcleo pleomórfico (flecha). NM Subepitelial. HE, 200x (caso 7)**

### 3.2. Melanoma

En la siguiente tabla se relacionan los signos morfológicos más relevantes de los 3 casos de MMO.

**Tabla 11.- Signos histopatológicos de los 3 casos de Melanoma**

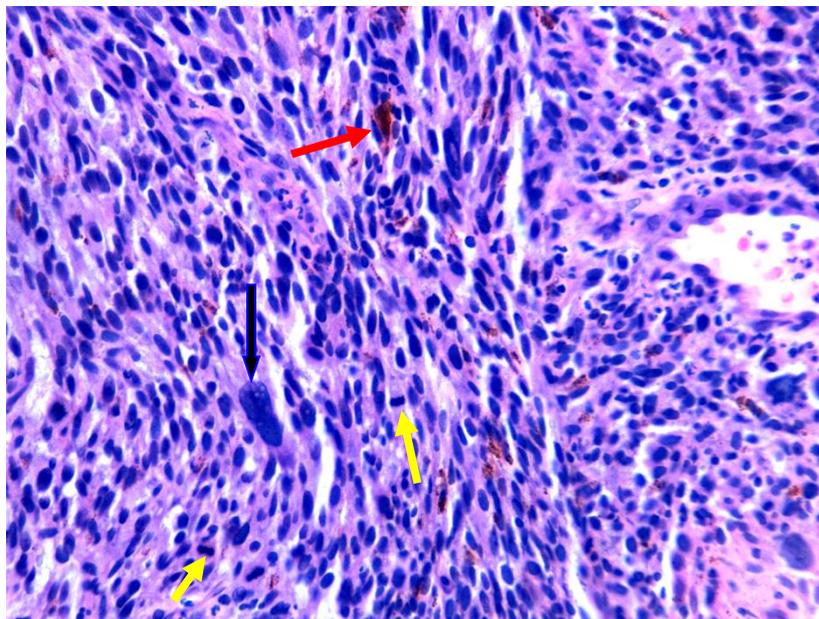
SIGNOS MICROSCÓPICOS	CASO 1	CASO 2	CASO 3
Tamaño máximo (cm)	3	4.5	1.8
Espesor invasión (cm)*	---	2.7	1.6
Celularidad predominante	Fusiforme	Fusif/Ovoi	Ovoi/Fusif
Grado de atipia (1 a 3)	3	3	2
Tasa mitosis (nºx10 CGA)	15	35	10
Grado pigmentación (1 a 3)	1	1	1
Ulceración	Sí	Sí	Sí
Necrosis	Sí	Sí	Sí
Afectación epitelio	Sí	Sí	Sí
Resp inflamatoria (1 a 3)	---	2	1
Invasión vascular / neural	Sí	Sí	Sí

*\*No evaluable. Tto. Biopsia incisional*

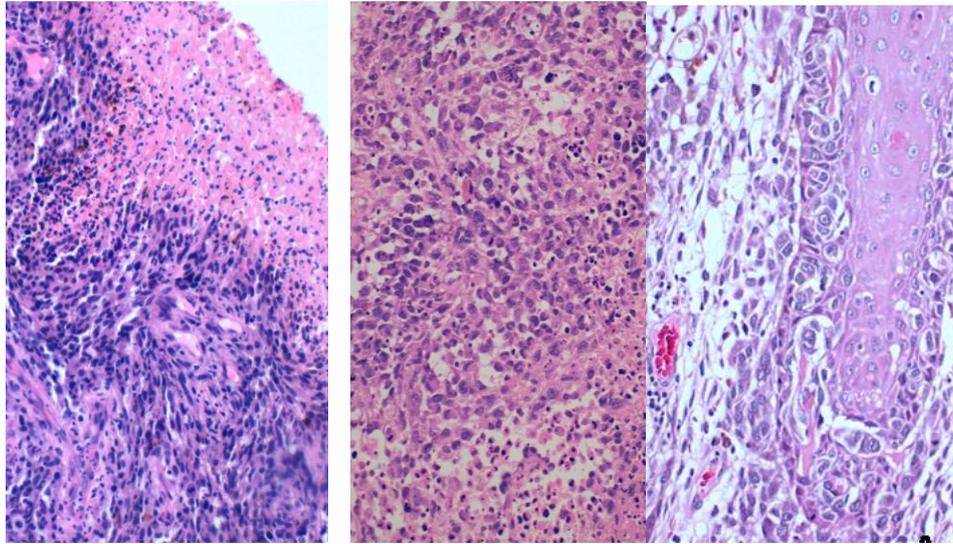
El tamaño máximo tumoral (en cm) se obtuvo en el caso 1 a partir de la información del TAC (**Fig. 5**) y en los dos casos restantes mediante los datos reflejados en el examen AP macroscópico.

La celularidad predominante, dispuesta en múltiples fascículos, era de hábito fusiforme, con marcada atipia y pleomorfismo nuclear, especialmente en los casos 1 y 2, y un alto índice de mitosis, además de focos melánicos en los tres casos (**Fig. 10**). En todos los casos se evidenciaron zonas de ulceración y de necrosis (**Fig. 11**), así como

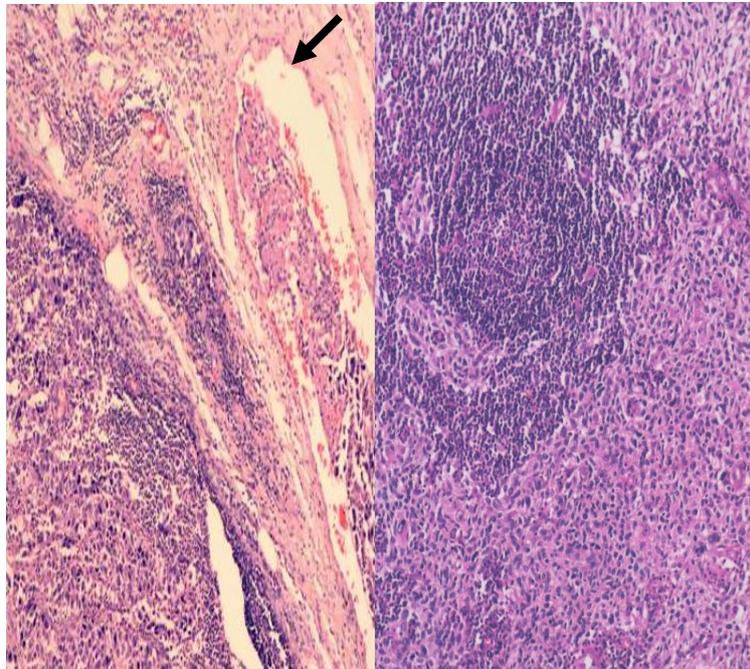
afectación del epitelio (**Fig. 11**). En los tres casos existían émbolos intravasculares de células neoplásicas (**Fig. 12**) y en el caso 2, el único que incluyó linfadenectomía regional, el estudio microscópico reveló metástasis en 3 de 12 ganglios linfáticos examinados (**Fig. 12**).



**Fig. 10. Proliferación fascicular de células fusiformes, atípicas y pleomórficas (flecha negra), con mitosis (amarillas) y clara presencia de melanina (roja). Melanoma. HE, 200x (caso 1)**



**Fig. 11. Zona de ulceración (izq.) y amplia área de necrosis (centro). Melanoma. HE, 100x (caso 1). A la dcha. extensa afectación del epitelio por células neoplásicas. Melanoma. HE 200x (caso 3).**



**Fig. 12. Invasión neoplásica vascular [flecha] (izq.) y metástasis ganglionar (dcha.). HE, 100x. Melanoma (caso 2)**

## 4. SIGNOS INMUNOHISTOQUÍMICOS Y BIOMOLECULARES

### 4.1. Nevo melanocítico

En la Tabla siguiente se suman los signos IMHQs de los NMOs

**Tabla 12.- NMOs: Signos inmunohistoquímicos\***

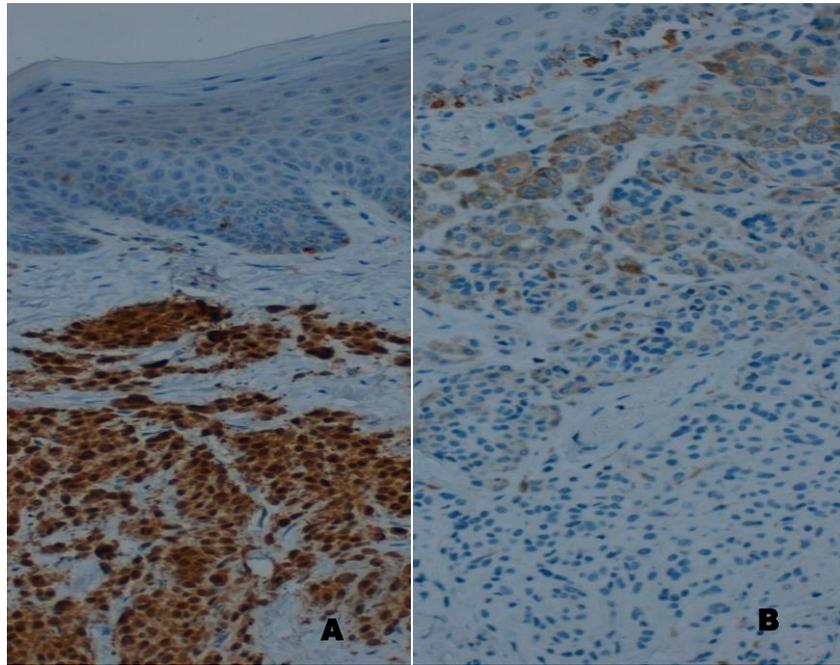
CASO	S-100	HMB-45	Ki-67	C-Kit	DAP
1	> 90	> 70	2	70	NM Juntural
2	> 90	> 30	1	25	NM Compuesto
3	> 90	> 30	3	50	NM Compuesto
4	> 90	10	<1	5	NM Subepitelial
5	> 90	> 25	<1	30	NM Subepitelial
6	> 90	10	<1	5	NM Subepitelial
7	> 90	> 70	3	20	NM Subepitelial
8	> 90	> 80	3	10	N Azul común
9	> 90	> 80	1	10	N Azul común
10	> 90	> 80	0	5	N Azul común

**\*Positividad ACs expresada porcentualmente  
También se testaron CD 10 y Receptores de Estrógenos,  
negativos en todos los casos**

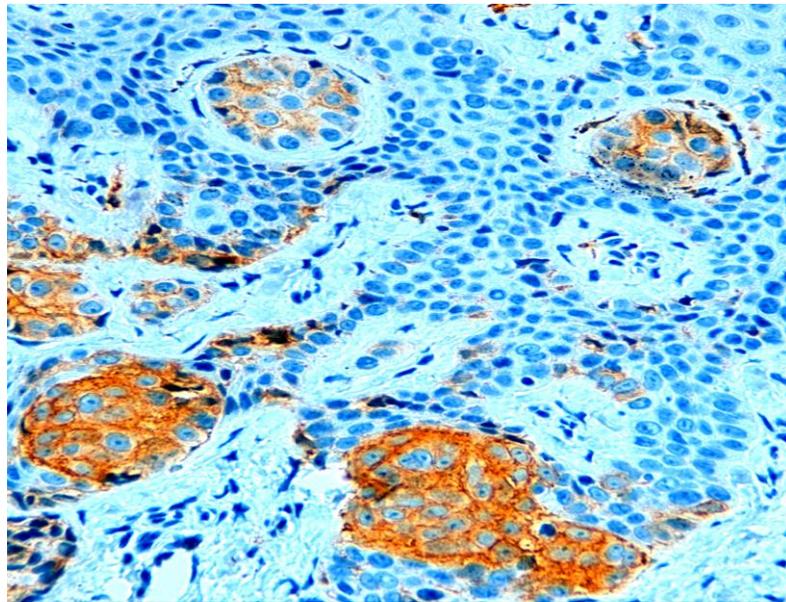
La inmunexpresión con el AC Proteína S-100 fue intensa y difusa (>90 %) en todos los casos (**Fig. 13A**) y la inmunotinción con el AC HMB-45 (**Fig. 13B**) estaba presente en todos los casos de forma variable, desde el 10% a >80% de la celularidad, disminuyendo progresivamente en profundidad y siendo significativamente mayor en el NM Juntural y en los NAs.

En la totalidad de los casos existía inmunorreactividad con el AC CD 117 (c-kit), mostrando una gran variabilidad, desde el 5% en un NM Subepitelial al 70 % en el NM Juntural (**Fig. 14**).

