

VNIVERSITAT  
D VALÈNCIA



**PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA  
UNIVERSIDAD DE VALENCIA  
2015**

## **Velocidad de crecimiento tumoral:**

---

DEFINICIÓN DEL VALOR PRONÓSTICO EN EL CARCINOMA  
EPIDERMOIDE CUTÁNEO Y EN EL MELANOMA

**Doctorando**

**Antonio Martorell Calatayud**

**Directores de tesis:**

**Dr. D Rafael Botella Estrada**

**Dr. D. Eduardo Nagore Enguádanos**

**Dr. D. Onofre Sanmartín Jiménez**



## **AGRADECIMIENTOS**

A mis 3 directores de tesis, por todo el camino que me han ayudado a recorrer durante estos años, y porque sin ellos esta tesis no hubiese sido posible.

A Edu, por esas madrugadas dedicadas a pulir la presente tesis, y por ser un gran amigo y una mejor persona.

A Onofre, por hacerme sentir como un miembro de su familia, y por su confianza, que ha dado como resultado el presente manuscrito.

A Rafa, por mostrarme el camino profesional a seguir en mi futura andadura científica.

Al servicio de Dermatología del Instituto Valenciano de Oncología, que me vio nacer (Bea, Celia, Pao, Paloma, Concha, Amparo, Maria José, Juan Luis...) y a, Carlos Guillén, por hacer de mi residencia un sueño que jamás olvidaré.

A mis “hermanos residentes” Carlos, Luis, y Alberto, por cuidarme en todo momento durante mis 4 años de formación.

A mis compañeros del Hospital de Manises, por ayudarme a continuar creciendo como dermatólogo y como persona.

A Nuria y a Amparito, por estar siempre ahí, y por enseñarme que para disfrutar de la vida hay que sonreír cada día.

A mis amigos de Medicina, de la residencia y de Vinaròs, por aguantar mis ausencias para la realización de esta tesis.

A mi familia política, ejemplo de superación, por mostrarme que al final todo sale bien, y que si no sale bien, es porque no es el final.

A mis padres y a mis hermanos, por su cariño, por ser uno de mis grandes apoyos, y por mostrarme que el camino de la perseverancia acaba dando sus frutos.

A Virginia, por compartir mi vida y mis preocupaciones. Por quererme.



# ÍNDICE

---



# ÍNDICE

1. Tablas y figuras .....	12
1.1. Tablas .....	12
1.2. Figuras .....	13
2. Acrónimos.....	16
3. Resumen .....	22
4. Introducción.....	26
4.1. Situación actual del melanoma cutáneo .....	26
4.1.1. Introducción y epidemiología.....	26
4.1.2. Factores de mal pronóstico en el melanoma cutáneo.....	27
4.1.2.1. Factores de mal pronóstico integrados en la guía actual del estadificación del melanoma .....	27
4.1.2.2. Factores de mal pronóstico en el melanoma .....	30
4.1.2.2.1. Factores clínico-patológicos .....	30
4.1.2.2.2. Marcadores biológicos de progresión.....	31
4.1.2.3. La velocidad de crecimiento como posible marcador pronóstico en el melanoma .....	40
4.2. Situación actual del carcinoma epidermoide cutáneo.....	47
4.2.1. Introducción y epidemiología.....	47
4.2.2. Factores de mal pronóstico en el carcinoma epidermoide cutáneo .....	48
4.2.2.1. Parámetros clínico-patológicos .....	49
4.2.2.1.1. Antecedentes personales.....	49
4.2.2.1.2. Datos clínicos del carcinoma epidermoide cutáneo.....	51
4.2.2.1.3. Parámetros histológicos del carcinoma epidermoide cutáneo.....	54
4.2.2.2. Marcadores moleculares.....	60
4.2.3. La velocidad de crecimiento como posible marcador pronóstico en el carcinoma epidermoide cutáneo.....	63
4.3. Síndrome de apnea obstructiva del sueño y cáncer de piel.....	65
4.3.1. Introducción .....	65
4.3.2. SAOS: definición, prevalencia y principales consecuencias .....	65
4.3.3. La hipoxia intermitente.....	66
4.3.4. Síndrome de apnea del sueño y cáncer .....	68
5. Hipótesis .....	74
6. Objetivos .....	74
6.1. Objetivo principal .....	74
6.2. Objetivos secundarios.....	74
7. Material y métodos.....	79
7.1. Consideraciones generales .....	79
7.1.1. Fuente de datos .....	79
7.1.2. Variables generales recogidas en las bases de datos .....	81
7.1.3. Cálculo de la velocidad de crecimiento.....	81
7.1.3.1. Velocidad de crecimiento en el MM.....	81
7.1.3.2. Velocidad de crecimiento en el CEC.....	83
7.2. ESTUDIO 1: Definición de la velocidad de crecimiento en el melanoma: evaluación de aspectos epidemiológicos, clínicos e histológicos.....	85
7.2.1. Sujetos del estudio.....	85
7.2.1.1. Criterios de inclusión .....	85
7.2.1.2. Criterios de exclusión.....	85
7.2.2. Grupos de estudio.....	85
7.2.3. Datos analizados en el estudio .....	85
7.2.3.1. Datos epidemiológicos.....	86

7.2.3.2.	Características fenotípicas .....	86
7.2.3.3.	Factores ambientales .....	86
7.2.3.4.	Historia oncológica personal y familiar del paciente.....	86
7.2.3.5.	Análisis de las características clínicas e histológicas del melanoma .....	86
7.2.3.6.	Estadificación del melanoma.....	87
7.2.3.7.	Determinación del gen de la melanocortina 1 .....	87
7.2.4.	Análisis estadístico .....	88
7.3.	ESTUDIO 2: Evaluación de la velocidad de crecimiento del melanoma como factor pronóstico independiente.....	90
7.3.1.	Sujetos de estudio.....	90
7.3.1.1.	Criterios de inclusión .....	90
7.3.1.2.	Criterios de exclusión .....	90
7.3.2.	Grupos de estudio.....	90
7.3.3.	Datos analizados en el estudio .....	91
7.3.4.	Análisis estadístico.....	92
7.4.	ESTUDIO 3: Análisis de la prevalencia de mutaciones BRAF y NRAS en los melanomas de rápido crecimiento no acrales .....	93
7.4.1.	Sujetos de estudio.....	93
7.4.1.1.	Criterios de inclusión .....	93
7.4.1.2.	Criterios de exclusión .....	93
7.4.2.	Grupos de estudio.....	93
7.4.3.	Datos analizados en el estudio .....	94
7.4.4.	Análisis genético de <i>BRAF</i> y <i>NRAS</i> .....	95
7.4.5.	Análisis estadístico.....	95
7.5.	ESTUDIO 4: Prevalencia de mutaciones en el promotor de TERT en los melanomas de crecimiento rápido.....	96
7.5.1.	Sujetos de estudio.....	96
7.5.1.1.	Criterios de inclusión .....	96
7.5.2.	Grupos de estudio.....	96
7.5.3.	Datos analizados en el estudio .....	96
7.5.3.1.	Datos epidemiológicos.....	96
7.5.3.2.	Características clínicas e histológicas del melanoma .....	97
7.5.4.	Análisis genético de <i>TERT</i> .....	97
7.5.5.	Análisis genético de <i>BRAF</i> y <i>NRAS</i> .....	97
7.5.6.	Análisis estadístico.....	98
7.6.	ESTUDIO 5: Aplicación práctica del concepto de velocidad de crecimiento: Evaluación de asociación de síndrome de apnea del sueño y melanoma de rápido crecimiento .....	99
7.6.1.	Sujetos de estudio.....	99
7.6.1.1.	Criterios de inclusión .....	99
7.6.1.2.	Criterios de exclusión .....	99
7.6.2.	Grupos de estudio.....	100
7.6.3.	Datos analizados en el estudio. ....	100
7.6.3.1.	Protocolo dermatológico .....	100
7.6.3.1.1.	Datos epidemiológicos.....	100
7.6.3.1.2.	Análisis de las características clínicas e histológicas del melanoma .....	100
7.6.3.1.3.	Estadificación de la enfermedad .....	101
7.6.3.2.	Protocolo de la unidad del sueño .....	101
7.6.3.2.1.	Parámetros generales .....	101
7.6.3.2.2.	Test diagnóstico del sueño .....	101
7.6.4.	Análisis estadístico.....	102
7.7.	ESTUDIO 6: Aplicación del concepto velocidad de crecimiento en el carcinoma epidermoide cutáneo y valor pronóstico .....	104
7.7.1.	Sujetos de estudio.....	104
7.7.1.1.	Criterios de inclusión .....	104



7.7.1.2.	Criterios de exclusión.....	104
7.7.2.	Grupos de estudio.....	105
7.7.3.	Datos analizados en el estudio.....	105
7.7.3.1.	Datos epidemiológicos.....	105
7.7.3.2.	Características fenotípicas.....	105
7.7.3.3.	Características clínicas.....	105
7.7.3.4.	Hallazgos histopatológicos.....	106
7.7.4.	Análisis estadístico.....	106
8.	Resultados.....	111
8.1.	ESTUDIO 1: Definición de la velocidad de crecimiento en el melanoma: evaluación de aspectos epidemiológicos, clínicos e histológicos.....	111
8.2.	ESTUDIO 2: Evaluación de la velocidad de crecimiento del melanoma como factor pronóstico independiente.....	117
8.3.	ESTUDIO 3: Análisis de la prevalencia de mutaciones BRAF y NRAS en los melanomas de rápido crecimiento no acrales.....	123
8.4.	ESTUDIO 4: Prevalencia de mutaciones en el promotor de TERT en los melanomas de crecimiento rápido.....	126
8.5.	ESTUDIO 5: Aplicación práctica del concepto de velocidad de crecimiento: Evaluación de asociación de síndrome de apnea del sueño y melanoma de rápido crecimiento.....	131
8.6.	ESTUDIO 6: Aplicación del concepto velocidad de crecimiento en el carcinoma epidermoide cutáneo y valor pronóstico.....	141
9.	Discusión.....	158
10.	Conclusiones.....	178
11.	Bibliografía.....	182
12.	Anexos.....	211
12.1.	Anexo 1. documento de consentimiento informado para la donación voluntaria de muestras biológicas para investigación.....	211
12.2.	Anexo 2. Modelo de Consentimiento informado por escrito de todos los pacientes que participaron en los estudios. Consentimiento análisis genético de utilidad clínica.....	215
12.3.	Anexo 3. Variables incluidas en la base de datos de melanoma.....	217
12.4.	Anexo 4. Variables incluidas en la base de datos de carcinoma epidermoide cutáneo.....	223
12.5.	Anexo 5. Análisis genético de <i>BRAF</i> y <i>NRAS</i> .....	227
12.6.	Anexo 6. Análisis genético de <i>TERT</i> .....	228
12.7.	Anexo 7. Cuaderno de recogida de datos estudio SAOS y MM.....	229
12.8.	Anexo 8. Escala de Epworth. Se trata de una escala que el paciente debe de rellenar. Se considera cuando la puntuación final es igual o mayor a 12.....	233
13.	Publicaciones, reconocimientos y ayudas públicas.....	237
13.1.	Artículos científicos (indexados en Pubmed).....	237
13.2.	Reconocimientos.....	238
13.3.	Proyectos de financiación pública.....	239



# **ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS**

---

# 1. Tablas y figuras

## 1.1. Tablas

Tabla 1. Estadificación del MM.....	27
Tabla 2. Características del MM según la tasa de crecimiento.....	42
Tabla 3. Clasificación de la AJCC TNM (Tumor, Node, Metastasis).....	56
Tabla 4. Factores de riesgo de CECAR según la NCCN.....	64
Tabla 5. Escala de interpretación de la correlación de Spearman.....	89
Tabla 6. Características epidemiológicas de la población incluida en el estudio 1.....	112
Tabla 7. Características clínico-patológicas de los pacientes incluidos en el estudio 1.....	114
Tabla 8. Características clínico-patológicas de los pacientes incluidos en el estudio 2.....	118
Tabla 9. Análisis multivariante de regresión de COX para la supervivencia global (SG) y para la supervivencia libre de enfermedad (SLE). Consideración del espesor de Breslow como variable continua y como variante categorizada según los puntos de corte de la AJCC.....	122
Tabla 10. Análisis de las características clínico-demográficas y del estado mutacional del MM según la VCm.....	124
Tabla 11. Relación entre la VCm y el estado mutacional de BRAF y NRAS sobre los casos incluidos en el estudio 3 (n=126).....	125
Tabla 12. Características demográficas, clínicas y estado mutacional en el estado del MM de acuerdo con la VCm.....	126
Tabla 13. Relación entre la VCm y el estado mutacional de TERT entre los casos de MM (n=339).....	129
Tabla 14. Subanálisis de mutaciones en la región promotora de TERT en función de la presencia del polimorfismo rs2853669.....	130
Tabla 15. Características clínico-epidemiológicas de los pacientes incluidos en el estudio 5.....	132
Tabla 16. Resultados de los estudios del sueño de los pacientes del estudio 5.....	133
Tabla 17. Comparación de las características de los pacientes del estudio 5 en función de la VCm.....	134
Tabla 18. Relación de los parámetros de alteración de la respiración durante el sueño y la VCm como variable dicotómica.....	135
Tabla 19. Relación entre los parámetros de alteración de la respiración durante el sueño y la VCm como variable continua.....	136
Tabla 20. Características epidemiológicas de los pacientes incluidos en el estudio 6.....	142
Tabla 21. Características clínico-patológicas de los pacientes incluidos en el estudio 6.....	145
Tabla 22. Modelo de regresión logística para predecir el tipo de enfermedad.....	149
Tabla 23. Tabla de contingencia. Evaluación de la tasa de recaída según el desarrollo de adenopatías.....	153
Tabla 24. Análisis de relación entre recaída y CEC adenopático frente a no adenopático.....	153
Tabla 25. Factores de alto riesgo de desarrollo de metástasis.....	173

## 1.2. Figuras

Figura 1. Vías de la MAPK (proteína quinasa activadora por mitógeno) d la PI3K (fosfatidil-inositol 3´quinasa) _____	32
Figura 2. Modelo de progresión de Clark _____	33
Figura 3. Modelo de cálculo de la VC de Grob _____	45
Figura 4. CEC con afectación nodal _____	48
Figura 5. Diferentes enfermedades que favorecen la diseminación nodal en el CEC _____	49
Figura 6. CEC mayor de 2 cm _____	52
Figura 7. A-D. Paciente de 70 años con CEC en pabellón auricular. A y D. Tumoración carnosa que infiltra al conducto auricular externo. B y C. Histológicamente se caracteriza por una tumoración de células escamosas mal diferenciado con invasión linfovascular. (B, Hematoxilina-eosina x40; C, Inmunotinción CD31 x100) E. Glándula parótida, que presenta una tumoración nodular. F. La tumoración parotídea está formada por una proliferación de células escamosas mal diferenciadas, siguiendo un patrón similar a la tumoración primaria. (Hematoxilina-eosina, x40). _____	52
Figura 8. CECAR sometido a ganglio centinela. A. Varón de 65 años con CEC en labio inferior. B y C. Proliferación escamosa atípica invasiva con acantolisis e invasión perineural. D-F. Invasión del ganglio centinela por células escamosas atípicas. (D, Hematoxilina-eosina x40; E, Hematoxilina-eosina x100; F, Inmunotinción con panqueratina x100) _____	53
Figura 9. Hallazgos clínicos, de imagen e histológicos de invasión perineural _____	58
Figura 10. Hallazgos clínicos e histológicos de linfangitis carcinomatosa _____	59
Figura 11. Factores que intervienen en las comorbilidades del SAOS _____	68
Figura 12. Estructura de la tesis _____	79
Figura 13. Modelo de velocidad de crecimiento modificada (VCm) _____	83
Figura 14. Diagrama de flujo del estudio 1 _____	111
Figura 15. Diagrama de flujo del estudio 2 _____	117
Figura 16. Estimación de Kaplan-Meier para la SG y para la SLE estratificada por la VC del MM. _____	121
Figura 17. Diagrama de flujo del estudio 5 _____	131
Figura 18. Correlación entre el índice de Breslow y los parámetros de alteración durante el sueño. A)índice apnea-hipopnea B) IDO3% y C) IDO4% _____	138
Figura 19. Correlación entre la VCm y los parámetros del sueño.A)índice apnea-hipopnea B) IDO3% y C) IDO4% _____	140
Figura 20. Diagrama de flujo del estudio 6 _____	141
Figura 21. Curva ROC para el modelo de regresión logística que predice el tipo de enfermedad _____	148
Figura 22. Diagrama de cajas de la VCm según el grupo. En la gráfica se observa como el grupo adenopático (grupo 2) tiene valores más elevados de velocidad. _____	150
Figura 23. Diagrama de cajas de la VCm según el nºmitosis por 10 campos _____	150
Figura 24. Diagrama de cajas de la VCm según la edad en años _____	151
Figura 25. Diagrama de relación entre la probabilidad de desarrollar adenopatías en función de la VCm _____	152
Figura 26. Nomograma para predecir la probabilidad de un CEC de desarrollar adenopatías _____	154