La expresión IMHQ del AC Ki-67 fue  $\leq$  3% y negativa para Receptores de Estrógenos alfa en todos los casos testados.



**Fig. 13 . A) AC PS-100. B) AC HMB-45. IMP, 200x. Nevo melanocítico subepitelial (caso 5)**



**Fig. 14. AC c-Kit. IMP, 400x. Nevo melanocítico juntural (caso 1)**

## 4.2. Melanoma

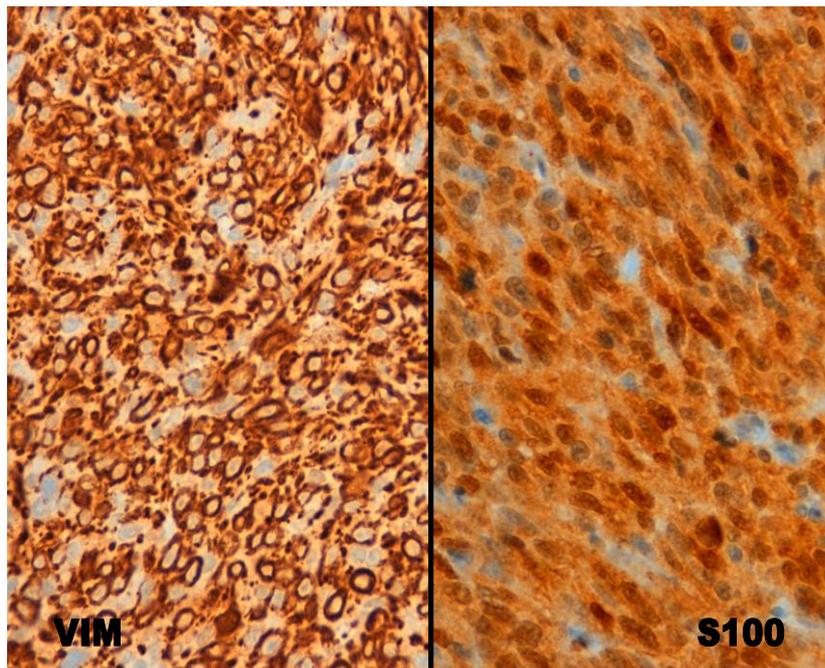
En la siguiente Tabla se relacionan los datos IMHQs de los MM

**Tabla 13 . Melanomas: Signos inmunohistoquímicos**

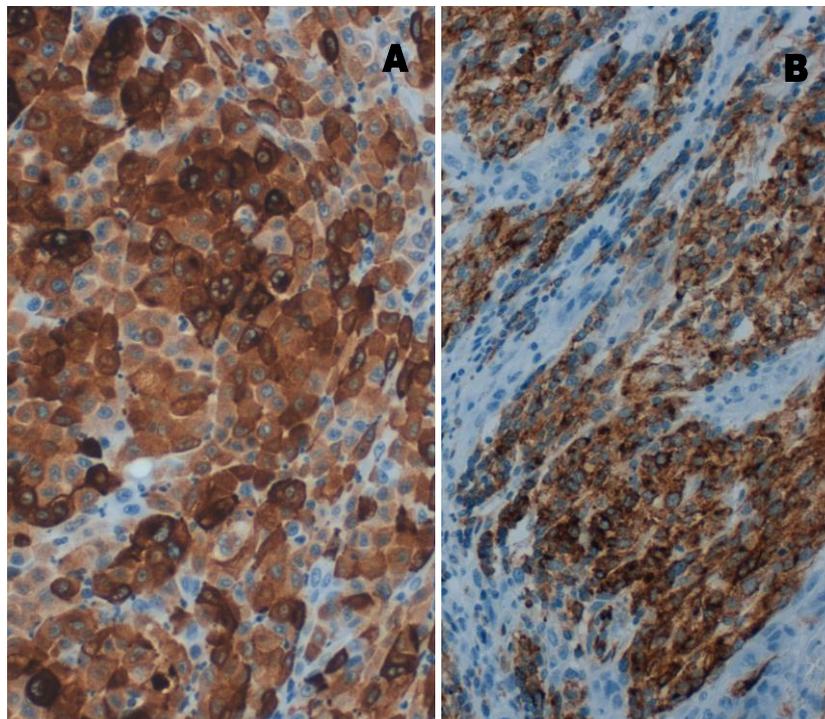
MARCADORES IMHQs (%) «»	CASO 1	CASO 2	CASO 3
VIM	100	100	100
PS - 100	>95	>85	>90
HMB - 45	>80	>85	45
Melan A	25	>70	45
P 53	>5	>7	10
KI - 67	30	>20	20
bcl - 2	>60	>85	>60
CD - 10	>30	25	30
C - Kit	50	25	15

«» *Otros ACs testados, como Receptores de Estrógenos alfa, CD 34 y c-erbB-2, resultaron negativos en todos los casos*

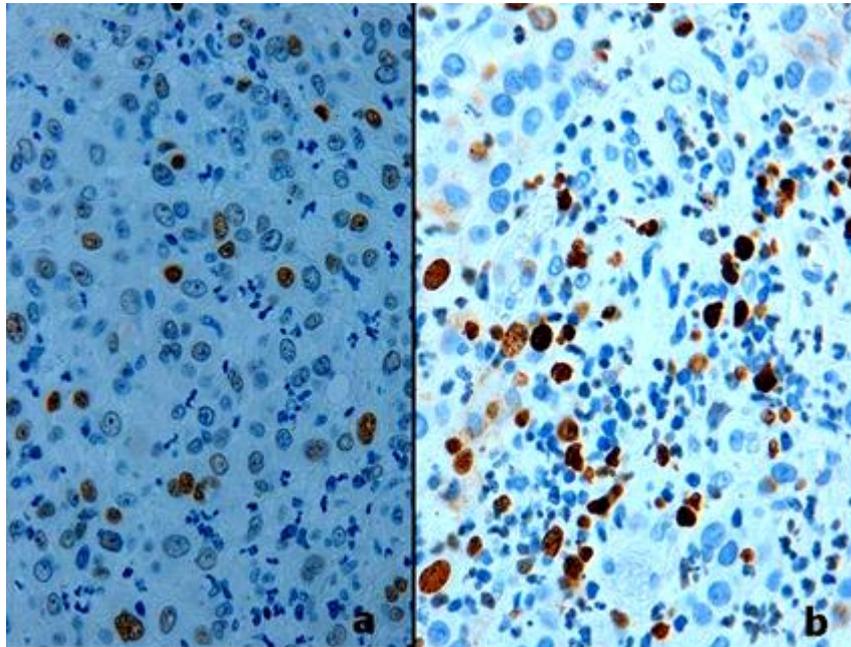
El perfil IMHQ ofrecido por los 3 casos mostró similares signos, si bien con lógicas variaciones porcentuales. El AC Vimentina, utilizado como control interno, fue marcadamente positivo en el 100% de la celularidad (**Fig. 15**) y la inmunorreactividad de la S-100 varió del 85 al 95% (**Fig. 15**). La expresión de la HMB-45 fue del 45 al 85%, siendo más baja la de la Melan-A (**Fig. 16**). La p53 exhibió una baja positividad (5-10%) y el índice de proliferación celular (Ki-67) fluctuó del 20 al 30% (**Fig. 17**). La expresión de la bcl-2 varió de > 60% a > 85% (**Fig. 18A**) y la del c-kit del 15 al 50% (**Fig. 18B**). EL CD 10 fue positivo en los 3 tumores (25% a >30%) y en un ganglio metastásico (**Fig. 19**), negativo, sin embargo, para el c-kit.



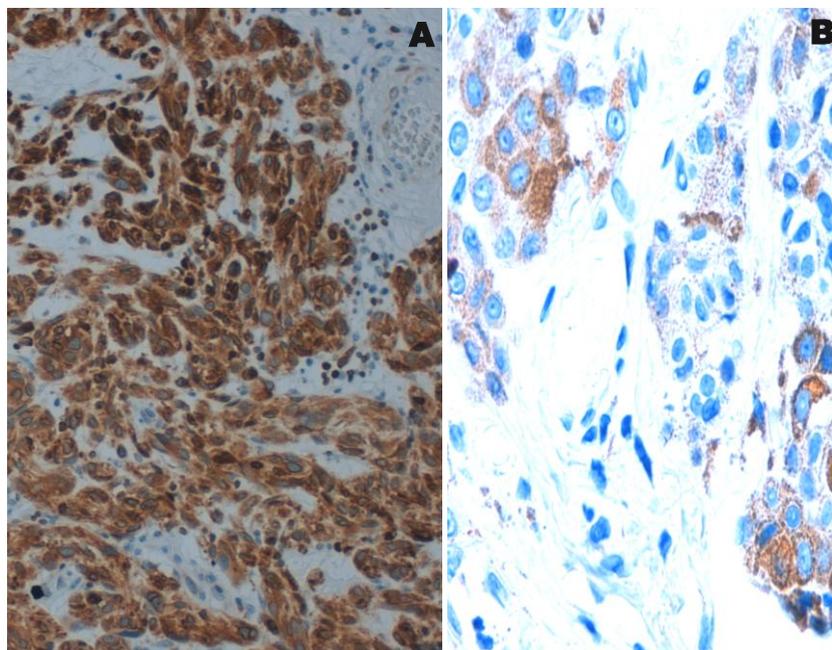
**Fig. 15. ACs Vimentina y PS-100. IMP, 400 x Melanoma (caso 1)**



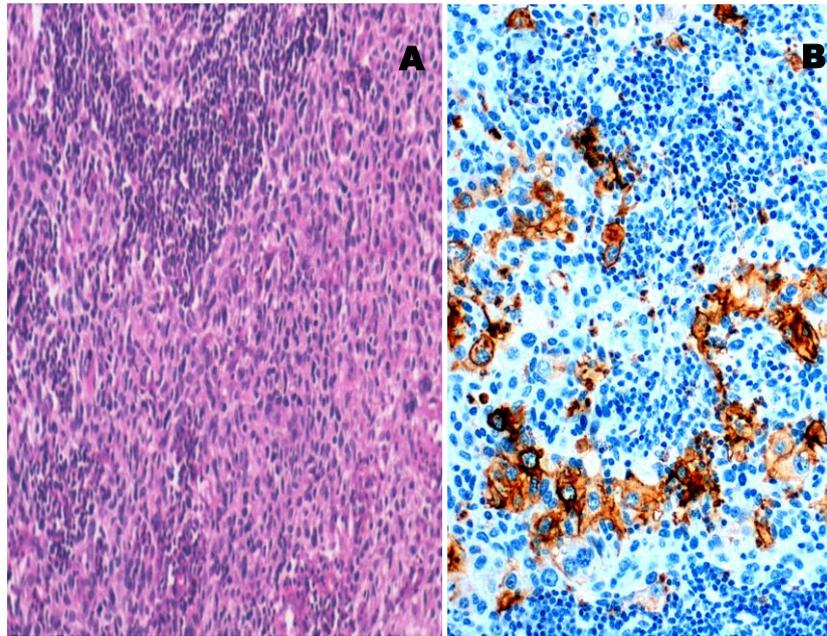
**Fig. 16. A) AC HMB-45. 400x. B) AC Melan A. 200x. IMP. Melanoma (caso 2)**



**Fig. 17. a) AC p53. 400x. b) AC Ki-67. IMP, 400x. Melanoma (caso 3)**



**Fig. 18. A) AC bcl-2. 200X. B) AC c-Kit. IMP, 400x. Melanoma (caso 2)**



**Fig. 19. Metástasis de Melanoma en Ganglio Linfático regional A) HE, 100x. B) AC CD 10. IMP, 200X (caso 2)**

Es preciso hacer constar que en ninguno de los casos del presente estudio se realizó ***microscopía de epiluminiscencia***.

## **V. DISCUSIÓN**

## **1. CRÍTICA CONCEPTUAL Y CONSIDERACIONES GENERALES**

La literatura ofrece amplias series y revisiones sobre lesiones pigmentadas melanocíticas, no tumorales y neoplásicas (benignas y malignas), localizadas en la CO. Sin embargo, en una parte importante de estas publicaciones se constatan criterios conceptuales muy distintos; no se encuentran, salvo excepciones (39), protocolos o criterios de homogeneización que satisfagan las expectativas del profesional y, más importante aún, del paciente, o que coadyuven a la gestión de un diagnóstico que garantice un planteamiento terapéutico que facilite al odontoestomatólogo general el manejo del paciente.