# ACRÓNIMOS

---

## 2. Acrónimos

A
AJCC: American Joint Committee on Cancer
ARF: Alternative reading frame
ARS: alteración respiración durante el sueño
C
CBC: Carcinoma basocelular
CCNM: Cáncer cutáneo no melanoma
CEC: Carcinoma epidermoide cutáneo
CECa: Carcinoma epidermoide cutáneo adenopático
CECna: Carcinoma epidermoide cutáneo no adenopático
CECAR: carcinoma epidermoide cutáneo de alto riesgo.
CECBR: Carcinoma epidermoide cutáneo de bajo riesgo.
CPAP: Sistema de presión positiva continua
CSK1B: Subunidad 1 de las ciclinas reguladoras dependientes de quinasas
ESS: Score Epworth Sleepiness Scale
E
EGFR: receptor del factor de crecimiento epidérmico
ERK: Quinasa reguladora de señales extracelulares, en inglés, Extracellular signal regulated kinase
ERO: Especies reactivas de oxígeno
F
FISH: Hibridación in situ mediante inmunofluorescencia
G
GC, ganglio centinela
H
HR: Hazard ratio
HIF-1: Factor inducido por hipoxia 1
HI: Hipoxia intermitente.
I



IAH: Índice de apnea/hipopnea

IAH: Número de apneas e hipopneas por hora de sueño (polisomnografía) o grabadas (poligrafía respiratoria)

IC: Intervalo de confianza

IDO<sub>3%</sub>: Índice de desaturación de oxígeno al 3%

IDO<sub>4%</sub>: Índice de desaturación de oxígeno al 4%

IMC: índice de masa corporal

IPN: invasión perineural

## L

LDH: Lactato deshidrogenasa

LIT: Linfocito intratumoral

## M

MC: Melanoma cutáneo

MAPK: Proteína quinasa activadora de mitógeno, en inglés mitogen-activated protein kinase

MC1R: Receptor de melanocortina 1

MCI&L: Melanoma de crecimiento intermedio y lento

MCI: Melanoma de crecimiento intermedio

MCL: Melanoma de crecimiento lento

MCR: Melanoma de crecimiento rápido

MITF: Factor de transcripción asociado a la microftalmía

MM: Melanoma maligno

MMP-2: Metaloproteinasa de matriz tipo 2

## N

N: Afectación nodal

NA: no aplicable

## Q

QA: Queratosis actínica

## O

ON: Óxido nítrico

## P

PTEN: proteína homóloga de fosfatasa y tensina
<b>R</b>
RIC: Rango intercuartílico
<b>S</b>
SAOS: Síndrome de apnea obstructiva del sueño SG: Supervivencia global SLE: Supervivencia libre de enfermedad SLR: Supervivencia libre de recurrencia
<b>T</b>
T: Tumoración primaria TM: Tasa de mitosis TRS: Trastorno respiratorio del sueño $T_{\text{sat}90}$ : Tiempo nocturno con saturación menor del 90% $T_{\text{sat}90}$ : Porcentaje de la noche en la que la saturación arterial de oxígeno decayó por debajo del 90%.
<b>U</b>
UV: Ultravioleta
<b>V</b>
VC: Velocidad de crecimiento VCm: Velocidad de crecimiento modificada VEGF: Factor de crecimiento vascular endotelial



# RESUMEN

---



### **3. Resumen**

La incidencia del cáncer de piel se ha incrementado exponencialmente en los últimos años debido en parte a la mayor longevidad de la población general a nivel mundial, y en parte atribuible a la modificación del comportamiento social con respecto a la exposición solar con un predominio de un patrón de exposición intenso vacacional desde mediados del siglo XX. (1,2)

Dentro de los diferentes cánceres de piel clasificados en base a la tasa de frecuencia/mortalidad global, el melanoma maligno (MM) y el carcinoma epidermoide cutáneo (CEC) son los más relevantes en el campo de la Dermatología.

En los últimos años se han producido grandes avances en la capacidad de predecir el pronóstico y en el tratamiento del MM, y en menor medida del CEC. A pesar de todos los grandes avances en el campo de la investigación básica y translacional, y de los grandes esfuerzos en campañas de prevención social, se ha observado que la incidencia de MM de espesor elevado se ha mantenido estable a lo largo del tiempo, así como la mortalidad. Esto se ha atribuido a la existencia de un grupo de tumores que tienen una tasa elevada de crecimiento que dificulta su diagnóstico precoz y que condiciona una mayor agresividad biológica. Este hecho también se constata desde el punto de vista clínico en el que se observan tumores que han sido detectados de forma relativamente rápida pero que se diagnostican con espesores elevados.

Lo mismo ocurre con el CEC, en los que aún teniendo en cuenta los factores pronósticos conocidos, el comportamiento no siempre es predecible y por el contrario parece correlacionarse con la impresión clínica del tumor que crece rápidamente.

En el presente trabajo se pretende evaluar un marcador biológico y dinámico en el cáncer, como es la velocidad de crecimiento tumoral, como parámetro pronóstico de ambas tumoraciones. El estudio de esta variable, sugerida como de mal pronóstico en la literatura relacionada con ambos tumores, permitiría esclarecer la agresividad tumoral clínica y definir biológicamente a la tumoración a fin de caracterizar de una forma más certera ambos tipos de cáncer y con ello mejorar tanto su orientación pronóstica como su actitud terapéutica.



# INTRODUCCIÓN

---





## 4. Introducción

### 4.1. Situación actual del melanoma cutáneo

#### 4.1.1. Introducción y epidemiología

A pesar de que el melanoma maligno (MM) representa menos del 5% de los cánceres cutáneos, su impacto sanitario es marcadamente elevado, con una tasa estimada anual de 50,000 muertes a nivel mundial. El MM es una tumoración maligna de estirpe melanocítica potencialmente letal que representa actualmente hasta el 75% de las muertes producidas por el cáncer cutáneo.(3) Su localización más frecuente es la piel aunque se ha descrito en el epitelio de las mucosas, en la conjuntiva, en la retina y en las leptomeninges.

La incidencia global ha mostrado un incremento progresivo en los últimos 50 años, hasta la situación actual, en la que se diagnostican cerca de 200,000 nuevos casos anualmente.(4) La incidencia de melanoma en caucásicos es inversamente proporcional a la distancia al ecuador. Así, Nueva Zelanda y Australia tienen la mayor incidencia anual de MM a nivel mundial.(5) Queensland, Australia, determinó en 2002 una incidencia anual de 82,1 casos de MM invasor por 100,000 habitantes/año en el sexo masculino y de 55,3 por 100.000 habitantes/año en el sexo femenino.(5) En Nueva Zelanda en 1999, la incidencia cruda anual de MM invasor fue de 77,7 por 100,000 habitantes/año.(6) En Europa, la mayor incidencia en varones aparece en Alemania, Noruega, y Suiza, mientras que Dinamarca, Islandia, Noruega y Suiza muestran la mayor incidencia en mujeres.(7)

Estados Unidos es un buen ejemplo que refleja el incremento a nivel mundial de la incidencia de MM. Así, en el año 1992 la incidencia era de 18,2 por 100,000 habitantes; en 2004 esta incidencia llegó a 26,3 por 100,000 habitantes.(8) En 2014 se estima que 76,100 pacientes serán diagnosticados de MM, con 9,710 muertes relacionadas con el mismo.

En Australia se ha detectado una estabilización juvenil y un incremento de la incidencia del melanoma en la población mayor de 65 años.(9)

En Europa existe un incremento de la incidencia en países del norte, con un marcado carácter cultural acompañado de un descenso del número de casos en la juventud y un aumento en las personas mayores de 65 años.(10) En el caso de España, país en el que los

datos epidemiológicos son escasos, a partir de informes aislados se estima que la incidencia es de 2,4 casos anuales por cada 100,000 hombres y de 4,99 casos anuales por cada 100,000 mujeres (incidencia en el periodo comprendido entre 1993-6).(11)

## 4.1.2. Factores de mal pronóstico en el melanoma cutáneo

### 4.1.2.1. Factores de mal pronóstico integrados en la guía actual del estadificación del melanoma

Actualmente existen una serie de factores pronóstico con implicación terapéutica globalmente aceptados en el MM que se encuentran incluidos en la séptima edición de la American Joint Committee on Cancer (AJCC) ([Tabla 1](#)). Estos parámetros incluyen los siguientes factores clínico-patológicos: grosor tumoral (Breslow) en milímetros, la presencia o ausencia de ulceración, la afectación nodal clínica, y la existencia de metástasis a distancia.(12,13)

**Tabla 1. Estadificación del MM**

Clasificación		
T	Espesor (mm)	Ulceración/Mitosis
<b>Tis</b>	NA	NA
<b>T1</b>	≤1,00	a: sin ulceración y mitosis <1mm <sup>2</sup>
		b: con ulceración o mitosis ≥1mm <sup>2</sup>
<b>T2</b>	1,01-2.00	a: Sin ulceración
		b: Con ulceración
<b>T3</b>	2,01-4,00	a: Sin ulceración
		b: Con ulceración
<b>T4</b>	>4,00	a: Sin ulceración
		b: Con ulceración

<b>N</b>	<b>Número de Adenopatías metastásicas</b>	<b>Tipo afectación</b>
<b>N0</b>	0	NA
<b>N1</b>	1	a:micrometástasis b:macrometástasis
<b>N2</b>	2-3	a:micrometástasis b:macrometástasis c: metástasis en tránsito/satelitosis sin afectación nodal
<b>N3</b>	4 o más nódulos metastásicos, o nódulos compactados, o metástasis en tránsito/satelitosis con nódulos metastásicos	
<b>M</b>	<b>Localización</b>	<b>Niveles de LDH</b>
<b>M0</b>	No metástasis a distancia	NA
<b>M1a</b>	Metástasis ganglionares, subcutáneas o cutáneas distantes	Normal
<b>M1b</b>	Metástasis pulmonares	Normal
<b>M1c</b>	Otras neoplasias viscerales Cualquier metástasis a distancia	Elevados
<p>T: Características de la tumoración primaria</p> <p>N: Afectación ganglionar</p> <p>M: Afectación metastásica a distancia</p> <p>NA, No aplicable. LDH: Lactato deshidrogenasa</p> <p>*Micrometástasis, son diagnosticadas tras la biopsia del ganglio centinela</p> <p>*Macrometástasis, son definidas como afectación nodal clínicamente detectable y confirmada patológicamente</p>		

El espesor de Breslow es actualmente considerado el factor predictivo más importante de supervivencia en el MM localmente invasivo.(12) La tasa de mitosis (definido como el número mitosis por  $\text{mm}^2$ ) fue introducido en las guías de 2009 como un factor predictivo nuevo, potente, e independiente de la supervivencia de pacientes con melanoma de espesor fino ( $\leq 1\text{mm}$ ). (15)

Esta medida refleja la proliferación tumoral en la fase de crecimiento vertical, y reemplaza al nivel de Clark, que actualmente no se recomienda como criterio de estadificación.

De forma adicional, la biopsia del ganglio centinela es actualmente considerada un procedimiento estándar para la estadificación de los pacientes con un MM >1mm sin afectación clínica nodal y para ser considerada en aquellos casos de MM  $\leq$  1mm con ulceración o con al menos una mitosis por  $\text{mm}^2$ . (12)

Para la AJCC los MM estadio Ia, con un espesor tumoral de Breslow  $\leq$  1mm, la ausencia de ulceración y con un índice mitótico  $<1/\text{mm}^2$ , la exéresis quirúrgica es el tratamiento de elección, y este grupo presenta un excelente pronóstico con una supervivencia a largo plazo del 96% en 20 años de seguimiento.(16)

En contraste al grupo previo, los pacientes con melanoma avanzado tienen un pronóstico sombrío, con unas tasas de supervivencia a los 5 años de seguimiento del 40% en los MM estadio III y tasas de supervivencia del 33% a 1 año en los estadio IV.(12)

Entre ambos estadios, nos encontramos a los pacientes clasificados dentro de los estadios IB y II, cuyo pronóstico resulta difícil de definir. De esta forma, si bien es cierto que la guía de la AJCC define de forma general las probabilidades de progresión tumoral de este subgrupo, también lo es que el elevado número de pacientes que conforman este grupo hacen que exista una gran variabilidad en la definición del pronóstico individual de cada caso dentro de cada estadio. (13,17)

Sin duda, este grupo de MM IB y II contribuyen de forma clave en la mortalidad del MM debido al número de pacientes que son clasificados en estos estadios y al hecho de que la probabilidad de progresión de éstos alcanza el 25% de los casos.(8) Esto queda reflejado en el hecho de que a pesar del generalmente aceptado buen pronóstico de los MM de espesor fino ( $\leq$  1mm) hasta un 15% de las muertes por MM se producen en este grupo.(18)

Por lo tanto, resulta imprescindible identificar nuevos parámetros que permitan definir el riesgo de progresión tumoral en el MM con la finalidad doble de esclarecer de forma más certera el pronóstico y de establecer terapias personalizadas.

#### 4.1.2.2. Factores de mal pronóstico en el melanoma

##### 4.1.2.2.1. Factores clínico-patológicos

Existen una serie de marcadores clínico-patológicos que han demostrado un valor predictivo independiente en la supervivencia del MM.

Respecto al **sexo**, las mujeres con melanoma presentan una mejor supervivencia respecto a los hombres, posiblemente relacionado a las diferencias en la biología tumoral o a la interacción tumor-huésped.(19) La ventaja de supervivencia se ha descrito en todos los estadios tumorales, en los que las mujeres presentan una mejor supervivencia específica por MM (HR 0,62-0,74) y un menor riesgo de desarrollar metástasis nodales (HR 0,58-0,7) que los varones.(20) El valor de esta importante variable, considerada por algunos autores como un factor pronóstico independiente, (20) ha sido no obstante analizada recientemente por Kindem y colaboradores, a partir del análisis de 1,607 casos consecutivos de MM localizado. En éste concluyen que la mayor supervivencia de las mujeres sobre los hombres no persiste tras la realización del ajuste para múltiples variables pronósticas, como el lugar anatómico, el espesor de Breslow, la tasa mitótica, y la ulceración.(21)

El **lugar anatómico del MM primario** ha sido identificado como otro factor pronóstico independiente de la supervivencia tumoral, siendo aquellos MM localizados en cabeza y cuello los que presentan peor supervivencia libre de enfermedad(SLE). (22) Fadaki y colaboradores observaron cómo los MM localizados en cabeza y cuello mostraban la menor tasa de afectación de ganglio centinela(10,8% con respecto al 19,3% en tronco y 16,8% en extremidades;  $P=0,002$ ) pero la peor SLE (supervivencia libre de enfermedad) a los 5 años ( $p<0,0001$ ) comparado con las otras localizaciones. Análisis multivariantes corroboraron la importancia de la localización del MM en cabeza y cuello, confirmando este asentamiento como un factor predictivo independiente de disminución tanto de SLE como de supervivencia global(SG,  $P<0,001$ ) con respecto a otras localizaciones anatómicas.(23)

Otro estudio, usando como control las extremidades superiores, mostró una reducción de la supervivencia relativa, con un riesgo de muerte de 1.65 ( $P<0,001$ ) para aquellos casos de MM de cabeza y cuello en varones, mientras que el tronco fue la localización tumoral de peor supervivencia relativa en mujeres (1,4;  $P<0,001$ ). (24)

Desde el **punto de vista histológico** los subtipos de MM nodular y desmoplásico son las variantes asociadas con un peor pronóstico en relación con el lentigo maligno y la variante de MM de extensión superficial.(22)

A su vez, la existencia de linfocitos intratumorales (LIT) aparecen principalmente en MM de espesor fino.(25) Un elevado grado de LIT aparece como un factor predictivo independiente de ganglio centinela negativo (odds ratio 0,67;  $P < 0,001$ ), así como de mejor SLE y supervivencia libre de recurrencia (SLR) del MM en una larga cohorte de pacientes con MM  $\geq 0,75$  mm.(26) Un estudio poblacional de mayor tamaño confirmó estos resultados, mostrando una asociación independiente entre el LIT y la SLE del MM, con una mortalidad específica de MM un 30% menor en pacientes con un LIT leve (HR 0,7 tras ajuste por edad, género, localización y estadio AJCC) y un 50% menor en pacientes con una marcada LIT, comparado con casos de MM sin LIT.(20)

La existencia de múltiples MM primarios en un mismo paciente ha sido descrito en el 1,2-8,2% de las poblaciones europeas y hasta un 23% de los pacientes en poblaciones con elevada incidencia de MM como Queensland, Australia.(22,23) Dos publicaciones recientes muestran una peor supervivencia de aquellos casos con MM múltiples (24,25), datos que contradicen estudios previos.(22,26)