La inclusión de algunas entidades en grupos nosológicos diferentes, como sucede con la MCM y el MAT, no es un hecho infrecuente en la literatura revisada. Así, en el manual de tumores cutáneos de la OMS (Patología y Genética), se incluyen la MCM y el lentigo simple, en el grupo de neoplasias melanocíticas (64), encuadrando el MAT en los tumores derivados de los queratinocitos, al igual que Paterson y Wick (68). Asimismo, Eisen (37) recoge la MCM como neoplasia, junto a los nevos y los melanomas, deslindando el MAT, al que considera un proceso reactivo, consecutivo a factores externos. Por el contrario, Gaeta et al (41) incluyen la MCM en el grupo de pigmentaciones fisiológicas, conjuntamente con las efélides, y agrupan al MAT con nevos y melanomas.

Algunos autores postulan que la MCM es una entidad clinicopatológica bien definida (37, 65, 66), caracterizada clínicamente por una lesión macular, discretamente pigmentada, y microscópicamente por una hiperpigmentación de la capa basal y/o lámina propia (63), sin aumento de los melanocitos basales (66), si bien en la serie de Buchner y Hansen (63) el 4.7% de las MCMs mostraban un discreto aumento de los melanocitos en la capa basal, reservando el término de “melanosis basilar” para aquellos casos sin evidencia de lesión clínica pigmentada. Contrariamente, Sexton y Maize (70) analizan 15 casos de MCM de la mucosa labial –que llaman alternativamente *lentigo labial*–, y demuestran, aplicando una técnica micrométrica, un neto incremento de los melanocitos basales, estadísticamente muy significativo. Asimismo, LeBoit (64) y Massi y LeBoit (71) señalan en la MCM la existencia de un habitual aumento de los melanocitos basales que se manifiesta claramente con técnicas HQs o IMHQs que realzan la visión de los melanocitos. A partir de estos últimos posicionamientos no es factible deslindar la MCM del lentigo

Sería interesante realizar en la MCM determinaciones de mutaciones genéticas, habitualmente presentes en TMOs, tanto malignos como benignos, como BRAF, GNAQ y c-kit (76, 77, 131) con el fin de delinear de una manera más precisa esta entidad, objeto de criterios conceptuales y anatomopatológicos contrapuestos en la literatura (37, 41, 59, 63-65).

En definitiva, existe un obvio confusiónismo y heterogeneidad en la clasificación y/o adscripción a distintos grupos nosológicos de algunas de las lesiones pigmentadas solitarias melanocíticas de la CO.

En una reciente revisión y puesta al día de las lesiones pigmentadas de la CO (67), la MCM y el MAT se incluyen como lesiones reactivas melanocíticas y los NMOs y MMOs conforman, de manera exclusiva, el grupo de Tumores. Esta clasificación, racional y clara, es la que se ha adoptado en el presente trabajo.

## **2. ASPECTOS CLINICO-PATOLÓGICOS, INCLUYENDO ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO Y BIOMOLECULAR**

No se constata en la literatura revisada la existencia en nuestro país de trabajos similares sobre TMOs.

### **2.1. Nevos Melanocíticos**

Los nevos melanocíticos de la piel son muy comunes como se comprobó en la población blanca de Glasgow, de ambos géneros, que en la tercera década de la vida alcanzaba un número medio de 27,5 nevos cutáneos (229). Por el contrario, los NMOs son raros. En una revisión de la literatura del año 2004, Buchner et al (65) recogieron menos de 300 NMOs, a los que añadieron 91 casos nuevos. La mayoría de las publicaciones revisadas correspondían a casos aislados o a pequeñas series. Una búsqueda complementaria en *Medline* realizada por la doctoranda, desde el año 2003 a 2015, reveló la existencia de 382 casos adicionales, agrupados en 40

estudios, dos de los cuales aportaban 119 y 100 casos (78, 82), además de un estudio procedente de Shanghai que analizaba 29 casos (89) superando entre los tres el 34.36% de la totalidad de casos publicados en revistas en lengua inglesa en dicho periodo. En consecuencia, hasta el año 2015 el número total de NMOs publicados en la literatura inglesa es en torno a 682 casos.

En una investigación muy reciente, la rareza de los NMOs está corroborada claramente en una revisión de 10 años en la que se recolectan 146 tumores benignos de la CO, ninguno de ellos melanocítico (230).

Hay muy pocos trabajos sobre la incidencia y frecuencia relativa de los NMOs. La literatura solo contiene 3 estudios acerca de esta materia; sin embargo, son series muy amplias. En dos grandes revisiones los NMOs representaron el 0.10% (65) y el 0.15% (63) de las biopsias orales. En el presente trabajo los nevos orales significaron el 0.18% de las biopsias de la CO. Un estudio retrospectivo de 119 casos de NMOs recogidos durante 15 años del registro nacional de informes APs de Holanda, pone de manifiesto que la incidencia anual de los NMOs es de 4.35 casos/10 millones de habitantes/año (78).

La **Tabla 14** incluye las series más amplias de la literatura, que analizan un total de 440 casos (65, 78, 79, 82), que significan el 68.6% de la totalidad de los NMOs, cuyos datos más relevantes se comparan con los del presente estudio, en el que existe una

localización mayor de los nevos en el paladar y una proporción más alta del subtipo histológico de NA.

**Tabla 14.- Examen comparativo de la presente serie con las que agrupan el mayor número de casos de NMOs**

ESTUDIO	EDAD MEDIA	LOCALIZACIÓN		TIPOS HISTOPATOLÓGICOS			
		PALADAR	MUC ORAL	SUBEPIT	COMP	JUNT	AZUL
Buchner et al (65). 91 cas	30.5	40 (44%)	20 (22%)	82 (63%)	12 (9%)	7 (5%)	24 (19%)
Meleti et al » (78).119 cas	38	46 (38.6%)	42 (35.3%)	96 (80.6%)	7 (5.9%)	5 (4.2%)	10 (8.3%)
Buchner et al (79). 130 cas	32	52 (40%)	25 (19%)	82 (63%)	12 (9%)	7 (5%)	24 (19%)
Ferreira et al (82). 100 cas	36. 6	38 (38%)	18 (18%)	61 (61%)	7 (7%)	3* (3%)	25* (25%)
Presente estud. 10 cas	30	7 (70%)	2 (20%)	4 (40%)	2 (20%)	1 (10%)	3 (30%)

» 5 Casos localizados en Paladar Blando

\* 2 Nevos Displásicos no muy convincentes + 2 NAs celulares

La aparición clínica de los NMOs no es diagnóstica, por lo que la biopsia es realmente necesaria para excluir otras LSMs, tales como MCM, tatuaje por amalgama y especialmente melanoma precoz (65). Merece la pena mencionar por su rareza los datos anatomopatológicos identificados en dos de los NMs subepiteliales, consistentes en cambios mucinosos estromales y en la presencia de melanocitos de núcleos pleomórficos, respectivamente. Estos cambios han sido descritos en nevos melanocíticos cutáneos senescentes (231), pero no en nevos orales.

Los signos inmunohistoquímicos de los NMOs reflejan, usualmente como los cutáneos, un perfil característico usando pocos marcadores (175), tal como se demuestra en este análisis.

La proteína S-100, cuya sensibilidad es casi del 100%, exhibe una fuerte inmunorreactividad en las células derivadas de la cresta neural y por tanto de los melanocíticos normales y neoplásicos (benignos y malignos)

Es importante tener presente que en los NMs la reactividad de la HMB-45 disminuye en profundidad, en consonancia con la maduración de los melanocitos; la presencia de una HMB-45 de expresión irregular, multifocal y especialmente difusa, es un signo que hace considerar la posibilidad de una lesión maligna; por tanto, si la inmunotinción con HMB-45 no es la habitual, el uso de un marcador de proliferación celular, MIB1 (AC Ki-67), puede ser decisivo: en las lesiones benignas algunos nevos junturales y subepiteliales presentan positividad de los melanocitos en un porcentaje  $\leq 5\%$ ; valores  $> 10\%$  apoyan el diagnóstico de malignidad (175). En el presente estudio ninguno de los 10 NMOs mostró un Ki-67 superior a 3 (índice proliferativo medio: 1.6)

Los marcadores inmunohistoquímicos utilizados y los porcentajes de tinción que aparecen en la **Tabla 12** ofrecen un patrón inmunofenotípico benigno en todos los casos de NMOs.

La inmunotinción de receptores de estrógenos en las lesiones melanocíticas es un tema controvertido. Hay dos tipos de receptores

de estrógenos (alfa y beta). Los nevos melanocíticos y los melanomas son positivos para receptores beta y negativos para receptores alfa (227), en consonancia con los hallazgos observados en éste trabajo Durante muchos años se asumía que gran parte de los melanomas de la piel se originaban en nevos con un componente hiperplásico juntural; sin embargo, actualmente, este punto de vista está desechado (65).

La literatura no refleja referencias que documenten MMO desarrollado sobre nevo, excepto un solo caso de melanoma asociado a un NA, localizado en la mucosa del labio superior (170). No obstante, sí existen publicaciones que documentan la asociación de MMOs con diversos tipos de melanosis (139-141), hasta en más de un tercio de los casos (139).

En definitiva, a pesar de las coincidencias entre NMOs y MMOs, carecemos de pruebas evidentes que apoyen que los NMOs puedan ser precursores de los melanomas.

## **2.2. Melanoma**

Tras una complicada búsqueda bibliográfica se han logrado reunir 9 publicaciones de revistas españolas, algunas no editadas en la actualidad, que totalizan 19 casos de MMOs (114-122). Es preciso puntualizar, que en la publicación que estudia una serie de 7 casos de MMO (118), realizada por dos autores de distintas instituciones sanitarias, una de Barcelona y otra de Toulouse, no se especifican los casos correspondientes a cada uno de los centros hospitalarios, por lo

que no es posible determinar el número de casos de MMO procedentes de España, y, lo que es peor, en dos de los siete pacientes de esta serie no se hizo seguimiento y en los cinco restantes no es posible precisar el tiempo de supervivencia, ya que no se refleja fecha de primera consulta -y a veces ni de la última-, por lo que es inviable establecer periodos de tiempo (un desatino hisespano-francés). Solo se puede referir que en la literatura española se encuentran irregularmente documentados 19 casos de MMOs aportados por autores españoles, publicados en revistas editadas en español o en inglés. Por tanto, podemos señalar que nuestra serie recoge el mayor número de casos, junto con la publicada por Infante Cossío et al (120), que agrupa 3 pacientes con MMO procedentes de un solo hospital. Nuestra serie, además, es la única publicación española que significa el conjunto de población asistida incluida en el estudio, la frecuencia relativa de los TMOs, respecto a las biopsias orales y sobre la totalidad de las biopsias examinadas en sendos centros hospitalarios, durante un periodo de 12 años (1999-2010).

Es una circunstancia sorprendente que los tres casos de MMO incluidos en la serie de Infante Cossío et al (120) fueron recogidos durante un periodo muy corto (13 meses). En la bibliografía de este mismo estudio, con el número 5 de referencia, se incluye la cita *[García Perla A, Oliveras JM, Infante P. Melanoma amelánico. Rev Act Odonto-Estomat Esp 1996;56:73-5]* que al parecer, con distinto volumen y diferente número de páginas, también está listada en la

memoria científica del año 1996 del departamento de cirugía de la Universidad de Sevilla

No ha sido posible hallar este artículo a través de la BV-SSPA o de su proveedor, ni en bibliotecas nacionales universitarias o corporativas. Por tanto, al carecer de cualquier dato este caso no es incluíble en el listado de MMOs publicados en revistas españolas.

Llama poderosamente la atención que en una de estas publicaciones - la última- en la que se describen dos nuevos casos de MMO, se realiza, además, una revisión de la literatura, según hacen constar los autores (122), aunque con una ligereza inexplicable no refieren ninguno de los casos publicados previamente en nuestro país. Extraña y aberrante manera de agregar revisión de la literatura ("sine revisio") al título de un artículo.

En la **Tabla 15** se recogen los 12 casos evaluables publicados en revistas editadas en España, de pacientes estudiados en hospitales de nuestro país, además de los 3 casos del presente estudio, detallando los datos clinicopatológicos más significativos de estos 15 casos.

**Tabla 15. Melanoma oral: Evaluación de los casos publicados en revistas españolas (procedentes de hospitales de España), además de los 3 casos del presente estudio.**

PUBLICACIONES VALORABLES HASTA LA FECHA Y RELACIÓN DE CASOS

ESTUDIO	Nº CASOS	EDAD / SEXO	LOCALIZACIÓN	TRATAMIENTO	METÁSTASIS / RECIDIVA	SUPERV. meses
(114) Rev Esp Estomatol 1972	1	37/M	Paladar I	Excisión+RT+QT	G submax Recidiva (14 m)	21 m VcT
(115) Rev Iberoam Cir Oral Maxilofac 1980	1	60/M	Paladar I	Maxilect+RT	Gs cerv (2/16)	13 m LT
(116) Rev Esp Cir Oral Maxilofac 1988	2	58/M	Encía sup. D	Maxilect.	Múltiples Gs Metast Abdomen	56 m MT
		52/H	Paladar I y encía	Maxilect.	GS cerv Recid múltiples	28 m LT
(117) Av Odonto estomatol 1995	1	71/H	Encía inf D	---	Múltiples Gs Metast Cerebrales	< 1 m MT
(119) Med Oral 1998	1	67/H	Paladar Vx y Tab nasal	Maxilect	---	18 m LT
(120) Rev Esp Cir Oral Maxilofac 1999	3	74/H	Trígono D exten a Encía y Mucosa yugal	Excisión	Gs cer (8/13)	3 sem (Infarto Miocar)
		75/H	Encía sup D	Excisión	---	15 m LT
		66/H	Paladar D con exten a Encía	Excisión+QT	Recid (12 m)	12 m VcT
(121) Acta Otorri nolaringol Esp 2001	1	72/M	Paladar	Excisión	Recid (1 a) Metást Gs cerv (2) [3 a]	60 m LT
(122) Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2005	2	49/M	Paladar y Encía D (Bifocal)	Maxilect	Recid (7 m)	12 m LT
		56/H	Encía sup D	Excisión+QT+IM T	Gs cerv (3/17)	72 m LT
Presente estudio	3	91/H	Encía I	No Tto (rehusó)	Gs cerv (2) Metast Vértebras	15 m MT
		72/M	Paladar	Excisión+Linfad	Gs cerv (3/12)	21 m MT
		72/M	Paladar	Excisión+RT	---	61 m LT

**QT: Quimioterapia. RT: Radioterapia. IMT: Inmunoterapia**  
**LT: Libre de tumor. MT: Muerto por tumor. VcT: Vive con tumor**

La valoración agrupada de éstos 15 casos refleja los siguientes resultados:

- Edad Media: 64.8 años (rango:37-91 años)
- Relación H:M; 1.08

- Localización:
- Paladar: 9 (60%) [5 solo paladar; 3 paladar y encía – 1 bifocal-  
; 1 paladar y tabique nasal]
- Encía: 9 (60%) [5 solo encía; 2 encía y paladar -1 bifocal -  
encía; 1 trígono y mucosa yugal]
- Metástasis:
  - . Ganglios regionales: 10 (71.42%)
  - . A distancia: 3 (20%)
- Recidiva: 5 (33,33%)
- Tratamiento:
  - . Sin tratamiento: 2 (13.33%). En uno de los pacientes el mal estado general y el fallecimiento antes de 1 mes impidió cualquier terapéutica. El otro paciente, que sobrevivió 15 meses, rehusó en dos ocasiones ser sometido a cualquier tipo de tratamiento.
  - . RT y/o QT: 5 (33.33%)
  - . Maxilectomía: 5 (33%) [1 asociada a RT adyuvante]
  - . Excisión: 8 (53.33%) [1 con linfadenectomía; 1 con QT; 1 con QT+IMT; 1 con RT + QT; 1 con RT].
- Supervivencia (para el cómputo general se excluye el paciente fallecido a las 3 semanas por un infarto de miocardio)
  - . =/> 1 año: 12 (85.7%)
  - . =/>5 años: 3 (21.42%)

Practicamente la totalidad de los datos anteriores están en consonancia con los referidos en la literatura (35, 65, 106, 107, 123, 126, 137, 138, 146, 161, 193), salvo una mayor afectación en mujeres en los 15 casos relacionados.

Comentaremos algunos aspectos de los *signos inmunohistoquímicos* recogidos en la **Tabla 13**.

La proteína S 100, cuya sensibilidad es practicamente del 100% (175), mostró una marcada positividad, así como los ACs melanocíticos (HMB-45 y Melan-A), si bien en porcentaje menor.

Se ha demostrado la inmunoexpresión para bcl-2 es un predictor de buen pronóstico en los MMMs iniciales (177).

El índice de proliferación celular (AC Ki-67) fue del 20-30%. En los MMOs se ha observado una correlación significativa entre índice de Ki-67 y el desarrollo de metástasis ganglionares, metástasis a distancia y supervivencia de los pacientes (174).

En MMCs la inmunorreactividad para CD 10 se asocia a un crecimiento más rápido del tumor, y en las metástasis de melanomas la positividad para CD 10 es mayor que en los tumores primarios (178). Más recientemente se ha puesto de manifiesto que la expresión inmunohistoquímica de CD 10 en MMCs está significativamente correlacionada con el espesor tumoral, el nivel de Clark y la ulceración, y que cuando la expresión de CD 10 se somete a un análisis estadístico de multivariantes, emerge como un factor de predicción pronóstica significativo e independiente (179). En el

análisis IMHQ de los tres casos de melanoma se incluyó el AC CD-10 cuya inmunorreacción varió del 25 al 30%, también presente en un ganglio metastásico testado. Aunque no hemos hallado publicaciones al respecto, es muy probable que la relación entre CD-10 y MMOs sea similar a la de los MMCs.

El c-kit que reaccionó tanto en los NMOs (5-70%) como en los MMOs (15-50%), con una mayor expresión en la zona juntural de ambos tipos de tumores; sin embargo, la expresión de c-Kit es negativa en melanomas metastásicos. Por tanto, parece que el c-kit aporta escaso valor para diferenciar lesiones melanocíticas benignas de melanomas (182), aunque su utilidad como "diana terapéutica" está sobradamente demostrada (130, 131).

Finalmente, otros ACs testados resultaron -previsiblemente- negativos. La inmunoexpresión de receptores de estrógenos alfa (REalfa) en lesiones melanocíticas es un asunto controvertido. Aunque en la piel normal los complejos pilosebáceos expresan REalfa -AC utilizado- y REbeta, los NMs y MMs son positivos únicamente para REbeta (227). El AC c-erbB-2 también resultó negativo; se ha descrito inmunorreactividad ocasional, aunque carece de relevancia pronóstica (228).

### 3. TÉCNICAS DE APOYO DIAGNÓSTICO

#### 3.1. Datos Inmunohistoquímicos y Biomoleculares.

En algunas ocasiones los TMOs, benignos y malignos, pueden presentar serias dificultades histopatológicas que requieren la realización de técnicas complementarias como la IMHQ.

La aplicación de paneles IMHQs son de gran ayuda y facilitan el DAP, utilizando pocos ACs. Así en los NMs las determinaciones de proteína S 100, para corroborar el origen neuroectodérmico de la celularidad; de HMB-45 con tinción moderada y decreciente en profundidad y el Ki-67 que no debe sobrepasar un índice proliferativo nuclear del 5%. En MMs a la determinación de los ACs anteriores, se sumarán la determinación de CD-10 (factor pronóstico) y la de c-kit (“diana molecular”).

#### 3.2. Dermoscopia

La Dermoscopia (para la exploración de las mucosas debería utilizarse el término de **Mucoscopia**) consiste en la aplicación de la microscopia de epiluminiscencia en la superficie cutánea. Es una técnica de exploración no invasiva, habitual en dermatología, utilizada desde el inicio de la década de los 50, y actualmente con gran predicamento y aceptación para la observación y complemento diagnóstico de numerosas lesiones de la piel, especialmente las pigmentadas (69, 232, 233), en las que se obtiene una fiabilidad diagnóstica de un 70-95%, dependiendo de la experiencia del observador (234). Actualmente se dispone de un nuevo y sofisticado

instrumental con el que se logran grandes aumentos, permitiendo mapear, sobreponer, digitalizar y grabar las imágenes para identificar cronológicamente los cambios dinámicos que desarrollen las lesiones.

La microscopía de epiluminiscencia se puede emplear en Odontoestomatología para la exploración de la mucosa oral, aunque su resolución y efectividad son inferiores a las obtenidas en la piel, debido a que los instrumentos actuales no están adaptados para la cavidad bucal de manera óptima, por lo que la aplicación y efectividad de este medio auxiliar de exploración en la CO, se encuentra prácticamente restringido a los bordes rojos labiales, a una parte de la mucosa perilabial interna (41) y, si acaso, al tercio distal del dorso de la lengua.

Probablemente, los factores anteriores sean la causa del escasísimo empleo y reticente aceptación de esta técnica en Odontoestomatología exploratoria. Sin embargo, aunque no se consiga la efectividad que se obtiene en la piel, utilizada de forma adecuada puede ayudarnos, aunque en localizaciones restringidas, a visualizar en algunas lesiones una serie de características morfológicas, no percibibles a simple vista, que pueden facilitar el diagnóstico clínico (41).

Existen muy pocos estudios en la literatura sobre Dermoscopia/*Mucoscopia* en la CO. No obstante, se han detallado las observaciones en las melanosis mucosas del labio, consistentes en

una pigmentación homogénea, regularmente distribuida y gradualmente dispuesta en la periferia, sin emisión de pseudópodos, aunque los signos que se advierten en las lesiones melanocíticas de la piel, tales como estructuras radiales o globulares no se demuestran en las melanoses de la CO (69). Otros hallazgos dermoscópicos de la melanoses oral, consisten en la presencia de una pigmentación difusa con distribución peculiar, que incluye líneas paralelas con focos curvilíneos, marrones o grises (41).

Las aisladas publicaciones de dermatoscopia en nevos y melanomas de la CO señalan una pigmentación homogénea, circunscrita y simétrica, amplia y retiforme en los nevos, y una pigmentación difusa con un entramado irregular en los melanomas (69, 233).

Se requieren, pues, nuevos instrumentos que se adapten a la CO, mediante brazos articulados, fáciles de introducir en la boca, para conseguir una visión clara y amplia, por medio de sistemas de lentes de difracción con mayor amplificación e iluminación intensa y multidimensional.

El término de dermatoscopia es una denominación claramente inapropiada que debería sustituirse por el de *Mucoscopia*, en virtud de que se explora la mucosa oral y submucosa subyacente y no la epidermis y dermis subyacente.

Hay que referir que en ninguno de los casos del presente estudio se realizó microscopía de epiluminiscencia.

#### **4. TRATAMIENTO, SUPERVIVENCIA Y PREVENCIÓN**

El *tratamiento* de los nevos debe contemplar una biopsia escisional, con el propósito, al menos, de evitar recurrencias. Aunque en los NMOs el riesgo de malignidad es prácticamente irrelevante, algunos autores (37, 65, 78) han apuntado que la extirpación de todas las lesiones pigmentadas solitarias de la CO es una vía práctica y una solución recomendable, debido fundamentalmente a la dificultad para visualizarlas, al localizarse en la región posterior de la CO y fundamentalmente a la imposibilidad de diferenciarlas clínicamente, muy a menudo, de un melanoma precoz.

El *tratamiento* habitual –no protocolizado– de los MMOs continúa siendo la resección quirúrgica, con márgenes quirúrgicos libres y opcionalmente con disección profiláctica ganglionar (109), debido a su alta tendencia a desarrollar metástasis regionales, usualmente asociada a radioterapia adyuvante, que favorece el control loco-regional aunque no influye en la supervivencia, además de quimioterapia y bioquimioterapia en pacientes con enfermedad avanzada (35, 123, 126, 172).

Las perspectivas del tratamiento deben encaminarse, pues, a la sistematización de protocolos, que incluyan una actitud quirúrgica clara y reglada, hacia nuevas pautas radioterapéuticas con aceleradores lineales de última generación y a la potenciación de la investigación y aplicación de nuevos fármacos biomoleculares con “efecto diana”, con los que se están consiguiendo, en regímenes de

mono y poliquimioterapia o asociados a RT, resultados espectaculares en pacientes con melanomas en fase avanzada (208-213).

Se han aplicado otros tratamientos conservadores, con laser CO2 y legrado de la base tumoral y con OK432 -modulador de la respuesta biológica- con resultados espectaculares, pero al tratarse de casos aislados no tienen mucho valor, más allá de la anécdota.