#### **4.1.2.2.2. Marcadores biológicos de progresión**

Las alteraciones genéticas en el MM aparecen como combinaciones particulares de lesiones que interrumpen un preciso grupo de vías moleculares, cada una de las cuales presenta un papel crucial en el desarrollo de esta proliferación neoplásica maligna.(27) (Figura 1)

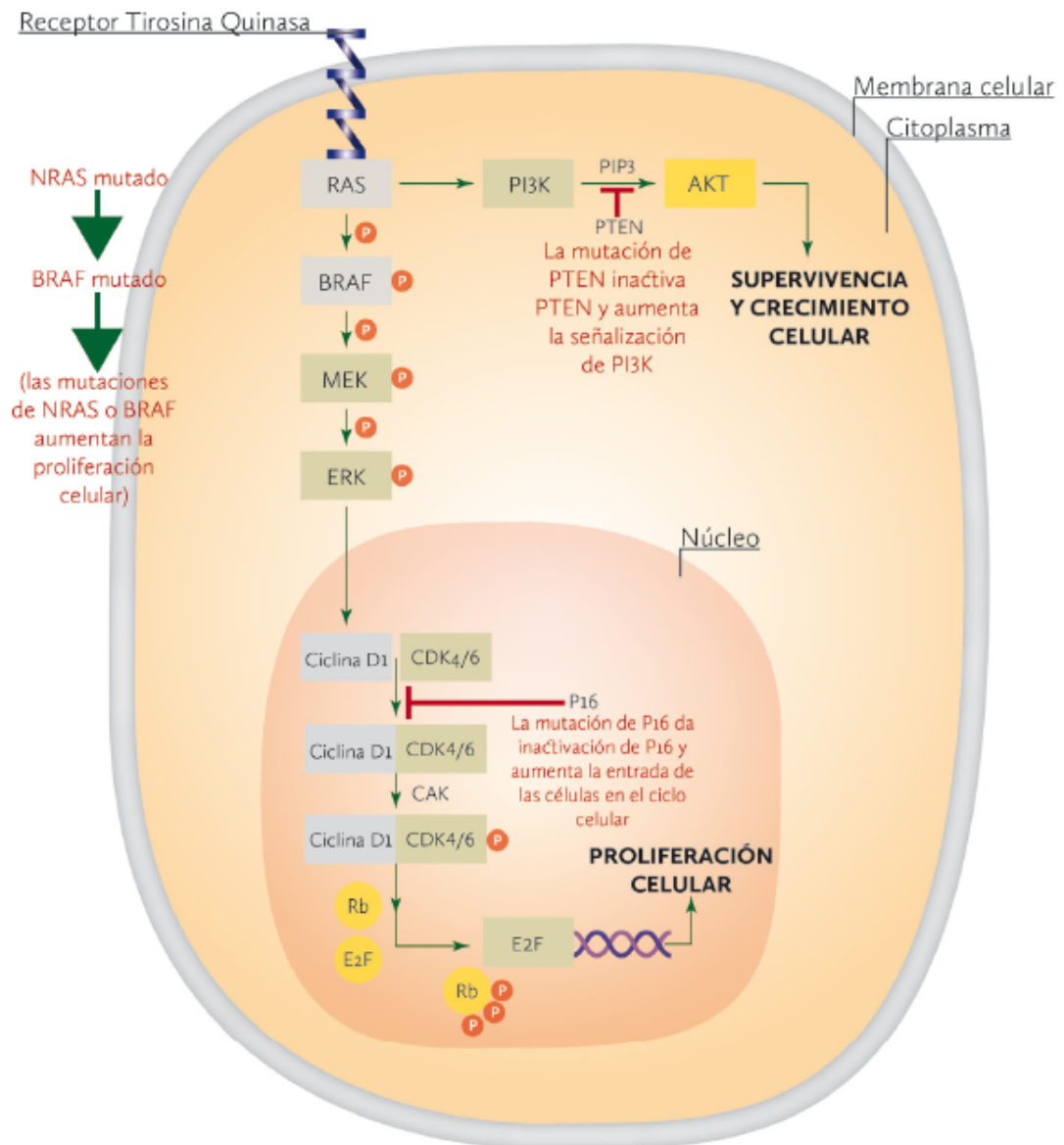


Figura 1. Vías de la MAPK (proteína quinasa activadora por mitógeno) y la PI3K (fosfatidil-inositol 3' quinasa)

El modelo histopatológico de Clark (**figura 2**) describe los cambios histológicos que acompañan a la progresión de una lesión melanocítica desde una lesión benigna hasta el desarrollo de un MM. (28)



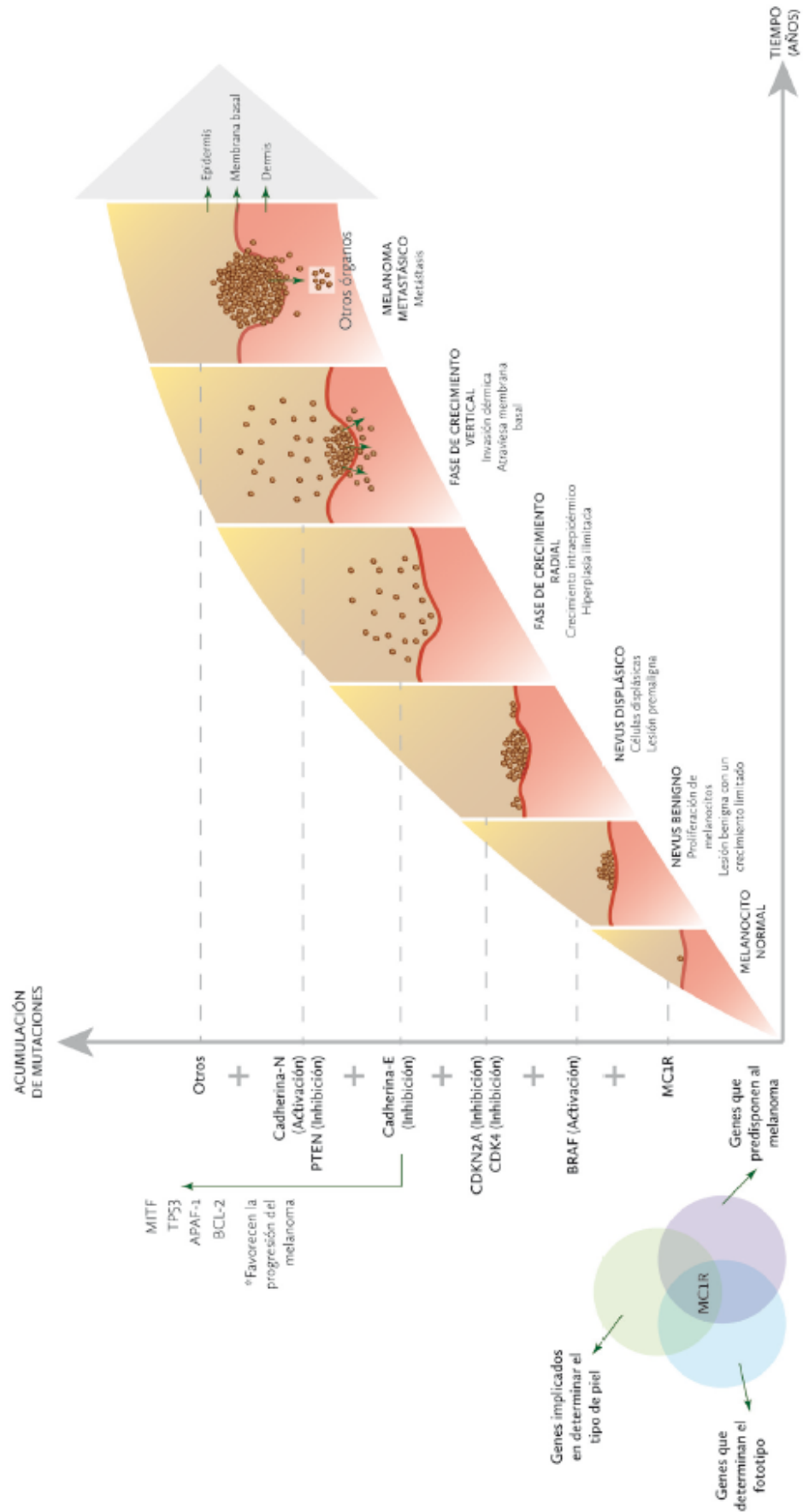


Figura 2. Modelo de progresión de Clark

### a. 1ª fase: La formación de la lesión melanocítica

Según el modelo de Clark,(28) el primer fenómeno en el inicio de una lesión melanocítica es el desarrollo del nevo melanocítico, compuesto por melanocitos sin atipia citológica con tendencia a organizarse en nidos celulares. La evolución benigna de esta lesión melanocítica viene determinada por un crecimiento celular limitado, de forma que un nevo melanocítico raramente progresa a melanoma. La ausencia de progresión de esta hiperplasia celular viene probablemente determinada por un mecanismo de senescencia celular regulado genéticamente.

Desde el punto de vista molecular, la proliferación névica viene determinada por la activación de la MAPK (proteína quinasa activadora de mitógeno, del inglés, MAPK [mitogen-activated protein kinase]), también denominada *ERK 1 / 2* (quinasa reguladora de señales extracelulares, del inglés, ERK [Extracelular signal regulated kinase]). Se trata de una compleja vía que actúa a modo de mediador intracelular en la transmisión de la información procedente de un receptor tirosín-quinasa extracelular a un efector intracelular, que en este caso genera la proliferación y crecimiento celular de los melanocitos. Clásicamente considerada primariamente mitogénica, la activación de la vía de la MAPK también regula la diferenciación, la senescencia y la supervivencia celular no solamente del MM, sino de una amplia variedad de cánceres no cutáneos.(29) La activación patológica de esta vía de proliferación melanocítica se debe principalmente al desarrollo de una mutación activadora de *BRAF*, o en menor medida de *NRAS*. Ambas mutaciones son excluyentes entre sí en cuanto a su aparición, de forma que la presencia de mutación en el *BRAF* va acompañada de ausencia de mutación en la familia *RAS* y viceversa.

El hecho de que estas mutaciones parecen ser el origen del proceso proliferativo melanocítico, unido a que la eliminación in vitro de estas 2 proteínas (*BRAF*, *NRAS*) inhiben el crecimiento del MM(30,31) ha hecho que actualmente se considere el bloqueo de éstas como una de las posibles dianas moleculares terapéuticas del futuro.

#### a.1 Mutación del gen *BRAF*

La mutación en *BRAF*, principalmente una sustitución fosfomimética en el dominio de activación de la quinasa, *V600E*, es la mutación somática más prevalente en el melanoma,

con una prevalencia que oscila entre el 27 y el 70% de los casos, (32,33) confiriendo una activación constitutiva. La distribución con la que aparece esta mutación en función del tipo de fotoexposición solar sugiere una posible relación etiológica con los rayos ultravioleta (UV). Esta alteración, que ha sido detectada en una gran variedad de neoplasias, también aparece en lesiones melanocíticas benignas, de forma que entre 73 y 82% de los nevo comunes y entre el 52 y 80% de los nevo atípicos presentan esta mutación.(33–35) Este hecho establece que, si bien la mutación activadora del gen *BRAF* es la alteración inicial más frecuente en el inicio del desarrollo de proliferaciones melanocíticas, no es en absoluto suficiente para inducir el desarrollo de un MM. De esta forma su evolución hacia el desarrollo de la neoplasia melanocítica maligna dependerá de la existencia de otras mutaciones asociadas. La proteína mutante *BRAF*<sup>V600E</sup> va acompañada de senescencia celular principalmente mediante la inducción concomitante del *INK4a* (quinasa 4 inhibidora del ciclo celular) y de SA-B-Gal (B-galactosidasa ácida asociada con senescencia). La mutación asociada de ésta o de otra vía de senescencia celular todavía no conocida sería una posible causa del desarrollo de MM.(13)

### a.2 Mutación en la familia *RAS*

En contraste con otros tumores sólidos, las mutaciones de la familia del gen *RAS* son poco frecuentes en el MM, de modo que se detectan sólo en el 10-15% de los casos. El MM nodular amelanótico supone la variante de MM que muestra mutaciones de este gen con mayor frecuencia.(36) *NRAS* es el subtipo de la familia *RAS* que con mayor frecuencia se encuentra mutado en los procesos melanocíticos. La mutación activadora de este gen aparece en el 56% de los nevo congénitos, en el 33% de los MM primarios y hasta en el 26% de los MM metastásicos.(37) Su activación se ha correlacionado con los MM nodulares y con la fotoexposición.(38) La activación de *HRAS* ha sido detectada excepcionalmente en el MM, pero sin embargo se pueden encontrar aproximadamente en un 10% de los nevo de Spitz.(39) La presencia de una u otra mutación activadora suponen distintos comportamientos biológicos de las lesiones pigmentadas. Así, la existencia de la mutación activadora en *HRAS*, asociada a mutaciones inactivadoras de *INK4a*, *ARF* (del inglés, "Alternative Reading Frame") y/o *p53* se asocian al desarrollo de MM no metastásicos.(40,41) Por el contrario, la mutación en *NRAS* con deficiencia en *INK4a/Arf* se asocia con melanomas cutáneos con elevada capacidad invasiva y corta latencia, correspondiéndose clínicamente al MM nodular, con gran capacidad de diseminación a distancia.(40,42)

**b. 2ª fase: Desarrollo de atipia citológica e inactivación de genes supresores tumorales**

El siguiente paso en la evolución del MM según el modelo de Clark es el desarrollo de atipia citológica que resulta desde el punto de vista clínico en un nevo displásico. Esta lesión surge de novo en un 85% de los casos, mientras que hasta el 15% surge de un nevo melanocítico juntural previamente establecido.(27)

Las alteraciones moleculares en este estadio incluyen aquéllas que cursan con disrregulación de la velocidad de crecimiento, con alteración en la reparación del DNA y con la pérdida de la capacidad de apoptosis celular.

Entre un 25 y un 40% de los casos de melanoma familiar presentan una alteración característica,(43) que consiste en una mutación en la línea germinal que inactiva al *CDKN2A*, gen simple que codifica 2 proteínas supresoras tumorales, p16 INK4A y p14 ARF (proteína resultante de la lectura en dirección opuesta de los exones compartidos con INK4A; p19 ARF en ratones).(44,45) Este gen de forma aislada incrementa la probabilidad de desarrollar MM a partir de nevo displásico o de novo.

Entre el 25 y el 50% de los casos de melanoma esporádico presentan mutación en otro gen supresor tumoral, conocido como *PTEN* (proteína homóloga de fosfatasa y tensina, del inglés “phosphatase and tensin homologue”).(46)

La aparición de ambas mutaciones de forma aislada no generan el desarrollo de MM ya que existen vías alternativas todavía hoy no conocidas que compensan dichos déficits. La afectación combinada de ambas mutaciones o de una de ellas con mutaciones en otros genes conducen al desarrollo de MM.

**b. 1 *PTEN*, regulador negativo de la fosfatidilinositol-3-quinasa (*PI3K*) y muerte celular**

La vía de *PI3K-AKT* es detectada frecuentemente en un estado de hiperactivación en el MM. Esta vía actúa como segundo mensajero intracelular de múltiples factores de crecimiento o integrinas extracelulares que se unen a receptores quinasa dependientes, que como resultado generan un aumento de la proliferación y supervivencia de las células neoplásicas.

Actualmente se ha descrito que el grado de activación de esta vía, traducido en unos niveles elevados de AKT fosforilada, se correlaciona de forma adversa con la supervivencia global.(47) Este hecho resalta la importancia de esta vía en el desarrollo de la enfermedad.

El principal problema que surge en el estudio de esta vía reguladora es que, a diferencia de la *MAPK*, no se han conseguido identificar aquellos componentes clave que regulan esta compleja cascada de eventos. De éstos, el único que se ha podido caracterizar parcialmente es el *PTEN* supresor tumoral.

El locus de *PTEN*, localizado en el brazo largo del cromosoma 10, es una región cromosómica que frecuentemente se encuentra alterada principalmente en forma de deleciones homocigotas, tanto en el MM como en otros cánceres.(48) Presenta una función supresora tumoral mediante la codificación de una lipoproteín-fosfatasa intracelular que atenúa la activación de la vía del fosfatidil-inositol fosfato( $PIP_3$ ). La mutación de esta molécula genera una pérdida de control de la vía *PIP3-AKT*, generando un crecimiento celular incontrolado e inhibición de la apoptosis celular.