El pronóstico desfavorable y la escasa supervivencia del MMO, se encuentran en relación con la localización de los tumores que no facilitan la visibilidad, condicionando que el diagnóstico se realice en fases tardías y un complicado abordaje terapéutico, así como la dificultad para efectuar una cirugía radical con márgenes suficientes por las estructuras anatómicas afectadas, junto con la avanzada edad de algunos pacientes (35, 126), y probablemente por la propia naturaleza del MMO que conlleve un comportamiento biológico más agresivo que el MMC (219).

Actualmente, no es fácil asumir que desde hace más de 40 años las tasas de supervivencia no hayan variado, permaneciendo en torno al 20% a los 5 años (137, 138),

La supervivencia tan baja del MMO con respecto al MMC, está indudablemente en relación con el crecimiento vertical de la neoplasia, con un estadio avanzado en el momento del diagnóstico y con la imposibilidad de realizar resecciones completas del tumor, que incluyan márgenes quirúrgicos libres (35).

En definitiva, aunque no está comprobado de forma categórica, parece obvio que el diagnóstico en fases iniciales es esencial para lograr un tratamiento quirúrgico exitoso en el MMO, que comprenda resección completa con márgenes quirúrgicos libres de tumor, como medio fundamental de mejorar el pronóstico de los pacientes con este tumor ([123](#)).

## **VI. CONCLUSIONES**

**1. El presente análisis clinicopatológico e inmunohistoquímico es el primero efectuado en España sobre tumores melanocíticos orales (TMOs), que abarca un periodo de 12 años, a partir del material y archivo procedentes de dos hospitales de la comunidad autónoma de Andalucía, cuya cobertura asistencial conjunta alcanza 823.614 habitantes (11%).**

**2. Las biopsias de la CO han comprendido 5.499 (1.67%) de un total de 328.037 biopsias realizadas. Los 13 casos de TMOs recolectados han representado el 0.23% de las biopsias orales y el 0.0039% de la totalidad de las biopsias y por tipos de tumor los Nevos Melanocíticos (10 casos) han significado el 76.92% y los Melanomas (3 casos) el 23.07%.**

**3. La edad media de los pacientes con NMO ha sido de 30 años (rango: 18-50 años), con una relación mujer-hombre de 1.5:1; y la del MMO de 78,33 años, con una relación mujer-hombre de 2:1. En el paladar se localizaron el 70% de los Nevos, con un tamaño medio de 4.4 mm, y el 66,66% de los Melanomas, con un tamaño medio de 3.1 cm. En ningún caso de los 13 TMOs se realizó el diagnóstico clínico preoperatorio de Melanoma.**

**En la literatura española existen 15 casos valorables de MMO (incluidos los 3 del presente estudio), agrupados en 9 publicaciones, cuyos datos clinicopatológicos guardan paralelismo con el resto de las publicaciones de la literatura.**

**4. La inmunoexpresión decreciente en profundidad de la HMB-45, junto con un índice proliferativo (Ki-67)  $\leq$  a 3 son características de los NMOs. El Ki-67 en los MMOs es mucho más**

alto,  $\geq 20$ . El CD-10 es un marcador de mal pronóstico comprobado en los MMCs, también presente en los 3 MMOs de este estudio y en la metástasis ganglionar de uno de ellos. El c-Kit (CD 117) es indistintamente inmunorreactivo en nevos y melanomas, por lo que carece de utilidad para discriminar lesiones benignas de malignas, aunque tiene un gran valor como "diana terapéutica".

5. La mejora de la escasa supervivencia de los pacientes con MMO está determinada por el establecimiento del diagnóstico en fase precoz, cuyas bases son, por una parte, una buena educación sanitaria de la población, unida a la atención y puesta al día de los profesionales de la Odontoestomatología, y, por otra, la actualización y perspectivas del tratamiento que deben encaminarse a la homogeneización de protocolos quirúrgicos, al diseño de nuevas pautas radioterapéuticas y a la aplicación e investigación de fármacos biomoleculares con "efecto diana", que ofrecen en la actualidad resultados espectaculares.

6. Es preciso en el ámbito odontoestomatológico la implantación de la *Mucoscopia*, mediante la adaptación de los actuales dermatoscopios para la exploración de la CO, y es recomendable, asimismo, la incorporación a la práctica diagnóstica de diagramas (algoritmos) de inducción diagnóstica, de fácil entendimiento y clara visión, que posibiliten la discriminación de las pigmentaciones de la CO.

## **VII. BIBLIOGRAFÍA**

1. Mills SE, Stelow EB, Hunt JL. Tumors of the Upper Aerodigestive Tract and Ear. En: Silverberg SG, DeLellis RA, Gardner WA, Sobin LH, editors. AFIP Atlas of tumor pathology. Serie 4. Silver Spring, Maryland: Arp Press; 2012. p. 6.
2. Williams P, editor. Gray's Anatomy. 38<sup>a</sup> ed.. New York: Churchill Livingstone; 1995.
3. Avery JK, Chiego DJ. Histología y embriología bucal. 3<sup>a</sup> ed. Madrid: Elsevier; 2007.
4. Geneser F. Histología sobre bases biomoleculares . 3<sup>a</sup> ed. Buenos Aires: Panamericana; 2000.
5. Winning TA, Townsend GC. Oral mucosal embryology and histology. Clin Dermatol. 2000;18:449-511.
6. Young B, Heath JW. Histología funcional. 4<sup>a</sup> ed. Madrid: Elsevier; 2007.
7. Schroeder HE. Oral structural biology. New York: Thieme Medical Publishers; 1991.
8. Bampton JLM, Shirlaw PJ, Yopley S, Weller P, Wilton JM. Human junctional epithelium: demonstration of a new marker, its growth in vitro and characterization by lectin reactivity and keratin expression. J Invest Dermatol. 1991;96:708-17.
9. Dale BA, Salonen J, Jones AH. New approaches and concepts in the study of differentiation of oral epithelia. Crit Rev Oral Biol Med. 1990;1:167-90.
10. Sawaf MH, Ouhayoun JP, Shabana AHM, Forest N. Cytokeratin expression in human tongue epithelium. Am J Anat. 1994;189:155-66.
11. Schroeder HE. Differentiation of the human oral stratified epithelia. Basel: Karger AG; 1981.
12. Hashimoto K, DiBella RJ, Shklar G. Electron microscopic studies of the normal human buccal mucosa. J Invest Dermatol. 1966;47:512-25.
13. Lesh CA, Squier A, Cruchley A, Williams DM, Speight T. The permeability of human oral mucosa and skin to water. J Dent Res. 1989;68:1345-9.
14. Barrett AW, Cruchley AT, Williams DM. Oral mucosal Langerhans cells. Crit Rev Oral Biol Med. 1996;7:36-58.
15. Shimizu J, Zou JP, Ikegame K, Katagiri T, Fujiwara H, Hamaoka T. Evidence for the functional binding of tumor rejection antigens to antigens-presenting cells in tumor bearing hosts. J Immunol. 1991;146:1708-14.
16. Romagnoli P. Dendritic cells in the skin and mucosa: what's new. J Europ Acad Dermatol Venereol. 2001;15:110-1.

17. Sarmiento L, Peña S. La célula de Langerhans. *Biomédica*. 2002;22:462-5.
18. Moll I, Kuhn C, Moll R. Cytokeratin 20 is a general marker of cutaneous Merkel cells while certain neuronal proteins are absent. *J Invest Dermatol*. 1995;104:910-5.
19. Becker J, Schuppan D, Hahn EG, Albert G, Reichart P. The immunohistochemical distribution of collagens type IV, V, VI and of laminin in the human oral mucosa. *Arch Oral Biol*. 1986;31:179-86.
20. Moll R, Moll I. Epidermal adhesion molecules and basement membrane components as target structures of autoimmunity. *Virchows Arch*. 1998;432:487-504.
21. Thomas CJ, Jones J, Speight PM. Integrins and oral cancer. *Oral Oncol*. 1997;33:381-8.
22. Bichenbach JR. Identification and behavior of label-retaining cells in oral mucosa and skin. *J Dent Res*. 1981;60:1611-20.
23. Mackenzie IC, Bichenbach JR. Label-retaining keratinocytes and Langerhans cells in mouse epithelia. *Cell Tissue Res*. 1985;252:551-6.
24. Potten CS. Kinetic organisation in squamous epithelium. En: Wright N, Camplejohn RS, editors. *Psoriasis: Cell proliferation*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1983. p. 149-62.
25. Hill MW. Cell renewal in oral epithelia. En: Meyer J, Squier CA, Gerson SJ, editors. *The structure and function of oral mucosa*. Oxford: Pergamon Press; 1984. p. 53-81.
26. Ettinger RL. Clinical manifestations of oral mucosal aging. En: Squier CA, Hill MW, editors. *The effects of aging in oral mucosa*. Boca Raton, FL: CRC Press; 1994: p. 15-23.
27. Williams DM, Cruchley AT. Structural aspects of aging in the oral mucosa. En: Squier CA, Hill MW, editors. *The effects of aging in oral mucosa*. Boca Raton, FL: CRC Press; 1994: p. 65-74.
28. García Carrillo DC, Giraldo Rueda CM, Muñoz Roncancio SI, Bustillo Rojas JA, Bernal Vélez CM. Diferencias histológicas de la mucosa oral en personas sanas entre 15 y 65 años de edad. *Univ Odontol*. 2001;21:58-64.
29. Squier CA, Wertz PW, Williams DM, Cruchley AT. Permeability of oral mucosa and skin with age. En: Squier CA, Hill MW, editors. *The effects of aging in oral mucosa*. Boca Raton FL: CRC Press; 1994: p. 15-23.
30. Becker SW. Melanin pigmentation. *Archs Dermatol Syphilo*. 1927;17:259-309.

31. Laidlaw JF, Cahn LR. Melanoblasts in the gum. *J Dent Res.* 1932;12:534-7.
32. Szabo G. The number of melanocytes in the human epidermis. *Br J Med.* 1954;1:1016-7.
33. Yanaki K, Haneji N, Ishimaru N, Hamano H, Hayashi Y. Immunopathological analysis of mucosal melanocyte distribution in the human lower lip of the elderly. *Pathobiology.* 1996;64:156-60.
34. Barrett AW, Scully C. Human oral mucosal melanocytes: a review. *J Oral Pathol Med.* 1994;23:97-103.
35. Hicks MJ, Flaitz CM. Oral mucosal melanoma: epidemiology and pathobiology. *Oral Oncol.* 2000;36:152-69.
36. Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP, editors. *Dermatology.* 2ª ed. London: Mosby; 2003.
37. Eisen D. Disorders of pigmentation in the oral cavity. *Clin Dermatol.* 2000;18:579-87.
38. Dummett CO. Pertinent considerations in oral pigmentations. *Br Dent J.* 1985;158:9-12.
39. Kauzman A, Pavone M, Blanas N, Bradley G. Pigmented lesions of the oral cavity: Review, differential diagnosis, and case presentations. *J Can Dent Assoc.* 2004;70:682-3g.
40. Anavi Y. Unusual physiologic melanin pigmentation of the tongue. *Pediatr Dermatol.* 1992;9:123-5.
41. Gaeta GM, Satriano RA, Baroni A. Oral pigmented lesions. *Clin Dermatology.* 2002;20:286-8.
42. Mirowski GW, Waibel JS. Pigmented lesion of the oral cavity. *Dermatol Therap.* 2002;15:218-28.
43. Bauer AJ, Stratakis CA. The lentiginoses cutaneous markers of systemic disease: a window to new aspects of tumorigenesis. *J Med Genet.* 2005;42:801-10.
44. Garibaldi L. Disorders of pubertal development. En: Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF, editors. *Nelson textbook of Pediatrics.* 18th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007. p. 563.
45. López Tintos BO, Ángeles Ángeles A, Gutiérrez Cirlos C, García Hidalgo L, Orozco Topete R. Complejo de Carney. Mixomas cutáneos y lentiginosis en una paciente con síndrome de Cushing. *Dermatol Rev Mex.* 2009;53:187-9.

46. Stratakis CA, Kirschner LS, Carney JA. Clinical and molecular features of the Carney complex: diagnostic criteria and recommendations for patient evaluation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:4041-6.
47. Scully C, Felix DH. Oral medicine. Update for the dental practitioner. *Brit Dent J.* 2005;199:639-45.
48. Lenane P, Powell FC. Oral pigmentation. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2000;14:448-65.
49. Dereure O. Drug-induced skin pigmentation. Epidemiology, diagnosis and treatment. *Am J Clin Dermatol.* 2001;2:253-62.
50. Kleinegger C, Hammond H, Finkelstei M. Oral mucosal pigmentation secondary to antimalarial drug therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2000;90:189-94.
51. Krutchik AN, Buzdar AU. Pigmentation of the tongue and mucous membranes associated with cancer chemotherapy. *South Med J.* 1979;72:1615-6.
52. Treister NS. Oral mucosal pigment secondary to minocycline therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;97:718-25.
53. Axell T, Hedin CA. Epidemiologic study of excessive oral melanin pigmentation with special reference to the influence of tobacco habits. *Scand J Dent Res.* 1982;90:434-42.
54. Hanioka T, Tanaka K, Ojima M, Yuuki K. Association of melanin pigmentation in the gingival of children with parents who smoke. *Pediatric.* 2005;116:186-90.
55. Hedin CA, Axell T. Oral melanin pigmentation in 467 Thai and Malaysian people with special emphasis on smoker's melanosis. *J Oral Pathol Med.* 1991;20:8-12.
56. Hedin CA, Pindborg JJ, Axell T. Disappearance of smoker's melanosis after reducing smoking. *J Oral Pathol Med.* 1993;22:228-30.
57. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Chi AC. Oral and maxillofacial pathology. 4th ed. St. Louis: Elsevier;2015:351-5.
58. Buchner A, Hansen LS. Amalgam pigmentation (amalgama tattoo) of the oral cavity. A clinicopathological study of 268 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1980;49:139-47.
59. Batsakis JG, Regezi JA, Soloman AR, Rice DH. The pathology of head and neck tumors; mucosal melanomas. *Head Neck Surg.* 1982;4:404-18.
60. Requena L, Cerroni L, Kutzner H. Histopathologic patterns associated with external agents. *Dermatol Clin.* 2012;30:731-48.

61. Alexander RE, Wright JM, Thiebaud S. Evaluating documenting and following up oral pathological conditions: a suggested protocol. *J Am Dent Assoc.* 2001;132:329-35.
62. King RC, McGuff HS. Biopsy: a life saving measure. *Tex Dent J.* 1996;113:13-8.
63. Buchner A, Hansen L. Melanotic macule of the oral mucosa: a clinicopathologic study of 105 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1979;48:244-9.
64. LeBoit PE, Burg G, Weedon D, Sarasain A, editors. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Skin Tumours. IARC Press: Lyon; 2006.
65. Buchner A, Merrell PW, Carpenter WM. Relative frequency of solitary melanocytic lesions of the oral mucosa. *J Oral Pathol Med.* 2004;33:550-7.
66. Kaugars GE, Heise AP, Riley WH, Abbey LM, Svirsky JA. Oral melanotic macules. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1993;76:59-61.
- 67 . Alawi F. Pigmented lesion of the oral cavity. *Dent Clin North Am.* 2013;57:699-710.
68. Paterson JW, Wick MR. Nonmelanocytic tumors of the skin. En: Silverberg SG, Sobin LH, editors. Atlas of tumor pathology. Serie 4. Washington, DC: AFIP; 2006. p. 22.
69. Olszewska M, Banka A, Gorska R, Warszawik O. Dermoscopy of pigmented oral lesions. *J Dermatol Case Rep.* 2008;3:43-8.
70. Sexton FM, Maize JC. Melanotic macules and melanoacanthomas of the lip. A comparative study with census of the basal melanocyte population. *Am J Dermatopathol.* 1987;9:438-44.
71. Massi G, LeBoit PE. Histological diagnosis of nevi and melanomas. 2<sup>a</sup> ed. Berlin: Springer-Verlag; 2014.
72. Fornatora ML, Reich RF, Sol H, Frederick S, Freedman P. Oral melanoacanthoma: A report of 10 cases, review of the literature, and immunohistochemical analysis for HMB-45 reactivity. *Am J Dermatopathol.* 2003;25:12-5.
73. Field HJ, Ackerman AA. Non-pigmented nevus on labial mucosa. *Am J Orthodontics Oral Surg.* 1943;29:180-1.
74. Comerford TE, Delapava S, Pickren JW. Nevus of the oral cavity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1964;17:148-51.
75. King OH Jr, Blankenship JP, King WA, Coleman SA. The frequency of pigmented nevi in the oral cavity. Report of five cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1967;23:82-90.

76. Takata M, Saida T. Genetic alterations in melanocytic tumors. *J Dermatol Sci.* 2006;43:1-10.
77. Cohen Y, Goldenberg-Cohen N, Akrish S, Shani T, Amariglio N, Dratviman-Storobinsky O, et al. BRAF and GNAQ mutations in melanocytic tumors of the oral cavity. Statement of clinical relevance. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2012;114:778-84.
78. Meleti M, Mooi WJ, Casparie MK, van der Waal I. Melanocytic nevi of the oral mucosa – No evidence of increased risk for oral malignant melanoma: An analysis of 119 cases. *Oral Oncol.* 2007;43:976-81.
79. Buchner A, Leider AS, Merrell PW, Carpenter WM. Melanocytic nevi of the oral mucosa: a clinicopathologic study of 130 cases from Northern California. *J Oral Pathol Med.* 1990;19:197-201.
80. Buchner A, Hansen LS. Pigmented nevi of the oral mucosa: a clinicopathologic study of 36 new cases and review of 155 cases from the literature. Part II: Analysis of 191 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1987;63:676–82.
81. Buchner A, Hansen LS. Pigmented nevi of the oral mucosa: a clinicopathologic study of 36 new cases and review of 155 cases from the literature. Part I: A clinicopathologic study of 36 new cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1987;63:566–72.
82. Ferreira L, Jham B, Assi R, Readinger A, Kessler HP. Oral melanocytic nevi: a clinicopathologic study of 100 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2015;120:358-67.
83. Biesbrock AR, Aguirre A. Multiple focal pigmented lesions in the maxillary tuberosity and hard palate: a unique display of intraoral junctional nevi. *J Periodontol.* 1992;63:718-21.
84. Ojha J, Akers JL, Akers JO, Hassaneim AM, Islam NM, Cohen DM, et al. Intraoral cellular blue nevus: report of a unique histopathologic entity and review of the literature. *Cutis.* 2007;80:189-92.
85. Pinto A, Raghavendra S, Lee R, DeRossi S, Alawi F. Epithelioid blue nevus of the oral mucosa: A rare histologic variant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;96:429-36.
86. Hanna A, Rawal SY, Anderson KM, Rawal YB. The epithelioid blue nevus: A rare intraoral nevocmelanocytic tumor. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2011;15:88-90.
- 87 . Barrer GR, Sloan P. An intraoral combined blue nevus. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1988;26:165-8.

88. Dyer PV, Eveson JV. Recurrent compound naevus of gingiva. *J Periodontol.* 1993;64:739-41.
89. Chen HH, Yu CH, Wang JT, Wang YP, Liu BY, Sun A, et al. Oral nevi – a clinicopathological study of 29 cases. *Chin Dent J.* 2005;24:50-8.
90. Ide F, Mishima K, Yamada H, Saito I, Tanaka A, Kusama K. Neurotized nevi of the oral mucosa: an immunohistochemical and ultrastructural analysis of nevic corpuscles. *J Oral Pathol Med.* 2007;36:505-10.
91. Damm DD, White DK, Lyu PF, Puno P. Balloon cell nevus of the oral mucosa. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;105:755-7.
92. Shetty SR, Subhas BG, Rao KA, Castellino R. Nevus of Ota with mucosal pigmentation: A rare case. *Dent Res J.* 2011;8:52-5.
93. Guledgud MV, Patil K, Srivathss SH, Malleshi SN. Report of a rare palatal expression of Nevus of Ota with amendment of Tanino`s classification. *Indian J Dent Res.* 2011;22:850-2.
94. Bhat RM, Pinto HP, Dandekeri S, Ambil SM. Acquired bilateral nevus of ota-like macules with 94mucosal involvement: A new variant of Hori`s nevus. *Indian J Dermatol.* 2014;59:293-6.
95. Porrini R, Valente G, Colombo E, Cannas M, Sabbatini M. Non pigmented melanocytic nevus of the oral cavity: a case report with emphasis on the surgical excision procedures. *Minerva Stomatol.* 2013;62:43-9.
96. Shumway BS, Rawal YB, Allen CM, Kalmar JR, Magro CM. Oral atypical cellular blue nevus: An infiltrative melanocytic proliferation. *Head Neck Pathol.* 2013;7:171-7.
97. Li CC, Harrist TJ, Noonan VL, Woo SB. Intraoral Spitz nevus: case report and literature review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2014;117:e320-24.
98. Damm DD, Fowler CB, Schmidt DP. Desmoplastic melanocytic nevus of oral mucosa. *Head Neck Pathol.* 2016;10:384-8.
99. Marangon Jr H, Souza PE, Soares RV, Benevenuto de Andrade BA, Paes de Almeida O, Horta MC. Oral Congenital Melanocytic Nevus: A rare case report and review of the literature. *Head Neck Pathol.* 2015;9:481-7.
100. Torres KG, Karle L, Royer M. Nevus Spilus (Speckled Lentiginous nevus) in the oral cavity. Report of a case and review of the literature. *Am J Dermatopathol.* 2017;39:e8-e12.
101. Patrick RJ, Fenske NA, Messina JL. Primary mucosal melanoma. *J Am Acad Dermatol.* 2007;56:828-34.

102. Chang AE, Carnell LH, Menck HR. The National Cancer Database Report of cutaneous and noncutaneous melanoma: a summary of 84.836 cases from the past decade. The American college of surgeons commission on cancer and the American cancer society. *Cancer*. 1998;83:1664-78.
103. Sortino-Rachou AM, Cancela MC, Voti L, Curado MP. Primary oral melanoma: population-based incidence. *Oral Oncol*. 2009;45:254-8.
104. Ostman J, Anneroth G, Gustafsson H, Tavelin B. Malignant oral tumours in Sweden 1960-1989 –an epidemiological study. *Oral Oncol Eur J Cancer*. 1995;31B:106-12.
105. Ross MI, Stern SJ. Mucosal melanoma. En: Blach CM, Houghton AN, Milton GW, Sober AJ, Soong SJ, editors. *Cutaneous melanoma*. 3th ed. Philadelphia: JB Lippincott; 1998. p. 195-206.
106. Barker BF, Carpenter WM, Daniels TE, Kahn MA, Leider AS, Lozada-Nur F, et al. Oral mucosal melanomas. The WESTOP Banff workshop proceeding. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1997;83:672-9.
107. Eisen D, Voorhees JJ. Oral melanoma and other pigmented lesions of the oral cavity. *J Am Acad Dermatol*. 1991;24:527-37.
108. Umeda M, Mishima Y, Teranobu O, Nakanishi K, Shimada K. Heterogeneity of primary malignant melanoma in oral mucosa: an analysis of 43 cases in Japan. *Pathology*. 1988;20:234-41.
109. Umeda M, Shimada K. Primary malignant melanoma of the oral cavity. Its histological classification and treatment. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 1994;32:39-47.
110. Aguas SC, Quarracino MC, Lence AN, Lanfranchi Tizeira HE. Melanoma primario de la cavidad bucal. Presentación de diez casos y revisión de 177 casos de la literatura. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2009;14:199-205.
111. Reséndiz-Colosia AG, Valenzuela-Flores AG, Gallegos-Hernández FJ, Flores-Díaz R, Barroso-Bravo S, Rodríguez-Cuevas SA. Melanoma primario de la mucosa oral. Experiencia en un Hospital de Oncología. *Cir Ciruj*. 2007;75:257-62.
112. Guevara-Canales JO, Gutiérrez-Morales MM, Sacsquispe-Contreras SJ, Sánchez-Lihón J, Morales-Vadillo R. Malignant melanoma of the oral cavity: Review of the literature and experience in a Peruvian population. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2012;17:e206-11.
113. Lourenço SV, Sotto MN, Bologna SB, Giacomo TB, Buim ME, Coutinho-Camilo CM, et al. Primary oral mucosal melanoma: a series of 35 new cases from South America. *Am J Dermatopathol*. 2009;31:323-30.
114. García-Perla A. Melanoma oral. Presentación de un caso. *Rev Esp Estomatol*. 1972;20:27-33.