En la misma línea de alteraciones en esta vía reguladora del crecimiento celular, se ha descrito la existencia de mutaciones constitutivas activadoras de *AKT*, que han demostrado un potencial oncogénico importante en la transformación maligna del MM. Dicha mutación se ha detectado con mayor frecuencia en la fase de crecimiento radial del MM. (48)

#### *b. 2 TERT y mantenimiento de la actividad telomerasa en la célula tumoral.*

Los telómeros (del griego *telos*, "final" y *meros*, "parte") son regiones de ADN no codificante, altamente repetitivas, cuya función principal es la estabilidad estructural de los cromosomas en las células eucariotas, la división celular y el tiempo de vida de las estirpes celulares. (49–51) Los telómeros juegan un importante papel en la vida de las células ya que mantienen la integridad de las terminaciones de los cromosomas impidiendo que se adhieran unos con otros, ayudan a que los cromosomas homólogos se emparejen y entrecrucen durante la profase de la meiosis.

Actualmente se consideran a los telómeros como los relojes o temporizadores de la célula, ya que marcan el número de divisiones celulares, hasta que la célula muere.

La telomerasa es una transcriptasa inversa codificada por los genes *TERT* que sintetiza ADN a partir de un molde de ARN. Se trata de una ribonucleoproteína que contiene en su molécula la secuencia *AAUCCC* capaz de crear e insertar los fragmentos *TTAGGG* que se pierden en cada división.

En 1998, Bodnar y colaboradores introdujeron en dos tipos de células humanas normales, telomerasa-negativas, el gen que codifica la telomerasa. En contraste con las células normales que mostraban senescencia y un acortamiento de los telómeros, los clones expresando la *TERT* mostraron telómeros elongados, se dividían vigorosamente y mostraron una reducción de la beta-galactosidasa, un biomarcador de la senescencia. Las células transformadas para expresar la *TERT* mostraron un cariotipo normal y su longevidad superó la normal en más de 20 divisiones.(52)

Es bien conocido que la expresión de la telomerasa está aumentada hasta en un 90% de los cánceres cutáneos. Sin embargo, actualmente el mecanismo por el cual este modelo específico de activación del cáncer no está claramente definido(53–55).

La detección de mutaciones somáticas activadoras en el promotor del gen *TERT* ha revelado nuevas evidencias acerca de la posible causa de la regeneración de la telomerasa. (56).

Así, la fuerza de la selección discernible que subyace detrás de la ocurrencia de las principales mutaciones del promotor de *TERT* es una aparente creación de novo de proteínas de unión *CCGAA/T* para los factores de transcripción que conducen a un incremento de su expresión génica(56). Estas mutaciones, detectadas por primera vez en línea germinal en una familia con múltiples miembros afectados de melanoma y otros cánceres, diagnosticados todos ellos a edades tempranas y con una alta mortalidad. Como consecuencia de ello, se investigó su presencia en líneas celulares y después en tumores donde se demostró que existen mutaciones en el promotor de *TERT* que aumentan la actividad de la telomerasa, que llevan la firma de las mutaciones producidas por radiación ultravioleta, y que están presentes en un 40% de los tumores primarios. Posteriormente, se ha observado que este tipo de mutaciones parecen ser recurrentes en muchos tipos cánceres (56–58).

Por lo tanto, alteraciones genéticas en la línea de *TERT*-Telomerasa-telómero pueden

jugar un papel futuro clave en la determinación de la agresividad tumoral y en nuevas dianas terapéuticas en el cáncer, y en este caso de forma específica en las neoplasias cutáneas.

### **c. 3ª Fase: MITF, MC1R y diferenciación melanocítica**

Clark propuso que en la evolución natural de un nevo melanocítico la diferenciación celular permite el desarrollo óptimo de esta proliferación celular benigna.

Por ello, el fallo de este fenómeno es un dato necesario para la aparición de displasia. En esta fase de diferenciación se requiere la activación de determinados genes encargados de la regulación del ciclo celular y de la producción del pigmento melánico.

El factor de transcripción asociado a la microftalmía (MITF) se encarga de regular el desarrollo y la diferenciación de los melanocitos así como de mantener a las células germinales melanocíticas en edades adultas. La principal alteración genómica del MITF detectada en el MM es una amplificación o ganancia genética en la región del cromosoma 3p14-3p13.(59) Esta amplificación ha sido detectada en un 10% de los melanomas primarios y en un 15-20% de los melanomas metastásicos.(59) Su amplificación conlleva una alteración en la maduración de los melanocitos así como una proliferación celular excesiva. La importancia de esta mutación se objetiva en últimos estudios en los que correlacionan el grado de ganancia genética con una menor supervivencia a los 5 años así como una mayor resistencia al tratamiento quimioterápico. Por ello, el bloqueo de esta proteína podría servir de diana para mejorar la respuesta terapéutica.

El receptor de melanocortina 1 (MC1R) es un receptor formado por varias proteínas G transmembrana del que existen variantes comunes del MC1R que se asocian con el fenotipo pelirrojo, que caracteriza a aquellos individuos que presentan el pelo rojo secundario a la producción de feomelanina en detrimento de eumelanina, complejón clara e incapacidad para el bronceado, con tendencia a desarrollar nevo.(60) La presencia de este tipo de receptor se asocia a una disminución de la capacidad de defensa de la piel frente a la luz UV y un mayor riesgo de desarrollo de MM.

### **d. 4º Alteración en la adhesión celular e invasión: las cadherinas e integrinas**

La invasión local y el desarrollo de metástasis son responsables de la morbimortalidad en el melanoma. En el modelo de Clark, esta fase se corresponde con el crecimiento vertical de la proliferación melanocítica atípica y su posterior invasión linfovascular hasta llegar a los diferentes órganos.

Dentro de las proteínas relacionadas con esta función, las cadherinas y las integrinas juegan un papel fundamental. Por último, en esta fase de crecimiento vertical la detección de mutaciones en genes como *melastatin 1 (TRPM1)*, cuya función es todavía hoy desconocida, se detectan en fases finales del desarrollo en las que el melanoma adquiere capacidad de diseminación a distancia, de forma que su reducción o ausencia de expresión se correlaciona con la capacidad metastásica de la tumoración.

La progresión del crecimiento vertical conlleva la sustitución de la E-cadherina por la N-cadherina,(61,62) que permite la diseminación metastásica por su interacción con otras proteínas de la misma familia localizadas en el mesénquima dérmico y extracutáneo. Paralelamente, el aumento de la N-cadherina genera un acúmulo nuclear secundario de la  $\beta$ -catenina con el efecto proliferativo secundario ya conocido.

Por otro lado, la transición desde la fase de crecimiento radial a vertical se asocia con la expresión de  $\alpha V\beta 3$  integrina.(61,63) Ésta induce la expresión de metaloproteinasa de la matriz tipo 2 (MMP-2), enzima que degrada el colágeno dérmico.(63,64) Junto a ello incrementa la expresión del gen antiapoptótico Bcl2 y estimula la movilidad de las células melanocíticas.

#### **4.1.2.3. La velocidad de crecimiento como posible marcador pronóstico en el melanoma**

A pesar de la afirmación realizada en 1985 por Bernard Ackerman “nadie debería morir de melanoma maligno”(65) en la actualidad sigue sin existir un tratamiento efectivo cuando esta tumoración maligna se ha diseminado. Por ello, los principales trabajos dirigidos hacia el control de la incidencia anual y la tasa de mortalidad asociada al melanoma se han encaminado a la prevención primaria y secundaria.



Diferentes países han realizado en los últimos años diferentes estudios epidemiológicos con la finalidad de establecer la eficacia de las campañas preventivas en la incidencia y mortalidad anual de melanoma. Así se ha podido constatar la existencia de un aumento de la incidencia del melanoma cutáneo, cifrada entre un 3 y un 7% anual en Europa (10,66,67). Parte de este aumento es atribuible a una mejor y precoz detección de melanoma, debido a una mayor concienciación de la población y a un mejor conocimiento de la enfermedad por parte del colectivo médico(66). Otra parte significativa de este cambio de incidencia se atribuye a la modificación del comportamiento social respecto a la exposición solar, a formas de corto tiempo de forma intermitente desde mediados del siglo XX. (68,69) Sin embargo, el aumento de la incidencia no es homogénea, y ello se atribuye fundamentalmente a los melanomas delgados (<1mm) frente a una incidencia estable de melanomas de gran espesor(>2mm). Lo que resulta más destacable es la ausencia del descenso de la mortalidad por melanoma, que aparece estable a lo largo de los años.(70–72)

Frente a esta situación se han realizado varios estudios epidemiológicos para hallar la causa de la estabilidad de la tasa de mortalidad, asumiendo la existencia de una correlación positiva entre el tiempo de retraso en el diagnóstico y el espesor tumoral, que es el principal factor pronóstico del melanoma. Sin embargo, la mayoría de los estudios realizados no confirman dicha aseveración(73–75). De esta forma, se observó que mientras la significación se mantiene cuando se analizan los melanomas de crecimiento superficial, esta correlación se pierde en los melanomas nodulares.

Recientemente se ha propuesto que la causa de estas discordancias podría ser debida a que la velocidad de crecimiento de los melanomas no es uniforme de forma que se pueden distinguir 3 variantes ([tabla 2](#)).(76)

**a) El melanoma tipo I**, sería la **variante de crecimiento rápido de melanoma** (MCR, >0,5 mm/mes), que epidemiológicamente presenta una incidencia estable. Se trata de una forma de melanoma que puede aparecer en cualquier región corporal, pero con predilección con zonas de fotoexposición crónica. De esta manera se observa con una mayor frecuencia en las extremidades y en cabeza y cuello. Esta variante es considerada la principal responsable del mayor número de muertes por melanoma. Su etiopatogenia así como los factores de riesgo son desconocidos.

Tabla 2. Características del MM según la tasa de crecimiento

Variable	Melanoma tipo I	Melanoma tipo II	Melanoma tipo III
<b>Incidencia</b>	Estable	Aumento *	Aumento**
<b>Tasa de crecimiento</b>	Rápida	Lenta	Muy lenta
<b>Mutaciones BRAF</b>	Ausente	Presente	Ausente
<b>Pronóstico</b>	Malo	Bueno	Bueno
<b>Detección precoz y prevención</b>	No	Sí	Sí
<b>Exposición solar en génesis</b>	No	Sí	Sí
<b>Localización</b>	Variable	Zonas de fotoexposición intermitente, principalmente tronco	Zonas de fotoexposición continua, principalmente cabeza y cuello
<b>Características clínicas</b>	Crecimiento rápido Nódulo amelanótico ¿Aspecto de la lesión precoz?	ABCDE	ABCDE

**ABCDE:** Asimetría, Bordes irregulares, Color variado, Diámetro mayor de 6 mm, Evolución

\*aumento relacionado con la fotoexposición como aspecto social

\*\*aumentado en edades avanzadas

**b) El melanoma tipo II**, sería la **variante de crecimiento intermedio** (MCI, 0,1-0,5 mm/mes) que muestra un aumento en su incidencia. Dicho aumento justifica el incremento global de la incidencia del melanoma, por lo que se la conoce como la variante “epidémica” del melanoma. Se presenta en zonas expuestas al sol de forma intermitente, principalmente en el tronco y las extremidades de población de mediana edad y accesibles por tanto a la detección temprana. En este grupo destaca el hecho que la diferencia de localización de las mujeres en piernas y varones en espalda desde 1990 en adelante ha ido desapareciendo con el paso del tiempo. De hecho actualmente el tronco es la localización predilecta en ambos sexos, probablemente como consecuencia de cambios en los hábitos solares.

**c) El melanoma tipo III**, sería la **variante de crecimiento lento** (MCL, <0,1 mm/mes) que muestra un discreto aumento de incidencia. Se localiza en zonas de fotoexposición crónica, que son accesibles a la detección precoz. Su aumento probablemente sea el resultado del envejecimiento poblacional.

Se han emitido diferentes hipótesis para justificar la naturaleza biológica de esta nueva clasificación. En este sentido, se ha sugerido que mutaciones en el gen *BRAF* (33,35,77), alteración molecular más frecuentemente detectada en el MM y en el nevo, se asocian a los MM localizados en las zonas de exposición solar intermitente que se corresponderían fundamentalmente con el tipo II y en menor medida con el tipo III.

La patogenia de las diferentes variantes de melanoma es difícil de establecer. La génesis y la progresión del melanoma se sucede por un compendio de múltiples y sucesivas mutaciones o fenómenos biológicos, que incluyen la pérdida de la regulación del ciclo celular, la capacidad de crecimiento intraepidérmico, la habilidad de extenderse por la dermis, de invadir linfáticos y/o vasos sanguíneos y, finalmente, la de generar metástasis organoespecíficas.

La existencia de lesiones tumorales malignas no agresivas o de crecimiento lento y agresivas o de rápido crecimiento ya han sido descritas en otros órganos internos tales como el cérvix uterino (carcinoma espinocelular), el endometrio o el estómago (adenocarcinomas) y en la vejiga urinaria (carcinoma de células transicionales). En general, la mayoría de los factores de riesgo tumoral y las lesiones precancerosas verdaderas que son detectables en los programas de detección precoz están fundamentalmente asociados con lesiones tumorales de curso natural prolongado, lo cual explica la incidencia inalterada de las

neoplasia de alto riesgo en estos órganos.(76) La variante agresiva se suele desarrollar de novo y no muestra lesiones precancerosas asociadas, como ocurre con la variante nodular de MM, que aparece sobre piel sana, sin aparente relación con la fotoexposición solar, y que presenta un crecimiento rápido.(78)

Debido al aumento de incidencia de la variante “epidémica” o melanoma de crecimiento lento tipo I de grosor fino la media del Breslow ha sufrido un descenso significativo.(79) Sin embargo, en ningún caso se asocia con un descenso de mortalidad o del número absoluto de melanomas de espesor grueso, cuyo retraso diagnóstico es menor en los melanomas delgados, con un retraso medio de 12 frente a 24 meses. Este fenómeno ha sido descrito en varios estudios(74,80) e implica la necesidad de una caracterización de esta variante de melanoma grueso de crecimiento rápido.(76,81)

La principal dificultad de caracterizar a esta variante de melanoma agresivo es la evidente imposibilidad de realizar un estudio prospectivo al respecto. Por otro lado, el estudio retrospectivo depende de la memoria y de la subjetividad de los pacientes, lo cual supone un sesgo importante pero que por otra parte debe ser asumido.

Grob desarrolló el primer modelo matemático para intentar calcular este dato(82). Así, definió la tasa de crecimiento de un tumor tridimensional como un incremento del volumen tumoral por unidad de tiempo (**figura 3**). Dada la inexistencia de un método aceptado para la medición del volumen, el índice de Breslow se utilizó como equivalente. La determinación del índice de crecimiento temporal del melanoma lo realizó en base a la información aportada por los pacientes y por su familia. En ellos se consideró por una parte el momento en el que se percibió por primera vez la lesión en la superficie cutánea sobre la cual se desarrolló el melanoma (D1), el momento en el que dicha lesión mostró un aumento de volumen en su superficie (D2) y el tiempo de excisión de la lesión (D3). Se realizó la distinción entre aquellos melanomas que se desarrollaron sobre un nevo preexistente de aquellos que aparecieron de novo utilizando diferentes tiempos con el fin de indicar el momento de inicio del crecimiento del melanoma. Así consideró que una lesión era maligna desde el inicio (melanoma de novo) en caso de que el intervalo entre D1 y D3 fuera de 5 años o inferior. Por contra consideró a todas aquellas lesiones con un intervalo de duración mayor de 5 años como melanomas desarrollados sobre nevo preexistentes. Sin embargo esta última suposición genera muchas dudas dado que no se ha realizado una corroboración histológica de dicha suposición<sup>43</sup>.

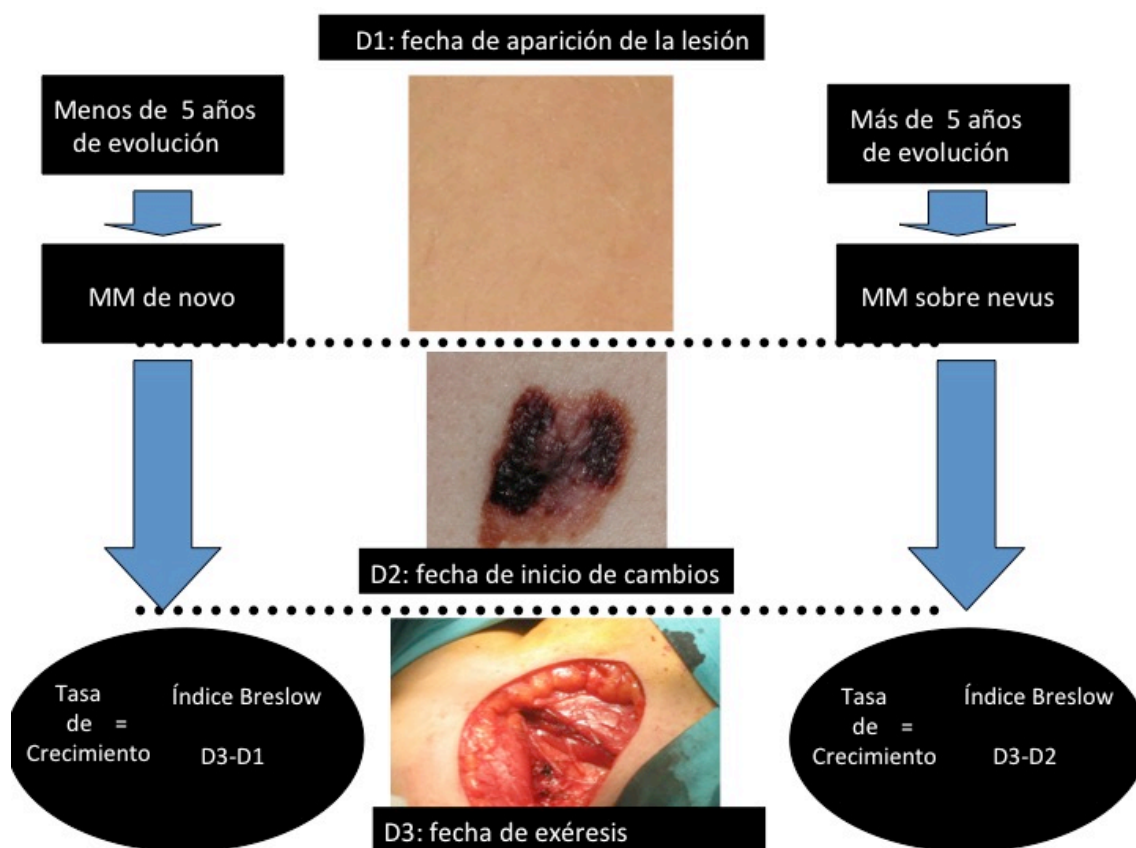


Figura 3. Modelo de cálculo de la VC de Grob

Recientemente Liu y colaboradores(76), utilizando el método de cálculo de la tasa de crecimiento previamente descrito, han aportado diversos datos respecto a esta variante melanocítica maligna de crecimiento rápido. Así hasta un tercio de los melanomas en los que el paciente tiene conciencia de cambio de la lesión pertenecen a este grupo y presentan un incremento del índice de Breslow mayor de 0,5 mm mensuales. Se trata de lesiones habitualmente de novo que aparecen sobretodo en varones jóvenes y pacientes de edad avanzada sin relación con el sexo y en el contexto de un escaso número de nevos y sin signos de envejecimiento solar (ausencia de lentigos, de elastosis solar...). Por ello parece ser una variante con una menor implicación etiológica de los factores de riesgo clásicos del melanoma. Desde el punto de vista clínico destaca su gran variabilidad de presentación, aunque es frecuente que se trate de lesiones amelanóticas, con morfología asimétrica y clínicamente asintomáticas. Por ello, se trata de lesiones difíciles de diagnosticar clínicamente; sólo la reciente introducción de la evolución(E) como criterio del ABCD para detección precoz de melanoma podría ser de utilidad para el diagnóstico de este tipo de tumores.(83) Histológicamente se trata de lesiones que presentan datos de gran agresividad,

con una histología con marcada atipia así como con importante número de mitosis y un índice de Breslow generalmente superior a 2 mm.

Por lo tanto, el MCR es una variante que requiere ser caracterizada desde el punto de vista epidemiológico, clínico y molecular, ya que se trata de una forma biológica que no parece desarrollar los clásicos signos de alarma en su desarrollo ([tabla 2](#)). De la misma forma, el estudio de los factores de riesgo de esta lesión agresiva será otro punto fundamental para llevar a cabo en el futuro las medidas preventivas pertinentes con la finalidad de reducir la incidencia de esta variante tumoral. A su vez, el establecer un carácter dinámico a una lesión biológicamente agresiva como es el MM permitirá correlacionar dicho parámetro con otros procesos dinámicos que podrían tener importancia como factores agravantes de la proliferación celular, como bien podría ser la hipoxia intermitente relacionada con alteraciones de la respiración durante el sueño.

## 4.2. Situación actual del carcinoma epidermoide cutáneo

### 4.2.1. Introducción y epidemiología

El cáncer cutáneo no melanoma (CCNM) es la neoplasia maligna más común a nivel mundial, y es principalmente consecuencia de la exposición crónica a los efectos inmunosupresores y mutagénicos que genera la radiación solar ultravioleta.(3)

Desde 1960, la incidencia global del CCNM está creciendo progresivamente.(84) Las posibles explicaciones a este fenómeno incluyen la destrucción de la capa de ozono, el aumento del uso de inmunosupresores, y cambios en el estilo de vida, en el que se considera una tez morena como rasgo de belleza. Australia es la comunidad que presenta la mayor incidencia de CCNM en el mundo, con una incidencia anual de casi 1200/100,000 habitantes.(84)

El carcinoma epidermoide cutáneo (CEC), con una incidencia a lo largo de la vida de entre un 7 y un 11% en países como Australia, es la segunda neoplasia más frecuente dentro del grupo de los CCNM representando entre el 20 y el 25% de los casos, sólo por detrás del carcinoma basocelular.(1,3,84)

La mayoría de los CEC muestran un comportamiento poco agresivo y pueden ser completamente erradicados mediante cirugía y otros procedimientos dermatológicos. Esto se traduce en una supervivencia global a 5 años superior al 90% tras resección del CEC, (1,3,84) y una tasa de mortalidad de aproximadamente del 1%.(85,86) Sin embargo, existe un subgrupo de CEC que se asocia con una mayor capacidad de desarrollar metástasis nodal y con una elevada morbi-mortalidad (**figura 4**). (87,88)



Figura 4. CEC con afectación nodal

#### 4.2.2. Factores de mal pronóstico en el carcinoma epidermoide cutáneo

En los últimos años diversos autores han orientado su investigación a analizar las características que asocian una mayor probabilidad de que un CEC desarrolle metástasis locorregionales y a distancia. El objetivo principal de estos trabajos es identificar qué CEC tienen un mayor probabilidad de generar complicaciones locorregionales y/o a distancia para poder actuar precozmente sobre este subgrupo de mayor riesgo.

Como consecuencia se ha establecido el concepto de carcinoma epidermoide cutáneo de alto riesgo (CECAR), que se define como toda aquella lesión tumoral de células escamosas que atraviesa la membrana basal y que presenta un alto riesgo de presentar metástasis subclínicas, siendo clínicamente N0. De la misma forma, todos aquellos CEC que no pertenezcan a este grupo se engloban dentro del CEC de bajo riesgo (CECBR).

Los parámetros que definen al CECAR se pueden dividir en 3 subgrupos, que incluyen datos clínicos, histológicos y moleculares.



#### 4.2.2.1. Parámetros clínico-patológicos

##### 4.2.2.1.1. Antecedentes personales

###### *a. Trastornos genéticos*

Existe una serie de enfermedades hereditarias cuyo trastorno genético aumenta el riesgo de desarrollar CEC y presentan habitualmente tumoraciones de alto riesgo de malignización. Estas enfermedades incluyen: el xeroderma pigmentoso, la epidermodisplasia verruciforme, el albinismo oculocutáneo, la disqueratosis congénita, y la epidermolisis ampollosa distrófica recesiva, siendo en esta última patología la principal causa de mortalidad, (Figura 5) con tasas del 80% de fallecimiento en los primeros 5 años tras el diagnóstico de un CEC. (87,89,90)



Figura 5. Diferentes enfermedades que favorecen la diseminación nodal en el CEC

*b. Desarrollo del CEC sobre lesión preexistente*

Los CEC que asientan sobre procesos cutáneos crónicos, grupo en el que se incluyen las cicatrices, las úlceras de evolución tórpida, las áreas quemadas y las irradiadas, presentan un mayor riesgo de diseminación metastásica. Este hecho parece relacionado con una disminución de la E-cadherina que favorece la diseminación de queratinocitos atípicos a través de la epidermis y su posterior invasión dérmica.(91)

*c. Inmunosupresión y trasplante*

El estado del sistema inmune es un factor predictivo del pronóstico de una larga lista de procesos oncológicos. En el caso de procesos cutáneos como el carcinoma de Merkel, las alteraciones en el sistema inmune juegan un papel importante en su desarrollo.(92,93)

En el caso de los pacientes sometidos a trasplante de órgano sólido, el CEC aparece con una incidencia 65 veces mayor con respecto a la población general y representa el CCNM más frecuente, con una incidencia de 3:1 en comparación con el carcinoma basocelular. (94)

Las tasas de recurrencia, metástasis locorregional, y de supervivencia relacionadas con el CEC difieren según el tipo de trasplante. Así, dentro del grupo de los pacientes sometidos a trasplante de órgano sólido, el trasplante cardíaco es considerado el de mayor riesgo para el desarrollo de CEC y CECAR.(94) De forma decreciente en riesgo le seguirían el trasplante de pulmón, riñón, e hígado. En cuanto a pacientes que presentan un proceso hematológico, aquellos que presentan mayor tendencia a desarrollar CEC y CECAR son el grupo formado por pacientes con leucemia linfática crónica y casos con linfoma linfocítico de célula pequeña.(95)

La incidencia acumulada de desarrollar un CEC se incrementa de forma progresiva con la duración de la inmunosupresión (incidencia del 7% tras 1 año de inmunosupresión frente a un 45% a los 11 años y un 70% a los 20 años). De la misma forma, hasta un 66% de los pacientes desarrollarán un 2º CEC en los primeros 5 años tras el desarrollo del primer tumor escamoso maligno.(96)

La tasa de recurrencia del CEC es mayor en pacientes inmunodeprimidos (39% en 5 años de seguimiento) que en inmunocompetentes (15% en 5 años de seguimiento),(97) y la tasa de mortalidad en pacientes sometidos a trasplantes alcanza el 5% comparado con incidencia menor del 1% en pacientes inmunocompetentes.(98) Cuando estos datos se analizan en términos de supervivencia los pacientes trasplantados de órganos con CEC metastásico muestran tasas del 56% en 3 años de seguimiento, similar a la supervivencia de pacientes con carcinoma epidermoide no cutáneo de cabeza y cuello. (98)

El hecho de que los CEC metastásicos en pacientes inmunodeprimidos presenten en muchos casos unas dimensiones (menor de 2 cm de diámetro horizontal y menor de 2 mm de espesor vertical histológico)(98) que en pacientes inmunocompetentes evolucionan favorablemente sugieren la posible existencia de alteraciones moleculares no descritas que justificarían este potencial de malignidad elevado.

#### **4.2.2.1.2. Datos clínicos del carcinoma epidermoide cutáneo**

##### *a. Tamaño de la lesión*

El tamaño de la lesión primaria ha sido descrito en múltiples estudios como un importante factor predictivo para el desarrollo de metástasis nodales.(99–101)

Los resultados obtenidos en el primer estudio prospectivo de una serie de más de 1000 pacientes con CEC, establece que el tamaño tumoral horizontal es un parámetro independiente de riesgo de metástasis en el CEC. De esta forma, el riesgo de metástasis en lesiones menores o iguales a 2 cm es de 0.01%. En contraste, los tumores de más de 2 cm desarrollan metástasis en un 10% de casos (**figura 6**). De ellos, los que se encuentran entre 2 y 5 cm desarrollan metástasis en el 7% de los casos, mientras que los que superan los 5 cm de tamaño desarrollan metástasis hasta en un 20% de casos.(1,102)

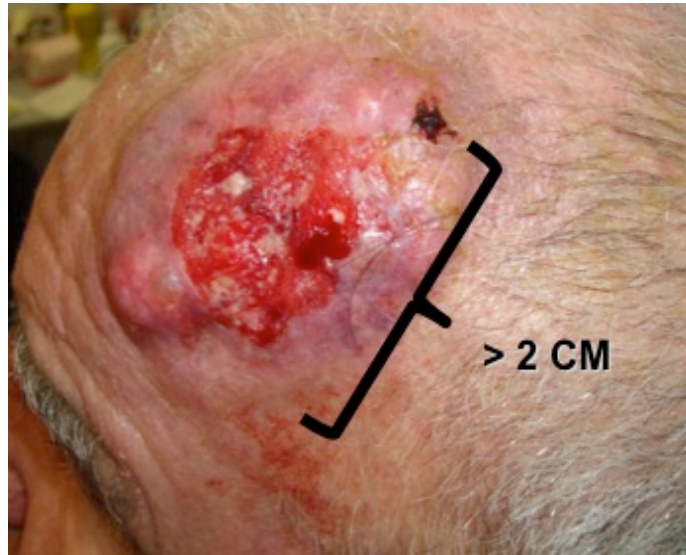
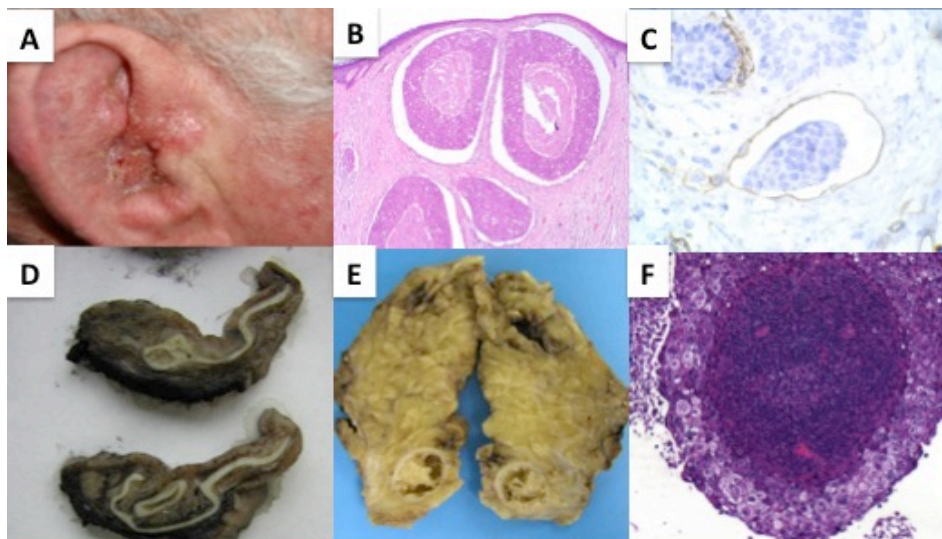


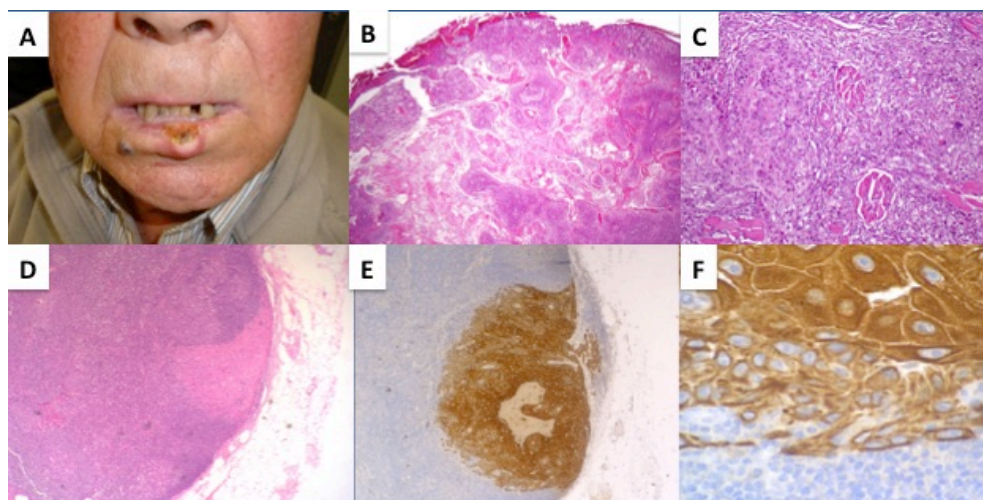
Figura 6. CEC mayor de 2 cm

*b. Localización*

Las áreas que muestran una mayor incidencia de CEC metastásicos son el pabellón auricular y el área no mucosa de los labios, con valores que oscilan entre el 20 y el 30 % (figuras 7 y 8). (100,103)



**Figura 7. A-D. Paciente de 70 años con CEC en pabellón auricular.** A y D. Tumoración carnosa que infiltra al conducto auricular externo. B y C. Histológicamente se caracteriza por una tumoración de células escamosas mal diferenciado con invasión linfovascular. (B, Hematoxilina-eosina x40; C, Inmunotinción CD31 x100) E. Glándula parótida, que presenta una tumoración nodular. F. La tumoración parotídea está formada por una proliferación de células escamosas mal diferenciadas, siguiendo un patrón similar a la tumoración primaria. (Hematoxilina-eosina, x40).