115. Oliveras JM, Conde J, Valiente A, García E. Melanoma maligno de cavidad oral. *Rev Iberoam Cir Oral Maxilofac.* 1980;2:169-74.
116. Floría García LM, Barquero Ruiz MC, Castillo Escandón R. Melanomas de cavidad oral. *Rev Esp Cirug Oral y Maxilofac.* 1988;10:145-56.
117. Castellano JJ, Vicente MM, Domínguez S. Melanoma maligno de la cavidad oral: A propósito de un caso. *Av Odontoestomatol.* 1995;11:283-6.
118. Caballero R, Guixard M. Pigmentaciones bucales. Melanomas-Melanoma bucal. *Av Odontoestomatol.* 1996;12:168-78.
119. Albertos JM, Bilbao A, Junquera LM, Alonso D. Melanoma primario de la cavidad oral. *Med Oral.* 1998;3:42-9.
120. Infante Cossío P, García-Perla A, Mayorga Jiménez F, Gutiérrez Pérez JL, Scherba J, Gavilán Carrasco F. Melanoma maligno de la cavidad oral: estudio de tres casos. *Rev Esp Cirug Oral y Maxilofac.* 1999;21:287-93.
121. Lahoz Zamarro MT, Martínez Subias J, Muniesa Soriano JA, Laguía Pérez M. Melanoma de paladar duro. *Acta Otorrinolaringol Esp.* 2001;52:422-5.
122. González García R, Navas Gías L, Martos PL, Nam-Cha SH, Rodríguez Campo FJ, Muñoz Guerra MF, et al. Melanoma de la mucosa oral. Casos clínicos y revisión de la literatura. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2005;10:264-71.
123. Meleti M, Leemans CR, Mooi WJ, van der Waal I. Oral malignant melanoma: The Amsterdam experience. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007;65:2181-6.
124. Prasad ML, Jungbluth AA, Patel SG, Iversen K, Hoshaw-Woodard KJ, Busam, KJ. Expression and significance of cancer testis antigens in primary mucosal melanoma of the head and neck. *Head Neck Pathol.* 2004;26:1053-7.
125. Holmstrom M, Lund V. Malignant melanomas of the nasal cavity after exposure to formaldehyde. *Br J Indust Med.* 1991;48:9-11.
126. Rapini RP, Golitz LE, Greer RO, Krekorian EA, Poulson T. Primary malignant melanoma of the oral cavity: A review of 177 cases. *Cancer.* 1985;55:1543-51.
127. Borges V, Puig S, Malveyh J. Nevus, melanoma y embarazo. *Actas Dermosifiliogr.* 2011;102:650-7.
128. Feskanich D, Hunter DJ, Willett WC, Spiegelman D, Stampfer MJ, Speizer FE, et al. Oral contraceptive use and risk of melanoma in premenopausal women. *Br J Cancer.* 1999;81:918-23.

129. Chaudhuri PK, Walker MJ, Briele HA, Beattie CW, Das Gupta TK. Incidence of estrogen receptor in benign nevi and human malignant melanoma. *JAMA*. 1980;244:791-3.
130. Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, Patel HN, Busam KJ, Kutzner H, et al. Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med*. 2005;353:2135-47.
131. Carvajal RD, Antonescu CR, Wolchok JD, Chapman PB, Roman RA, Teitcher J, et al. KIT as a therapeutic target in metastatic melanoma. *JAMA*. 2011;305:2327-34.
132. Pollock PM, Trent JM. The genetics of cutaneous melanoma. *Clin Lab Med*. 2000;20:667-90.
133. Ward KA, Lazovich D, Hordinsky MK. Germline melanoma susceptibility and prognostic genes: A review of the literature. *J Am Acad Dermatol*. 2012;67:1055-67.
134. Abbas O, Miller DD, Bhawan J. Cutaneous malignant melanoma: Update on diagnostic and prognostic biomarkers. *Am J Dermatopathol*. 2014;36:363-79.
135. Read J, Wadt KA, Hayward NK. Melanoma genetics. *J Med Genet*. 2016;53:1-14.
136. Martín-Algarra S, Fernández-Figueras MT, López-Martín JA, Santos-Briz A, Arance A, Lozano MD, et al. Guidelines for biomarker testing in metastatic melanoma: A national consensus of the Spanish Society of Pathology and the Spanish Society of Medical Oncology. *Clin Transl Oncol*. 2014;16:362-73.
137. Chaudry AP, Hampel A, Gorlin RJ. Primary malignant melanoma of the oral cavity: a review of 105 cases. *Cancer*. 1958;11:923-8.
138. Liversedge RL. Oral malignant melanoma. *Br J Oral Surg*. 1975;13:40-55.
139. Takagi M, Ishikawa G, Mori W. Primary malignant melanoma of the oral cavity in Japan. *Cancer*. 1974;34:358-70.
140. Khan MA, Weathers DR, Hoffman JG. Transformation of a benign oral pigmentation to primary oral melanoma. *Oral Surg Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2005;100:454-9.
141. Lu SY, Lin CF, Huang SC. Metastatic oral malignant melanoma transformed from pre-existing pigmented lesions in mandibular gingival: Report of an unusual case. *J Dent Sci*. 2013;8:328-32.
142. Spanogle JP, Clarke CA, Aroner S, Swetter SM. Risk of second primary malignancies following cutaneous melanoma diagnosis: A population-based study. *J Am Acad Dermatol*. 2010;62:757-67.

143. Tomicic J, Wanebo HJ. Mucosal melanomas. *Surg Clin North Am.* 2003;83:237-52.
144. Goerres GW, Stoeckli SJ, von Schulthess GK, Steinert HC. FDG PET for mucosal malignant melanoma of the head and neck. *Laryngoscope.* 2002;112:381-5.
145. Prichard RS, Hill AD, Skehan SJ, O`Higgins NJ. Positron emission tomography for staging and management of malignant melanoma. *Br J Surg.* 2002;89:389-96.
146. Manolidis S, Donald PJ: Malignant mucosal melanoma of the head and neck: review of the literature and report of 14 patients. *Cancer.* 1997;80:1373-86.
147. Delgado-Azañero WA, Mosqueda-Taylor A. Un método práctico para el diagnóstico clínico de melanomas de la mucosa oral. *Med Oral.* 2003;8:348-52.
148. Mouwad R, Spano JP, Khayat D. Old and new serological biomarkers in melanoma: where we are in 2009. *Melanoma Res.* 2010;20:67-76.
149. Aydogan LB, Myers JN, Myers EN, Kirkwood J. Malignant melanoma metastatic to the tonsil. *Laryngoscope.* 1996;106:313-6.
150. Compilato D, Amato S, Campisi G. Melanoma metastásico de la lengua: un caso raro. *Actas Dermosifiliogr.* 2012;103:833-6.
151. Trodahl JN, Sprague WG. Benign and malignant melanocytic lesions of the oral mucosa. An analysis of 135 cases. *Cancer.* 1970;25:812-23.
152. Greene GW, Haynes JW, Dozier M, Blumberg JM, Bernier JL. Primary malignant melanoma of the oral mucosa. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1953;6:1435-43.
153. Mihajlovic M, Vlajkovic S, Jovanovic P, Stefanovic V. Primary mucosal melanomas: a comprehensive review. *Int J Clin Exp Pathol.* 2012;5:739-53.
154. Seetharamu N, Ott PA, Pavlik A. Mucosal melanoma: A case-based review of the literature. *Oncologist.* 2010;15:722-81.
155. Clark WH Jr, Bernardino EA, Reed RJ, Kopf AW. Acral lentiginous melanoma including melanomas of mucous membranes. En: Clark WH Jr, Goldman LI, Mastrangelo MJ, eds. *Human malignant melanoma.* New York: Grune & Stratton; 1979.
156. Herrera GA, Turbat-Herrera EA. Current role of electron microscopy in the diagnosis of pigmented tumors. *Semin Diagn Pathol.* 2003;20:60-71.
157. Breslow A. Tumor thickness, level of invasion, and node dissection in stage I cutaneous melanoma. *Ann Surg.* 1975;182:572-5.

158. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A, editors. AJCC Cancer Staging Manual. 7<sup>a</sup> ed. New York: Springer; 2010.
159. Prasad ML, Patel SG, Hoshaw-Woodard S, Escrig M, Shah JP, Huvos AG, et al. Prognostic factors for malignant melanoma of the squamous mucosa of the head and neck. *Am J Surg Pathol*. 2002;26:883-92.
160. Mücke T, Hözle F, Kesting MR, Loeffelbein DJ, Robitzky LK, Hoblweg-Majert B, et al. Tumor size and depth in primary malignant melanoma in the oral cavity influences survival. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009;67:1409-15.
161. Patel SG, Prasad ML, Escrig M, Singh B, Shaha AR, Kraus DH, et al. Primary mucosal malignant melanoma of the head and neck. *Head Neck Pathol*. 2002;24:247-57.
162. Shah JP, Huvos AG, Strong EW. Mucosal melanoma of the head and neck. *Am J Surg*. 1977;134:531-5.
163. Snow GB, Van der Esch EP, Van Slooten EA. Mucosal melanoma of the head and neck. *Head Neck Surg*. 1978;1:24-30.
164. Lee SP, Shimizu KT, Tran LM, Juillard G, Calcaterra TC. Mucosal melanoma of the head and neck: the impact of local control on survival. *Laryngoscope*. 1994;104:121-6.
165. Sun CZ, Chen YE, Jiang YE, Hu ZD, Yang AK, Song M. Treatment and prognosis of oral mucosal melanoma. *Oral Oncol*. 2012;48:647-52.
166. Song H, Wu Y, Ran G, Guo W, Wang L. Prognostic factors of oral mucosal melanoma: Histopathological analysis in a retrospective cohort of 82 cases. *Histopathology*. 2015;67:548-56.
167. Troxell DB. Pitfalls in the diagnosis of malignant melanoma: findings of a risk management panel study. *Am J Surg Pathol*. 2003;27:1278-83.
168. DiCaudo DJ, McCalmont TH, Wick MR. Selected diagnostic problem in neoplastic dermatopathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2007;131:434-9.
169. Busam KJ, Zaho H, Coit DG, Kucukgol D, Jungbluth AA, Nobrega J, et al. Distinction of desmoplastic melanoma from no-desmoplastic melanoma by gene expression profiling. *J Invest Dermatol*. 2005;124:412-9.
170. Lee HY, Na SY, Son YM, Kang HK, Baek JO, Lee JR et al. A malignant melanoma associated with a blue nevus of the lip. *Ann Dermatol*. 2010;22:119-24.
171. Kumar SK, Shuler CF, Sedghizadeh PP, Kalmar JR. Oral mucosal melanoma with unusual clinicopathologic features. *J Cutan Pathol*. 2008;35:392-7.

172. Medina JE, Ferlito A, Pellitteri PK, Shaha AR, Khafif A, Devaney KO, et al. Current management of mucosal melanoma of the head and neck. *J Surg Oncol*. 2003;83:116-22.
173. Prasad ML, Jungbluth AA, Iversen K, Andrew G, Busam, KJ. Expression of melanocytic differentiation markers in Malignant Melanomas of the oral and sinonasal mucosa. *Am J Surg Pathol*. 2001;25:782-7.
174. Korabiowska M, Brinck U, Hoening JF, Bartkowski SB, Mirecka J, Schauer A. An application of MIB antibody to the retrospective study of melanomas of oral mucosa and facial skin. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1994;120:365-8.
175. Prieto VG, Shea CR. Use of immunohistochemistry in melanocytic lesions. *J Cutan Pathol*. 2008;35 (Suppl 2):1-10.
176. Ilmonen S, Hernberg M, Phyrönen S, Tarkkanen J, Asko-Seljavaara S. Ki-67, Bcl-2 and p53 expression in primary and metastatic melanoma. *Melanoma Res*. 2005;15:375-81.
177. Prasad MJ, Patel SG, Shah JP, Hoshaw-Woodard S, Busam KJ. Prognostic Significance of Regulators of Cell Cycle and Apoptosis, p16INK4a, p53, and bcl-2 in Primary Mucosal Melanomas of the Head and Neck. *Head Neck Pathol*. 2012;6:184-90.
178. Bilalovic N, Sandstad B, Golouh R, Nesland JM, Selak I, Torlakovic EE. CD 10 protein expression in tumor and stromal cells of malignant melanoma is associated with tumor progresión. *Mod Pathol*. 2004;17:1251-8.
179. Oba J, Ankara T, Hayashida S, Kido, M, Xie, L, Masakazu T, et al. Expression of CD 10 predicts tumor progression and unfavorable prognosis in malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol*. 2011;65:1152-60.
180. Benevenuto de Andrade BA, León JE, Carlos R, Delgado-Azañero WA, Mosqueda Taylor A, Paes de Almeida O. Immunohistochemical expression of p16, p21, p27 an Cyclin D1 in oral nevi and melanoma. *Head Neck Pathol*. 2012;6:297-304.
181. Benevenuto de Andrade BA, León JE, Carlos R, Delgado-Azañero WA, Mosqueda Taylor A, Paes de Almeida O. Immunohistochemical expression of Skp2 protein in oral nevi and melanoma. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2013;18:e388-91.
182. Pilloni L, Bianco P, Difelice E, Cabras S, Castellanos ME, Atzori L, et al. The usefulness of c-Kit in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions. *Europ J Histochem*. 2011;55:e20.
183. Bakos RM, Maier T, Besch R, Mestel DS, Ruzicka T, Sturm RA, Berking C. Nestin and SOX9 and SOX10 transcription factors are coexpressed in melanoma. *Exp Dermatol*. 2010;19:89-94.