**Figura 8. CECAR sometido a ganglio centinela.** A. Varón de 65 años con CEC en labio inferior. B y C. Proliferación escamosa atípica invasiva con acantosis e invasión perineural. D-F. Invasión del ganglio centinela por células escamosas atípicas. (D, Hematoxilina-eosina x40; E, Hematoxilina-eosina x100; F, Inmunotinción con panqueratina x100)

Otras localizaciones, que se podrían considerar de riesgo intermedio, incluirían el cuero cabelludo (principalmente la sien), el área perineal y genital, y las partes acras (manos y pies). (86) Por otra parte, de forma proporcional, es importante tener en cuenta que las áreas no fotoexpuestas, como el periné, la región sacra y las plantas de los pies, presentan una mayor tasa de metástasis que las zonas de fotoexposición crónica.(104)

### *c.Recurrencia*

La recurrencia tumoral suele ir asociada a un mal pronóstico en los procesos neoplásicos cutáneos.

De esta forma, estudios comparativos en CEC recurrente frente a no recurrente basado en la tasa de metástasis linfática a los 5 años de seguimiento (15% (CEC recurrente) frente a 2% (CEC no recurrente); $P < 0,0001$ ) concluyen que esta variable es un importante factor de riesgo en el CEC.(105)

Clayman observó que la recurrencia se relacionaba con el tamaño tumoral, de forma que tumoraciones de mayores dimensiones se asociaban con mayor tasa de recidivas (2,4cm frente a 1.5 cm,  $P < 0.0001$ ). A su vez, presentaban con mayor frecuencia invasión perineural (24% frente a 10%), invasión linfovascular (17% frente a 8%), e invasión del tejido celular subcutáneo (30% frente a 10%), comparado con lesiones no recurrentes.(86)

Por otro lado, la recurrencia se asocia de forma relevante con la exéresis de un CEC con márgenes postquirúrgicos afectos. De esta forma, hasta el 50% de los pacientes con margen positivo recurrirá con el consecuente riesgo incrementado de desarrollo de metástasis.(106)

#### **4.2.2.1.3. Parámetros histológicos del carcinoma epidermoide cutáneo**

##### *a. Espesor tumoral y nivel de Clark*

Actualmente, el espesor tumoral se considera el factor predictivo independiente de metástasis más importante.(102)

El análisis obtenido a partir de la mayor serie prospectiva de CEC publicada por Brantsch, revela la existencia de 3 grupos de riesgo en base al espesor tumoral.

El grupo de bajo riesgo sería aquel formado por los pacientes cuyas tumoraciones presentasen un espesor tumoral menor o igual a 2 mm. Esta población presentaría un riesgo prácticamente nulo de desarrollar metástasis a distancia.

En segundo lugar estaría el grupo de riesgo intermedio, compuesto por aquellos pacientes con CEC de espesor tumoral entre 2 y 6 mm. Este subgrupo presentaría una incidencia de desarrollo de diseminación tumoral de un 4% a lo largo los siguientes 5 años de seguimiento.

Finalmente, el grupo de alto riesgo sería el formado por todo aquel paciente que presente un CEC cuyo espesor tumoral sea igual o superior a 6 mm. Esta población desarrollaría metástasis hasta en un 16% de los casos. (102)

Tras el análisis de posteriores estudios, se considera un espesor de 4 mm como punto de corte más sensible para separar al CEC de bajo riesgo y al CEC de alto riesgo de diseminación sistémica. Por otro lado, los CEC con espesor tumoral menor de 2 mm presentan un riesgo prácticamente nulo para el desarrollo de enfermedad a distancia.

Por otra parte, durante los últimos años el nivel de Clark ha adquirido un papel importante dentro de los factores predictivos para el desarrollo de un CEC metastásico.

Así, recientemente se han publicado tasas de desarrollo de metástasis en aquellos CEC que superan el tejido celular subcutáneo e invaden músculo (4,1%) y en aquellos que alcanzan el cartílago o el hueso (12,5%)(107,108). De esta forma, Friedman y colaboradores son los primeros en situar el nivel de invasión dérmica a la altura del índice de Breslow, a partir de un estudio de 63 casos metastásicos en los que el espesor tumoral fue en todos los casos superior a 4 mm y la lesión invadía la dermis reticular y otras estructuras en profundidad (Clark IV o superior). (107,108)

En este sentido, la AJCC incluyó en su última clasificación de estadificación del CEC como parámetro de mal pronóstico a un nivel de Clark  $\geq$ IV, junto a otros factores incluidos en la **tabla 3**. (109)

Por lo tanto, el nivel de Clark presenta un valor pronóstico importante en la evaluación de la capacidad metastásica de un CEC.(109)

Tabla 3. Clasificación de la AJCC TNM (Tumor, Node, Metastasis)

Estadificación de la AJCC del CEC. Estadificación de T y factores de riesgo	
TX	Caso no medible
T0	No evidencia de tumor primario
Tis	Carcinoma in situ
T1	CEC con dimensión máxima $\leq 2$ cm y $< 2$ factores de alto riesgo*
T2	CEC con dimensión máxima $> 2$ cm o $\geq 2$ factores de alto riesgo*
T3	CEC con invasión del hueso maxilar, mandibular, órbita o hueso temporal
T4	CEC con invasión de esqueleto (axial o apendicular), o invasión perineural, de base de cráneo
<b>*Factores de riesgo en el CEC</b>	
Profundidad/ Invasión	$>2$ mm Nivel de Clark $\geq$ IV, o Invasión perineural
Localización Anatómica	CEC en pabellón auricular CEC en área labial pilosa
Diferenciación	Tumoración pobremente diferenciada



### *b. Grado de diferenciación tumoral*

El grado de diferenciación tumoral es un hallazgo que en el CEC, y de forma común con el resto de procesos oncológicos, presenta un valor importante en el establecimiento del pronóstico de un proceso neoplásico maligno.

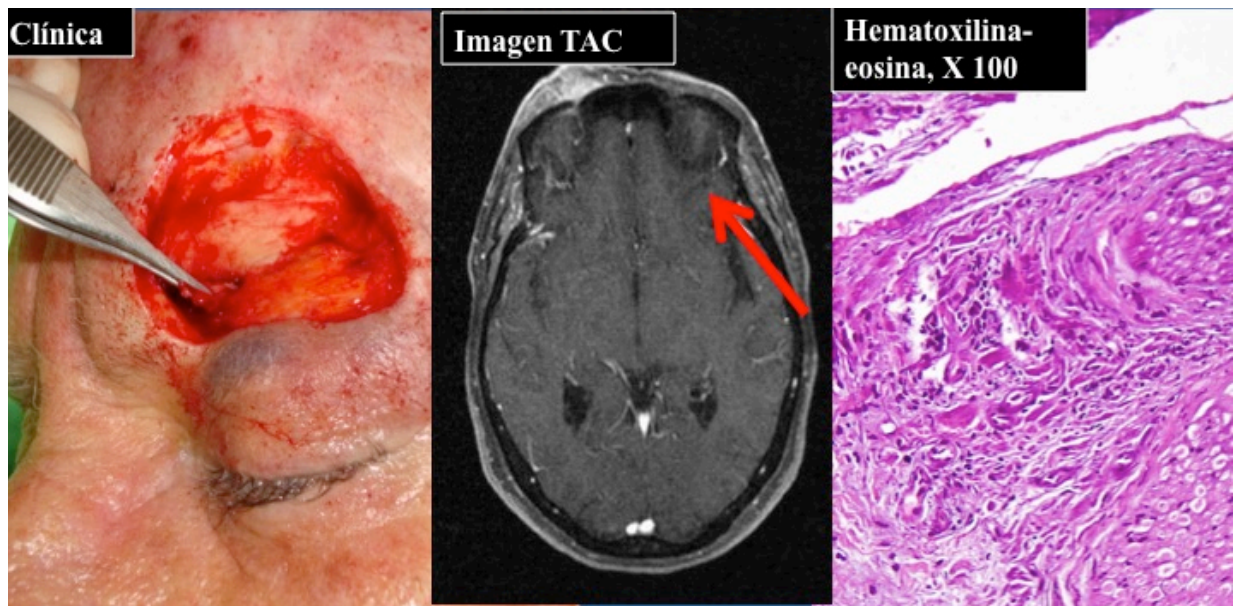
En un estudio de 571 pacientes con CEC, existió una diferencia significativa en la tasa de metástasis para lesiones de alto grado frente a otros grados (17% frente a 4%;  $P=0,004$ ).<sup>(99)</sup> Otro estudio de un elevado número de pacientes apoya el mayor riesgo de malignización de aquellos CEC de alto grado frente a otros (44% frente a 5%;  $P<0,01$ ).<sup>(110)</sup>

El grado de diferenciación tumoral se asocia a su vez con una mayor frecuencia de recurrencias precoces. Por otra parte, si bien la existencia de una mala diferenciación implica un aumento de riesgo de metástasis a distancia, (2,9 veces mayor riesgo de metástasis y de muerte comparado con la forma bien diferenciada), parece que una buena diferenciación tumoral también se puede asociar al desarrollo de enfermedad avanzada.<sup>(110,111)</sup>

Si analizamos el patrón arquitectural del CEC, determinados subtipos histológicos (CEC acantolítico, adenoide, y de células aisladas), son un factor de riesgo adicional a considerar junto al grado de diferenciación tumoral.

### *c. Invasión perineural*

Este fenómeno ocurre en aproximadamente entre el 5 y el 10% de los pacientes con CEC, habitualmente como un hallazgo incidental.<sup>(86,110,112)</sup> Sin embargo, la evidencia histológica de invasión perineural (IPN) parece asociada con un incremento significativo en tasa de recurrencia y de metástasis a distancia (**figura 9**). Este hecho queda reflejado en un estudio realizado en la Clínica Anderson, Texas, hubo un incremento significativo tanto de metástasis regionales (35% Vs 15%;  $P<0,005$ ) como a distancia (15% Vs 3.3%;  $P<0,005$ ) en pacientes con IPN comparados con aquellos que no la mostraron.<sup>(113)</sup>



**Figura 9. Hallazgos clínicos, de imagen e histológicos de invasión perineural**

La importancia de la IPN no sólo radica en riesgo de diseminación locorregional, sino también en la morbilidad secundaria a diseminación perineural por los nervios craneales, habitualmente el nervio facial y el trigeminal, y en peor tasa de supervivencia en un seguimiento a 3 años (64% en CEC con IPN frente a un 91% en CEC sin IPN;  $P=0,002$ ) (114)

La evaluación del riesgo de una infiltración perineural en el CEC variará en función del grosor de los nervios afectados y de la existencia de manifestaciones clínicas y/o radiológicas. Respecto al tamaño del filete nervioso, si bien es cierto que la infiltración de grandes troncos nerviosos suponen de por sí un factor de mal pronóstico, los últimos datos publicados acerca de la importancia de la infiltración pequeños nervios separando mejor o peor pronóstico bajo el punto de corte de 0,1 mm de diámetro está en entredicho.(115)

Este hecho ha sido corroborado por estudios más amplios, que señalan que si bien la presencia de IPN es un factor de mal pronóstico en el CEC, éste no varía por el calibre del nervio afecto, sino por la existencia de más factores de riesgo asociados. De ese forma, aquellos casos que presentan únicamente la IPN como factor de mal pronóstico la buena evolución es la norma. Sin embargo, la adición de otros factores pronóstico previamente comentados complica su evolución.(116)

#### d. Invasión linfovascular

Recientes estudios sugieren que la presencia de infiltración linfovascular puede incrementar el riesgo de metástasis. Moore definió la invasión linfovascular como un factor predictivo independiente de desarrollo de metástasis nodal en un análisis multivariante (OR 7,54;  $P < 0,00001$ ).<sup>(85)</sup> En este estudio, el 40% de los pacientes con metástasis nodal presentaba invasión linfovascular en comparación con el 8% de pacientes sin adenopatías. Otros estudios, sin embargo, ponen en duda su impacto en el pronóstico.<sup>(115)</sup>

Las consecuencias de CEC en vasos linfáticos dérmicos, raramente descrito, es desconocido, pero puede incrementar el riesgo de recurrencia y puede explicar el fenómeno de metástasis en tránsito. (figura 10)

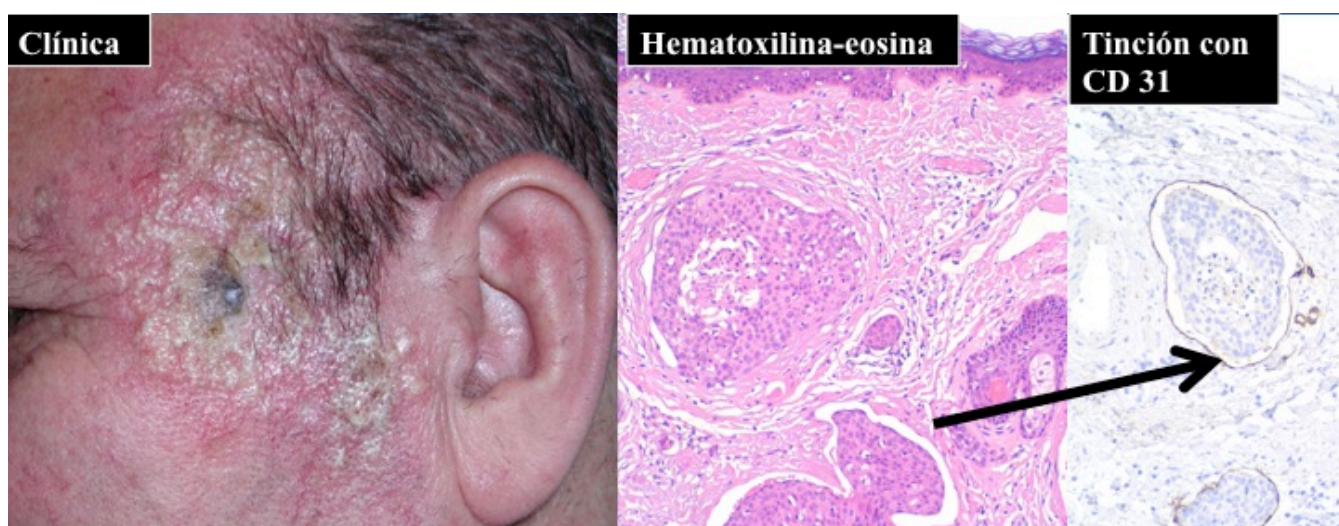


Figura 10. Hallazgos clínicos e histológicos de linfangitis carcinomatosa

#### e. Otros factores

La presencia de queratosis actínica peritumoral, <sup>(117,118)</sup>, la expresión de Ki67, la desmoplasia<sup>(102,119)</sup> y la existencia de una respuesta inflamatoria tumoral formada principalmente por eosinófilos y células plasmáticas han sido propuestos como factores pronósticos en el CEC. Sin embargo, su valor es controvertido y son necesarios más estudios para definir su relevancia real.

#### 4.2.2.2. Marcadores moleculares

El 85% de pacientes con CEC metastásico presentan 1 o más de las características establecidas previamente como factores que definen al CECAR.(109)

Sin embargo, el 15% restante no asocian ningún factor de los anteriormente comentados (CEC de espesor fino y de pequeñas dimensiones), por lo que otras variables todavía hoy no bien conocidas deben tener un papel importante en su patogenia.(110) Dentro de este grupo adquieren importancia determinadas alteraciones moleculares que parecen determinar la existencia de un grupo de CEC con comportamiento más agresivo. De todas ellas, las mutaciones de los genes que expresan el receptor del EFGR, y en menor medida mutaciones en p16 y *CKS1B* se postulan como las principales alteraciones moleculares en el CECAR, con la implicación terapéutica que ello podría conllevar(120–122)

##### *a.Receptor del factor de crecimiento epidérmico (EFGR/ Her 1)*

En un número variable de neoplasias, incluyendo carcinomas de células escamosas mucoso del tracto aerodigestivo, los tumores con sobreexpresión de EGFR presentan estadios tumorales más avanzados, aumento de riesgo de desarrollo de metástasis nodales, recurrencia temprana y disminución de supervivencia.(123)

Existe actualmente un único estudio con un discreto número de casos en lo que se analiza la importancia de aberraciones en EFGR en el pronóstico del CEC. En el análisis, que incluyó 15 casos de carcinoma epidermoide metastásico, la sobreexpresión intensa de EFGR se asoció significativamente con el potencial metastásico del CEC de cabeza y cuello (79% frente a 36%).(124)

La activación aberrante del receptor del EFGR también se observa en el CEC (125) y se ha descrito que regularía negativamente a P53 a través de un mecanismo dependiente de c-Jun(126), lo que revela otro mecanismo de control de p53 en el CEC y permitiría un solapamiento entre las vías de ambas moléculas. EGFR (locus 7p12) pertenece a la familia de receptores tirosinquinasa ERBB y consta de cuatro dominios funcionales, entre ellos uno intracelular con actividad tirosina quinasa. Los principales ligandos del EGFR son EGF y TGF-alfa(127). EGFR activa rutas de señalización responsables de diferentes funciones

celulares como la proliferación, la migración, la evasión de la apoptosis o la angiogénesis(127).

Varias observaciones indican que las anomalías en la expresión del EGFR y/o de sus ligandos son características comunes a diversos procesos hiperproliferativos de la piel y a las neoplasias epiteliales.(128)

En el CEC de cabeza y cuello se observa frecuentemente la sobreexpresión de EGFR o de sus ligandos(129,130), lo que sugiere que esa vía se encontraría constitutivamente activada en estos tumores, y se relacionaría además con un peor pronóstico. También se ha visto sobreexpresado en la mucosa normal adyacente al tumor en pacientes con CEC de cabeza y cuello (130). En el CEC, la sobreexpresión de EGFR parece participar en la adquisición de un fenotipo más agresivo, como se demuestra a partir de algunas series (121,131). Se ha detectado pérdida de la señal de membrana de EGFR en el CEC y la acumulación citoplásmica del mismo, lo que podría reflejar mutaciones en el gen de EGFR. Hasta el 43% de los CEC avanzados muestran sobreexpresión de EGFR (132). La sobreexpresión de EGFR en el CEC puede reflejar la mutación del receptor con acumulación citoplásmica del mismo o la sobreexpresión del receptor en la membrana de la célula tumoral.

Otros mecanismos que justificarían la sobreexpresión de EGFR podrían ser la existencia de proteínas cuya sobreexpresión reduciría la infrarregulación del receptor mediada por ligando, un proceso crítico en la regulación de la intensidad y la duración de la señal de receptores tirosina quinasa, y además parece que EGFR podría activarse por la radiación UV.(133) La sobreexpresión de EGFR se ha demostrado relevante en el CEC metastásico. (121) Por todo ello el EGFR constituye una diana terapéutica prometedora en el CEC metastásico, dada su relevancia en su desarrollo y agresividad y gracias a la existencia actual de moléculas anti-EGFR.(134)

#### *b.p16*

La pérdida de heterocigosidad de *CDKN2A* parece implicada en la progresión desde queratosis actínica a CEC.(135,136) De hecho, la pérdida de función de p16 se observa más frecuentemente en el CEC que en las queratosis actínicas(QA).(137)

p16 es una proteína de bajo peso molecular, inhibidor de quinasas dependientes de ciclina, producto del gen *TSG p16/INK4*.(138) Induce la fosforilación del producto del gen del retinoblastoma (pRb) que actúa como regulador negativo del ciclo celular.(138)

Dentro del CCNM P16 se ha demostrado su implicación en la patogenia tanto en el CEC como en el carcinoma basocelular(CBC). En el CEC, P16 muestra un incremento progresivo de su expresión con la transición desde queratosis actínica a CEC in situ e invasor.(137) Los análisis mutacionales en el gen de P16 revelan alteraciones que sugieren la impronta de la acción de la radiación UV.(139,140) Por otra parte, P16 se ha relacionado con la senescencia de los queratinocitos normales y con la patogenia del carcinoma epidermoide y las lesiones premalignas de la mucosa oral.(141)

### c. *CKS1B*

El gen *CKS1B* codifica la subunidad 1 de las ciclinas reguladoras dependientes de quinasas. Esta proteína se une a la subunidad catalítica de las ciclinas dependientes de quinasas y es esencial para llevar a cabo su función biológica. El mRNA de *CKS1B* parece ser expresado en diferentes patrones a través del ciclo celular en células HeLa, que refleja el papel específico de la proteína codificada. Este péptido ejerce una función reguladora del ciclo celular, interaccionado con otras proteínas, principalmente SKP2 y CDKN1B.(142,143)

El gen *CKS1B* parece tener un papel crítico en la progresión tumoral del CEC. En un estudio realizado por Salgado y colaboradores, se analizó el status genético y proteico de *CKS1B* mediante la aplicación de hibridación in situ mediante fluorescencia (FISH), y mediante el análisis inmunohistoquímico.(144) Este estudio, en el que incluyen un total de 43 CEC y 26 QA, concluyen que la polisomía del cromosoma 1 es un evento frecuente en el CEC (30 de 43 casos) y en las queratosis actínicas (13 de 23 casos). La presencia de amplificaciones en el gen *CKS1B*, que aparecieron en 4 casos (9.3%), se relacionaron en todos los casos con un comportamiento tumoral agresivo, en términos de infiltración perineural, de diseminación nodal, y de CEC en pacientes trasplantados. (144)

En conclusión, las amplificaciones en el gen *CKS1B* podrían ser consideradas como un marcador del CECAR.

### 4.2.3. La velocidad de crecimiento como posible marcador pronóstico en el carcinoma epidermoide cutáneo

Como ya hemos comentado anteriormente, la tasa de mortalidad en el CEC es importante si se tiene en cuenta que estamos hablando de una de las tumoraciones más prevalentes a nivel mundial.

En este sentido, una correcta diferenciación entre el CEC de bajo y de alto riesgo parece fundamental para mejorar la supervivencia, ya que estos grupos no pueden ser manejados de la misma forma. Los CEC de alto riesgo deberían de ser sometidos a unas exploraciones complementarias más exhaustivas, que deberían incluir la realización del ganglio centinela en caso de que fuera técnicamente posible. Por otra parte, la actitud terapéutica debería ser más agresiva en este segundo grupo, dado el elevado riesgo de desarrollar complicaciones. Por último, el seguimiento de ambos grupos debe de ser más estrecha en el caso del CEC de alto riesgo, dado que la detección precoz de la diseminación sistémica mejora la supervivencia.

El comité americano de consenso en patología oncológica (American Joint Committee on Cancer, AJCC), y la red nacional de estudio del cáncer (NCCN, national comprehensive cancer network) proponen en su últimas actualizaciones del año 2010 considerar al carcinoma epidermoide cutáneo como una entidad cuyo tratamiento dependerá de una serie de variables ([tablas 3-4](#))

Uno de los parámetros incluido en ambas clasificaciones considerado de relevancia en la definición del riesgo de diseminación del CEC es la velocidad de crecimiento “rápida”. Si bien es cierto que resulta evidente que un rápido crecimiento puede tener relevancia en la agresividad de la tumoración,(145) actualmente no se ha definido un modelo para calcular la velocidad de crecimiento del CEC si su importancia como factor pronóstico independiente dentro de un posible modelo predictivo de riesgo de afectación metastásica.

Tabla 4. Factores de riesgo de CECAR según la NCCN

Factores de riesgo de CECAR de la NCCN
<p>Area M<sup>1</sup> ≥ 10 mm</p> <p>Area A<sup>2</sup> ≥ 6 mm</p> <p>Tumor mal definido</p> <p>Recurrencia</p> <p>Inmunosupresión</p> <p>Localización en área previamente sometida a radioterapia</p> <p>Localización en área que sufre proceso inflamatorio crónico</p> <p>Tumor de rápido crecimiento</p> <p>Síntomas neurológicos</p> <p>Histología: Tumoración moderada o pobremente diferenciada</p> <p>Histología: Subtipo histológico acantolítico, adenoescamoso, o desmoplásico</p> <p>Histología: Profundidad ≥ 2 mm o niveles de Clark ≥ IV</p> <p>Histología: Invasión vascular y/o perineural</p>
Tumoración de alto riesgo si tiene ≥1 de 12 factores de riesgo
<p><sup>1</sup>M: Riesgo medio: cuero cabelludo, frente, mejilla, cuello.</p> <p><sup>2</sup>A: Riesgo alto: región central de la cara, región periauricular, párpados, periorbitario, pirámide nasal, y labios.</p> <p>*Nota: la cohorte del presente análisis de la localización de riesgo se basa únicamente en aquellos CEC localizados en cabeza y cuello. Los factores de riesgo y datos específicos localizados en áreas B (áreas de bajo riesgo anatómico: tronco y extremidades), manos/pies, y genitales no se incluyen.</p>

Por lo tanto, la definición de la velocidad de crecimiento del CECAR así como su relevancia práctica con respecto al resto de variables probablemente permita explicar el potencial de malignidad de la variante de alto riesgo así como optimizar la actuación terapéutica mediante fármacos que actúen sobre dianas moleculares clave en el proceso de carcinogénesis epidérmica.



## **4.3. Síndrome de apnea obstructiva del sueño y cáncer de piel**

### **4.3.1. Introducción**

La apnea del sueño fue descrita en el pasado antiguo y ha sido redescubierta en los inicios del siglo XX. Sin embargo, a finales de 1990, se reconocieron diferentes tipos de trastornos respiratorios del sueño (TRS), con consecuencias específicas y comorbilidades. Esto fue reflejado en una clasificación revisada propuesta por la Academia Americana de Medicina del Sueño (146) y posteriormente confirmada en la Clasificación Internacional de Desórdenes del Sueño, 2º edición (ICDS-2) (147), publicada en 2005.

De esta forma, se definieron 3 subtipos fundamentales de TRS con respecto a la prevalencia y a las consecuencias de salud, que incluyen al síndrome de apnea del sueño (SAOS), a la respiración de Cheyne-Stokes y apnea central del sueño en el paciente con fallo cardíaco crónico, y el síndrome de hipoventilación-obesidad.

En las 3 condiciones, la hipoxia afecta al funcionamiento del cuerpo humano en diferentes vías, mediante mecanismos específicos. En el presente trabajo nos centraremos en la revisión del SAOS, variante del grupo de TRS que se ha asociado con el desarrollo de cáncer, entre otras comorbilidades.

### **4.3.2. SAOS: definición, prevalencia y principales consecuencias**

El síndrome de apneas e hipopneas del sueño (SAOS), es un fenómeno que se caracteriza por la aparición de episodios repetitivos de obstrucción al flujo aéreo totales (apneas) o parciales (hipopneas) de la vía aérea superior que provocan una desaturación intermitente de oxígeno y desestructuración del sueño.

Su definición se basa en la existencia de síntomas como el excesivo sueño diurno, la alteración del funcionamiento diario, con la existencia de más de cinco eventos obstructivos por hora durante el sueño. La evaluación de los eventos ventilatorios incluye la existencia de apneas, hipopneas, y episodios de incremento de resistencia en las vías aéreas

superiores.(146,147)

La prevalencia de TRS es muy elevada en la población general. Hasta un 20% de la población de mediana edad presenta un número anómalo de TRS y un 4-6% presenta además síntomas secundarios al mismo en forma de hipersomnias diurnas (lo que define el SAOS), porcentajes que además aumentan con la edad. Las consecuencias de este trastorno se han evaluado en diferentes trabajos.(149) Así, actualmente existe evidencia entre la relación causal entre el SAOS y excesivo sueño diurno, con alteración del estado cognitivo, y que incluye un incremento del riesgo de accidentes de tráfico(150,151), de morbilidad cardiovascular, y mortalidad(152,153). Las consecuencias cardiovasculares (por ejemplo, la existencia de arterioesclerosis sin factores de riesgo cardiovasculares clásicos) parece desarrollarse en las etapas tempranas de la enfermedad.(154,155) Este hecho apoya la necesidad de realizar un diagnóstico precoz y un tratamiento temprano, especialmente desde que la tasa de mortalidad es máxima en varones de 50 años, y que posteriormente disminuye con la edad. (156)

Todo ello hace que hoy en día se considere el SAOS como un problema de salud pública de primer orden.(148)

### **4.3.3. La hipoxia intermitente**

La secuencia de desaturación-reoxigenación es un patrón típico compartido en la mayoría de los eventos respiratorios. Esta secuencia, definida como hipoxia intermitente (HI), lleva al estrés oxidativo, con la producción de especies reactivas de oxígeno. (ERO). (157).

Numerosos estudios han mostrado un incremento del estrés oxidativo usando varios marcadores biológicos, en el que también intervienen otros factores como la presencia de diabetes, hipertensión y obesidad. (156–159).

Los niveles incrementados de ERO contribuyen a la generación de moléculas de adhesión (160), a la activación de leucocitos (161) y a la producción de inflamación a nivel sistémico.(162) Junto a ello, estos mecanismos generan daño endotelial vascular y disfunción.(163,164)

De la misma forma, la respuesta simpaticomimética generada, bien definida en el SAOS, puede conducir a una insulino-resistencia incluso en pacientes no obesos, (165)representando una vía accesoria al desarrollo de estrés oxidativo.

El estrés oxidativo se caracteriza por un balance alterado entre la producción y la degradación de ERO. A pesar de que algunos estudios muestran que existe un incremento de producción de ERO en SAOS, el número de estudios es todavía limitados. Así, Barceló y colaboradores (166) describieron una alteración en las capacidades antioxidantes, con una reducción del estado antioxidante total, y un descenso de niveles de vitaminas A y E. En el mismo estudio, el tratamiento con el sistema de presión aérea positiva continua (CPAP) normalizó el estado antioxidante. En 2008, se demostró que la alteración de las propiedades antioxidantes de la albúmina era independiente del índice de masa corporal (IMC), y estaba relacionado únicamente con la presencia de SAOS.(167)

El SAOS, a su vez, se ha asociado con una reducción en la biodisponibilidad de óxido nítrico (ON). Los derivados de ON incluyen el ion nitrosonium que resulta de la autooxidación del ON bajo ciertas condiciones, y el peroxinitrito, que es el productor resultante de la reacción entre el óxido nítrico y el ion superóxido. Este peroxinitrito es generado en situaciones asociadas a estrés oxidativo (ejemplo, hipoxia y reperfusión post-isquemia), particularmente en la pared vascular endotelial.

El peroxinitrito modula la actividad de ciertas enzimas clave en la homeostasis vascular, como el ON sintetasa endotelial y la catalasa. Mediante la inhibición del ON sintetasa a través de la AMP quinasa (168) y la catalasa (169), el peroxinitrito favorece la generación de iones superóxido, induciendo un círculo vicioso que conduce a un incremento local de estrés oxidativo con consecuencias negativas.

En el SAOS, la reducción de la disponibilidad de ON ha sido demostrada, así como un incremento de sus derivados (170). Éste sería un importante determinante en la disfunción endotelial asociada a esta enfermedad obstructiva.

Por lo tanto, la combinación de la hiperactividad del sistema simpático, y el estrés oxidativo, asociados a una determinada carga genética, favorecerán el desarrollo de diferentes co-morbilidades incluidas en la **figura 11**.

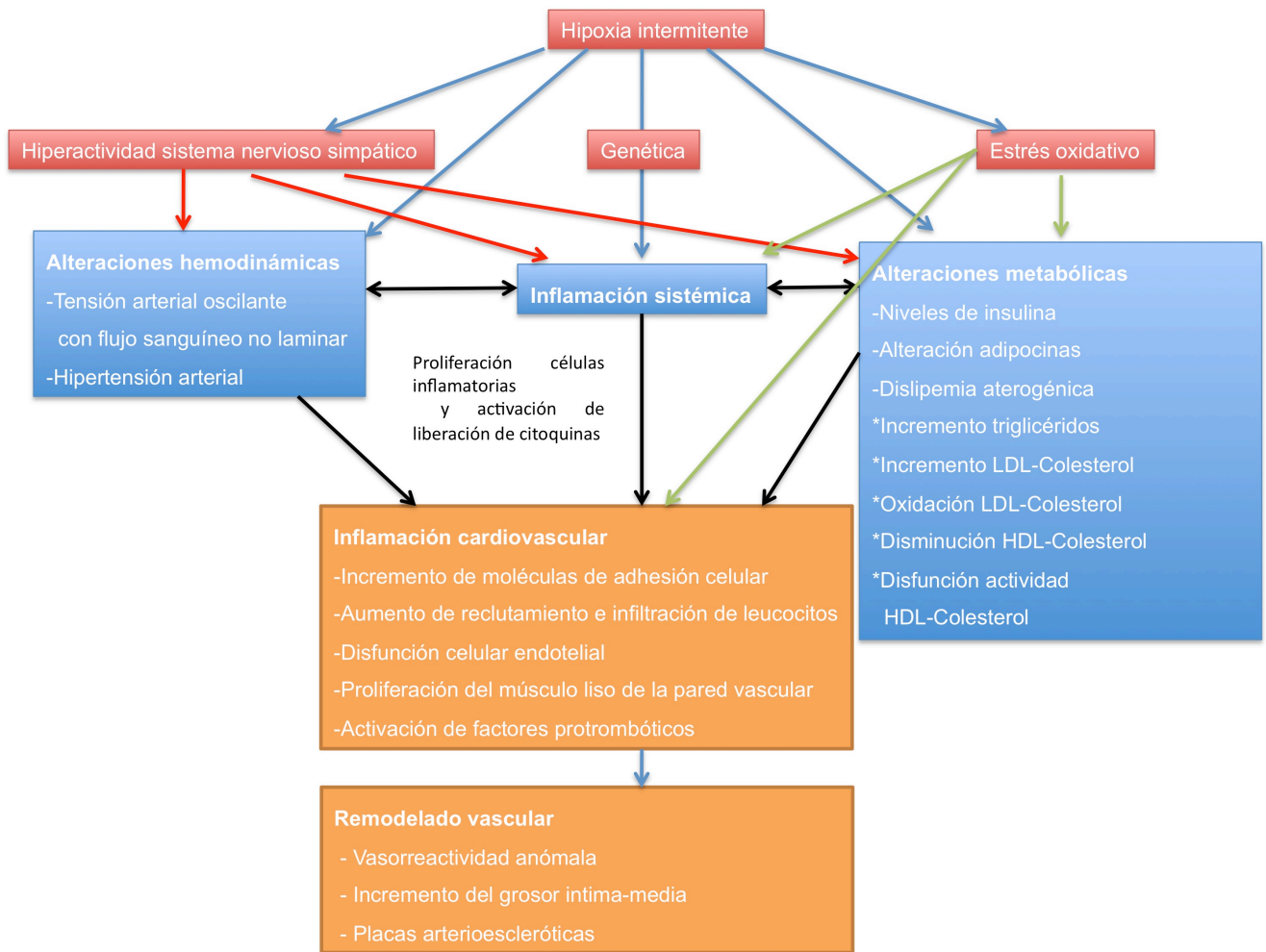


Figura 11. Factores que intervienen en las comorbilidades del SAOS

#### 4.3.4. Síndrome de apnea del sueño y cáncer

Como hemos visto anteriormente, ha sido bien estudiado que los diferentes fenómenos que ocurren durante las apneas e hipopneas (hipoxemia e hipercapnia intermitentes, microdespertares o cambios en la presión intratorácica) son capaces de poner en marcha una serie de mecanismos fisiopatológicos intermedios (activación simpática, disfunción endotelial, estrés oxidativo, inflamación sistémica y alteraciones metabólicas) que se han relacionado con una mayor incidencia de eventos cardiovasculares e hipertensión arterial o una peor evolución de los mismos (figura 11).(172) Sin embargo, la relación entre los TRS y otras enfermedades no cardiovasculares mediadas por alguno o algunos de estos mecanismos fisiopatológicos intermedios ha sido muy poco estudiada.