184. Radfar A, Stefanato CM, Ghosn S, Bhawan J. NGFR-positive desmoplastic melanomas with focal or absent S-100 staining: further evidence supporting the use of both NGFR and S-100 as a primary immunohistochemical panel for the diagnosis of desmoplastic melanomas. *Am J Dermatopathol.* 2006;28:162-7.
185. Hoang MP, Selim MA, Bentley RC, Burchette JL, Shea CR. CD34 expression in desmoplastic melanoma. *J Cutan Pathol.* 2001;28:508-12.
186. Riccioni I, Di Tommaso I, Collina G. Actin-rich desmoplastic malignant melanoma: report of three cases. *Am J Dermatopathol.* 1999;21:537-41.
187. Palla B, Su A, Binder S, Dry S. SOX10 expression distinguishes Desmoplastic Melanoma from its histologic mimics. *Am J Dermatopathol.* 2013;35:576-581.
188. Batista Bologna S, Menta S, Nico M, Hsieh R, Malheiros Coutinho CC, Buim ME, et al. Adhesion molecules in primary oral mucosal melanoma: Study of Claudins, Integrins and Immunoglobulins in a series of 35 cases. *Am J Dermatopathol.* 2013;35:541-54.
189. Prasad ML, Patel SG, Huvos AG, Shah JP, Busam KJ. Primary mucosal melanoma of the head and neck. A proposal for microstaging localized, stage I (lymph node-negative) tumors. *Cancer.* 2004;100:1657-64.
190. Kovacs AF. Relevance of positive margins in case of adjuvant therapy of oral cancer. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2004;33:447-53.
191. Papaspyrou G, Garbe C, Schadendorf D, Werner JA, Auschild A, Friederike E. Mucosal melanomas of the head and neck: new aspects of the clinical outcome, molecular pathology, and treatment with c-kit inhibitors. *Melanoma Res.* 2011;21:475-82.
192. Kruse AL, Riener MO, Graetz KW, Luebbers HT. Mucosal malignant melanoma in head and neck surgery: a retrospective study of six patients and review of the literature. *Oral Maxillofac Surg.* 2010;14:143-7.
193. Meleti M, Leemans CR, Mooi WJ, Vescovi P, van der Waal I. Oral malignant melanoma: a review of the literature. *Oral Oncol.* 2007;43:116-21.
194. Bishop KD, Olszewski AJ. Epidemiology and survival outcomes of ocular and mucosal melanomas: A population-based analysis. *Int J Cancer.* 2014;134:2961-71.
195. Tanaka N, Mimura M, Ogi K, Amagasa T. Primary malignant melanoma of the oral cavity. Assessment of outcome from the clinical records of 35 patients. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2004;33:761-5.

196. Medalie N, Ackerman AB. Sentinel node biopsy has no benefit for patients whose primary cutaneous melanoma has metastasized to a lymph node and therefore should be abandoned now. *Br J Dermatol.* 2004;151:298-307.
197. Gutzmer R, Al-Ghazal M, Geerlings H, Kapp A. Sentinel node biopsy in melanoma delays recurrence but does not change melanoma-related survival-a retrospective analysis of 673 patients. *Br J Dermatol.* 2005;153:1137-41.
198. Thomas JM, Patocskai EJ. The argument against sentinel node biopsy for malignant melanoma. Its use should be confined to patients in clinical trials. *Br Med J.* 2000;321:3-4.
199. Stárek I, Koranda P, Benes P. Sentinel lymph node biopsy: A new perspective in head and neck mucosal melanoma?. *Melanoma Res.* 2006;16:423-7.
200. Benlyazid A, Thariat J, Temam S, Malard O, Florescu C, Choussy O, et al. Postoperative Radiotherapy in Head and Neck Mucosal Melanoma A *GETTEC Study*. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2010;136:1219-25.
201. Teman S, Mamelle G, Mirandas P, Wibault P, Avril MF, Janot F, et al. Postoperative radiotherapy for primary mucosal melanoma of the head and neck. *Cancer.* 2005;103:313-9.
202. Wada H, Remoto K, Ogawa Y, Hareyama M, Yoshida H, Takamura O, et al. A multi-institutional retrospective analysis of external radiotherapy for mucosal melanoma of the head and neck in Northern Japan. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004;59:495-500.
203. Wu AJ, Gomez J, Zhung JE, Chan K, Gomez DR, Wolden SL, et al. Radiotherapy after surgical resection for head and neck Mucosal melanoma. *Am J Clin Oncol.* 2010;33:281-5.
204. Serrone L, Zeuli M, Segal FM, Cognetti F. Dacarbazine-based chemotherapy for metastatic melanoma: thirty-year experience overview. *J Exp Clin Cancer Res.* 2000;19:21-34.
205. Chapman PB, Einhorn LH, Meyers ML, Saxman S, Destro AN, Panageas KS, et al. Phase III multicenter randomized trial of the Dartmouth regimen versus Dacarbazine in patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol.* 1999;17:2745-51.
206. Middleton MR, Grob JJ, Aaronson N, Fierlbeck G, Tilgen W, Seiter S, et al. Randomized phase III study of Temozolomide versus Dacarbazine in the treatment of patients with advanced metastatic malignant melanoma. *J Clin Oncol.* 2000;18:158-66.
207. Ahn HJ, Na II, Park YH, Cho SY, Lee BC, Lee GH, et al. Role of adjuvant chemotherapy in malignant mucosal melanoma of the head and neck. *Oral Oncol.* 2010;46:607-11.

208. Hersh EM, O´Day SJ, Powderly J, Khan KD, Pavlick AC, Cranmer LD, et al. A phase II multicenter study of Ipilimumab with or without Dacarbazine in chemotherapy-naïve patients with advanced melanoma. *Invest New Drugs*. 2011;29:489-98.
209. Robert C, Thomas L, Bondarenko I, O´Day S, Weber J, Garbe C, et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. *N Engl J Med*. 2011;364:2517-26.
210. Robert C, Ribas A, Wolchok JD, Hodi SF, Amid O, Kefford R, et al. Anti-programmed-death-receptor-1 treatment with pembrolizumab in ipilimumab-refractory advanced melanoma: a randomised dose-comparison cohort of a phase 1 trial. *Lancet*. 2014;384:1109-17.
211. Postow MA, Chesney J, Pavlick AC, Robert C, Grossmann K, McDermott D et al. Nivolumab and Ipilimumab versus Ipilimumab in untreated melanoma. *N Engl J Med*. 2015;372:2006-17.
212. Scott LJ. Nivolumab: A review in advanced melanoma. *Drugs*. 2015;75:1413-24.
213. Ahmed KA, Stallwoth DG, Kim Y, Johnstone PAS, Harrison LB, Caudell JJ et al. Clinical outcomes of melanoma brain metastases treated with stereotactic radiation and anti-PD-1 therapy. *Ann Oncol*. 2016;27:434-41.
214. Ascierto PA, Kirkwood JM. Adjuvant therapy of melanoma with interferon: lessons of the past decade. *J Transl Med*. 2008;6:62-70.
215. Bartell HL, Bedikian AY, Papadoulos NE, Dett TK, Ballo MT, Myers JN, et al. Biochemotherapy in patients with advanced head and neck mucosal melanoma. *Head Neck Pathol*. 2008;30:1592-8.
216. Smyth EC, Flavin M, Pulitzer MP, Gardner GJ, Constantino PD, Chi DS, et al. Treatment of locally recurrent Mucosal melanoma with topical Imiquimod. *J Clin Oncol*. 2011;29:e809-11.
217. Umeda M, Murata M, Suzuki H, Yanagida T, Shibuya Y, Komori T. A case of malignant melanoma of the oral cavity alive with liver metastasis for a long period with administration of a biologic response modifier, OK432. *Kobe J Med Sci*. 2010;56:E140-147.
218. Luna-Ortiz K, Campos-Ramos E, Pasche PH, Mosqueda-Taylor A. Oral mucosal melanoma: Conservative treatment including laser surgery. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011;16:e381-5.
219. Barton C-M. Mucosal melanoma of the head and neck. *Laryngoscope*. 1975;85:93-9.

220. Austin JR, Byers RM, Brown MD, Wolf P. Influence of biopsy on the prognosis of cutaneous melanoma of the head and neck. *Head Neck Pathol.* 1996;18:107-17.
221. Umeda M, Komatsubara H, Shigeta T, Ojiva Y, Minamikawa T, Shibuya Y, et al. Treatment and prognosis of malignant melanoma of the oral cavity: preoperative surgical procedures increases risk of distant metastasis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;106:51-7.
222. Molenkamp BG, Sluijter BJ, Oosterhof B, Meijer S, van Leeuwen PA. Non-radical diagnostic biopsies do not negatively influence melanoma patient survival. *Ann Surg Oncol.* 2007;14:1424-30.
223. Martin RCW, Scoggins CR, Ross MI, Reintgen DS, Noyes RD, Edwards MJ, et al. Is incisional biopsy of melanoma harmful?. *Am J Surg.* 2005;190:913-7.
224. Azumi N, Battifora H. The distribution of vimentin and keratin in epithelial and nonepithelial neoplasms. A comprehensive immunohistochemical study on formalin -and alcohol- fixed tumors. *Am J Clin Pathol.* 1987;88:286-96.
225. Fetsch PA, Cornier J, Hijazi YM. Immunocytochemical detection of MART-1 in fresh and paraffin-embedded malignant melanoma. *J Immunother.* 1997;20:60-4.
226. Prasad ML, Patel SG, Busam KJ. Primary mucosal desmoplastic melanoma of the head and neck. *Head Neck Pathol.* 2004;26:373-7.
227. Ohata C, Tadokoro T, Itami S, Expression of estrogen receptor beta in normal skin, melanocytic nevi and malignant melanoma. *J Dermatol.* 2008;35:215-21.
228. Potti A, Hille CR, Koch M. Immunohistochemical determination of HER-2/neu overexpression in malignant melanoma reveals no prognostic value, while c-kit (CD117) overexpression exhibits potential therapeutic implications. *J Carcinog.* 2003;2:8.
229. Mackie RM, English J, Aitchinson TC, Fitzsimonos CP, Wilson P. The number and distribution of benign pigmented moles (melanocytic nevi) in healthy british population. *Br J Dermatol.* 1985;113:167-74.
230. Allon I, Kaplan I, Gal G, Chaushu G, Allon DM. The clinical characteristics of benign oral mucosal tumors. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2014;19:e438-43.
231. Cerroni I, Borroni NG, Massone C, Kerl H. "Ancient" blue nevi (cellular blue nevi with degenerative stromal changes). *Am J Dermatopathol.* 2008;30:1-5.
232. Braun RP, Rabinovitz HS, Oliviero M, Kopf AW, Saurat JH. Dermoscopy of pigmented skin lesions. *J Am Acad Dermatol.* 2005;52:109-2.

233. Warszawik-Hendzel O, Stowinska M, Olszewska M, Rudnicka L. Melanoma of the oral cavity: pathogenesis, dermoscopy, clinical features, staging and management. *J Dermatol Case Rep.* 2014;3:60-6.

234 . Zalaudek I, Argenziano G, Soyer H, Corona R, Sera F, Blum A, et al. Three point checklist of dermoscopy: an open internet study. *Br J Dermatol.* 2006;154:431-7.

## **VIII. APÉNDICE**

Finalmente, en consonancia con las normativas actuales sobre presentación de tesis doctorales, se incluye un estudio sobre una parte del tema, publicado en una revista francesa, editada en inglés y con factor de impacto.

**Amérigo-Góngora M, et al. Clinicopathological and immunohistochemical analysis of oral melanocytic nevi and review of the literature. J Stomatol Oral Maxillofac Surg. 2017;118:151-155.**



Clinicopathological  
andimmunohistoche