La hipoxia intermitente es un proceso característico de los TRS, con consecuencias celulares bien documentadas. (151) Su presencia se ha relacionado, entre otras cosas, con la producción de una serie de moléculas implicadas en la carcinogénesis o en un crecimiento acelerado de los tumores. Así, bajo circunstancias de hipoxia celular (ya de por sí existente en el interior de los tumores y agravada por la hipoxemia intermitente), existe un incremento en la actividad del factor de transcripción HIF-1 (del inglés “Hypoxia-inducible factor” ) capaz de regular la expresión de algunos genes que tratan de mediar una respuesta adaptativa. Una de las principales moléculas implicadas en este proceso es el VEGF (del inglés “vascular endothelial growth factor”) que genera un incremento en la neovascularización tumoral que se ha relacionado con un mayor crecimiento de los tumores. Además, el factor HIF-1 ha sido relacionado con la activación de la transcripción de genes que juegan un papel fundamental en una mayor invasión tumoral, inhibición de la apoptosis tumoral en melanomas y fibrosarcomas, una mayor producción de metástasis y una mayor resistencia al tratamiento quimioterápico.(173)

Otro de los mecanismos fisiopatológicos puestos en marcha por la hipoxia intermitente y relacionados con la carcinogénesis es el incremento brusco, en el momento de la reoxigenación tras la hipoxia, de los ROS (del inglés “reactive oxygen species”) pertenecientes al sistema que regula el estrés oxidativo, en especial el ión superóxido ( $O_2^-$ ) capaces de modificar la expresión génica a través de la regulación de algunos factores de transcripción importantes como AP-1 (activador de la proteína 1) y del factor  $K\beta$  nuclear (NF- $\kappa$ B) que, a su vez, producen la activación de la transcripción de algunas moléculas proinflamatorias cuyas concentraciones están aumentadas en los procesos tumorales (factor de necrosis tumoral alfa, interleukina 6 o algunas moléculas de adhesión como ICAM o VCAM).(174)

La relación entre los TRS (generadores de hipoxia intermitente) y el cáncer ha sido muy poco estudiada, pero existen algunas evidencias que invitan a pensar que ambas enfermedades podrían estar asociadas.

Nieto y colaboradores han observado sobre 1522 individuos de la población general seguidos durante 22 años una relación dosis-respuesta entre el índice de apneas-hipopneas y la mortalidad ajustada de cáncer con una OR: 4,8 (IC95% 1,7-13,2) para un IAH>30 respecto al grupo control (IAH<5). En este mismo estudio los autores observaron además que en aquellos pacientes de los que se habían valorado variables oximétricas, la relación

era incluso más intensa.(175) Por su parte Martínez-García y colaboradores, en una amplia serie clínica del Grupo Español de Sueño sobre 8900 pacientes seguidos una mediana de 5 años, observó una mayor incidencia de cáncer en aquellos pacientes con un exceso de TRS (IAH>10), si bien esta asociación desaparecía al ajustar los resultados por la edad y sexo de los pacientes.(176)

Respecto al melanoma cutáneo, en un modelo animal, Farré y colaboradores indujeron un melanoma en 15 ratones mediante la inyección subcutánea de células de melanoma observando que en aquellos especímenes en los que se inducía además una hipoxia intermitente, el volumen del tumor crecía más rápidamente durante los 14 días de observación y se observaba un mayor número de metástasis.(177)

Estos resultados sugiere que es necesaria la realización de más estudios en pacientes diagnosticados de cáncer para valorar cuál es el papel de un exceso de TRS. Un aspecto especialmente interesante sería evaluar la relación que pueden tener parámetros oximétricos que marcan una hipoxia intermitente sobre la agresividad tumoral.



# HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

---





## 5. Hipótesis

Los tumores cutáneos, según la experiencia clínica, no crecen de forma uniforme. Esta heterogeneidad en el crecimiento parece relacionarse con el pronóstico. La velocidad de crecimiento en el cáncer cutáneo es un parámetro que tiene en cuenta la presentación clínica del tumor y el tamaño tumoral y que se relaciona con el grado de agresividad del tumor. La velocidad está definida genéticamente y está probablemente relacionada con el mecanismo etiopatogénico de carcinogénesis. Desde el punto de vista práctico, su definición permitirá mejorar la capacidad predictiva del pronóstico y, por lo tanto, una optimización terapéutica.

## 6. Objetivos

### 6.1. Objetivo principal

Conocer si la velocidad de crecimiento del cáncer cutáneo está relacionada con determinadas características clínicas, genéticas y pronósticas.

### 6.2. Objetivos secundarios

1. Identificar las características epidemiológicas, clínicas, e histológicas del melanoma en base a su velocidad de crecimiento ([Estudio 1](#)).
2. Evaluar el valor de la velocidad de crecimiento como factor pronóstico independiente en el melanoma ([Estudio 2](#)).
3. Analizar la prevalencia de mutaciones BRAF y NRAS en la variante de melanoma de rápido crecimiento ([Estudio 3](#)).
4. Analizar la prevalencia de mutaciones en el promotor de *TERT* en los melanomas de crecimiento rápido ([Estudio 4](#)).

5. Evaluar si la existencia de síndrome de apnea del sueño influye sobre la velocidad de crecimiento (*Estudio 5*).
6. Identificar si la velocidad de crecimiento en el carcinoma epidermoide cutáneo permite discriminar el subgrupo con elevado riesgo de diseminación metastásica (*Estudio 6*).



# MATERIAL Y MÉTODOS

---



## 7. Material y métodos

### 7.1. Consideraciones generales

#### 7.1.1. Fuente de datos

La obtención de la respuesta a los objetivos planteados se llevó a cabo mediante la realización de 6 estudios, representados en la [figura 12](#).

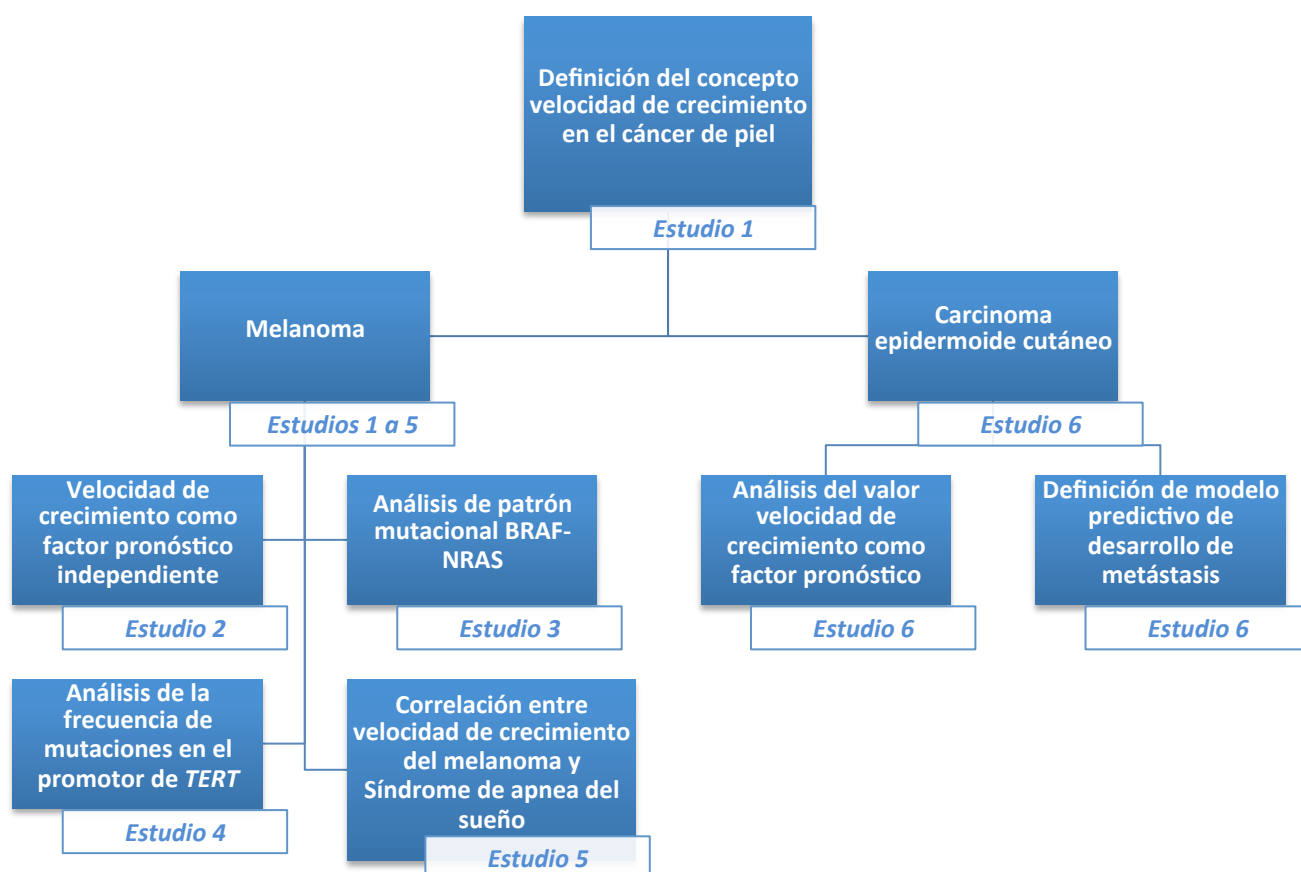


Figura 12. Estructura de la tesis

Para todos los estudios se seleccionaron datos de pacientes incluidos en las bases de datos de MM (*estudios 1 a 5*) y de CEC (*estudio 6*) del Servicio de Dermatología del Instituto Valenciano de Oncología.

La Fundación Instituto Valenciano de Oncología (IVO) es una entidad privada sin

ánimo de lucro. Es uno de los primeros centros monográficos de cáncer que se abrieron en España, que desde su inauguración en 1976 ha sido pionero en el tratamiento de los procesos oncológicos. En la Comunidad Valenciana es el único de sus características y supone un centro de referencia en el tratamiento del CEC y del MM.

La base de datos del melanoma se diseñó en el año 2000. Desde entonces y hasta la actualidad, se han introducido una serie de datos epidemiológicos, clínicos e histopatológicos de los pacientes con melanoma que se recogen de forma prospectiva durante la primera visita en la consulta de dermatología, realizada por dermatólogos expertos en el seguimiento de pacientes con melanoma.(2,43,178)

Todos los datos de la base de datos de melanoma se han procesado de forma uniforme desde el principio por el mismo profesional (Dr. Eduardo Nagore). Los datos se introdujeron tanto para pacientes recientemente diagnosticados de melanoma, casos incidentes, como para los pacientes que acudían para las visitas de seguimiento, casos prevalentes. Se incluyeron aquellos pacientes que tenían el diagnóstico de melanoma confirmado por un patólogo. Siempre que fue posible, en aquellos pacientes que presentaron una biopsia o en los que hubo una extirpación previa, se recuperó la muestra histológica original.

La base de datos de carcinoma epidermoide cutáneo se diseñó en el año 2007. Desde ese momento y hasta la actualidad, se han introducido una serie de datos epidemiológicos, clínicos e histopatológicos de los pacientes con carcinoma epidermoide cutáneo que se recogen de forma prospectiva durante la primera visita en la consulta de dermatología, realizada por dermatólogos expertos en el seguimiento de pacientes con carcinoma epidermoide cutáneo.

Todos los datos de la base de datos de carcinoma epidermoide cutáneo se han procesado de forma uniforme desde el principio por el mismo profesional (Dr. Onofre Sanmartín). Los datos se introdujeron tanto para pacientes recientemente diagnosticados de CEC, casos incidentes, como para los pacientes que acudían para las visitas de seguimiento, casos prevalentes. Se incluyeron aquellos pacientes que tenían el diagnóstico de carcinoma epidermoide cutáneo confirmado por un patólogo. Siempre que fue posible, en aquellos pacientes que presentaron una biopsia o en los que hubo una extirpación previa, se recuperó la muestra histológica original.



Para la realización de estudios moleculares se utilizaron muestras de los pacientes que se encuentran almacenadas en el Biobanco del IVO. Para su utilización, se obtuvo la aprobación de la investigación por el Comité Ético de Investigación Clínica del IVO (el documento del dictamen del Comité Ético de Investigación Clínica del y la firma del consentimiento del Biobanco de cesión de muestras (el documento de consentimiento informado para la donación voluntaria de muestras biológicas para investigación obtenidas en el curso de procedimientos quirúrgicos, terapéuticos o diagnósticos se recoge en el [anexo 1](#)).

Adicionalmente, se obtuvo el consentimiento por escrito de todos los pacientes que participaron en los estudios. El modelo de este documento se recoge en el [anexo 2](#).

Ambas bases de datos cumplen todos los requisitos éticos y están consideradas como una de las bases de datos epidemiológicas más importantes en términos de calidad (218).

### 7.1.2. Variables generales recogidas en las bases de datos

Las variables que se registran en las bases de datos de MM y de CEC se recogen en los [anexos 3 y 4](#).

### 7.1.3. Cálculo de la velocidad de crecimiento

#### 7.1.3.1. Velocidad de crecimiento en el MM.

La descripción original de Grob y colaboradores del concepto **velocidad de crecimiento (VC)** (82) se definió como la razón entre el grosor tumoral de Breslow (en mm) y el tiempo de evolución, considerado como el tiempo en meses desde la detección de aparición de la lesión en aquellos casos de MC novo o el tiempo desde la percepción de cambios en aquellos casos de MC sobre nevo ([figura 3](#)).

En nuestro caso, con la intención de evaluar de forma más certera la agresividad tumoral del MC, definimos la **velocidad de crecimiento modificada (VCm)**, en la que el

índice de crecimiento temporal se definió como el intervalo (en meses) que transcurre entre el momento en el que el paciente percibe cambio en la lesión (T1) y el momento de la excisión (T2), que se obtuvo del informe patológico.

Para definir D1 se consideraron 2 posibilidades: (a) En aquellos casos en los que se detectó un crecimiento volumétrico, definido como un incremento de tamaño en el eje vertical de la lesión (adquisición de relieve, crecimiento excrecente en la piel), se estableció T1 como el tiempo del crecimiento volumétrico de la lesión. (b) En aquellos casos en los que no se detectó el crecimiento volumétrico de la lesión, T1 se definió como el tiempo en el que el paciente percibió el primer cambio (como el cambio en la simetría de pigmentación, cambio en los bordes, textura, tamaño horizontal, o diámetro) en una lesión preexistente estable o como el momento en el que el paciente o acompañante percibió la aparición de una nueva lesión en fase de cambios.

VC se definió como la diferencia entre el grosor tumoral (en mm) y el tiempo de evolución (en meses), éste último definido como T2-T1. (**Figura 13**)

Generalmente se clasifica al MM en tres grupos de acuerdo con la VC: MM de crecimiento lento (MCL,  $<0.1$  mm/mes), MM de crecimiento intermedio (MCI, 0.1-0.49 mm/mes), y MM de crecimiento rápido (MCR,  $\geq 0.5$  mm/mes).

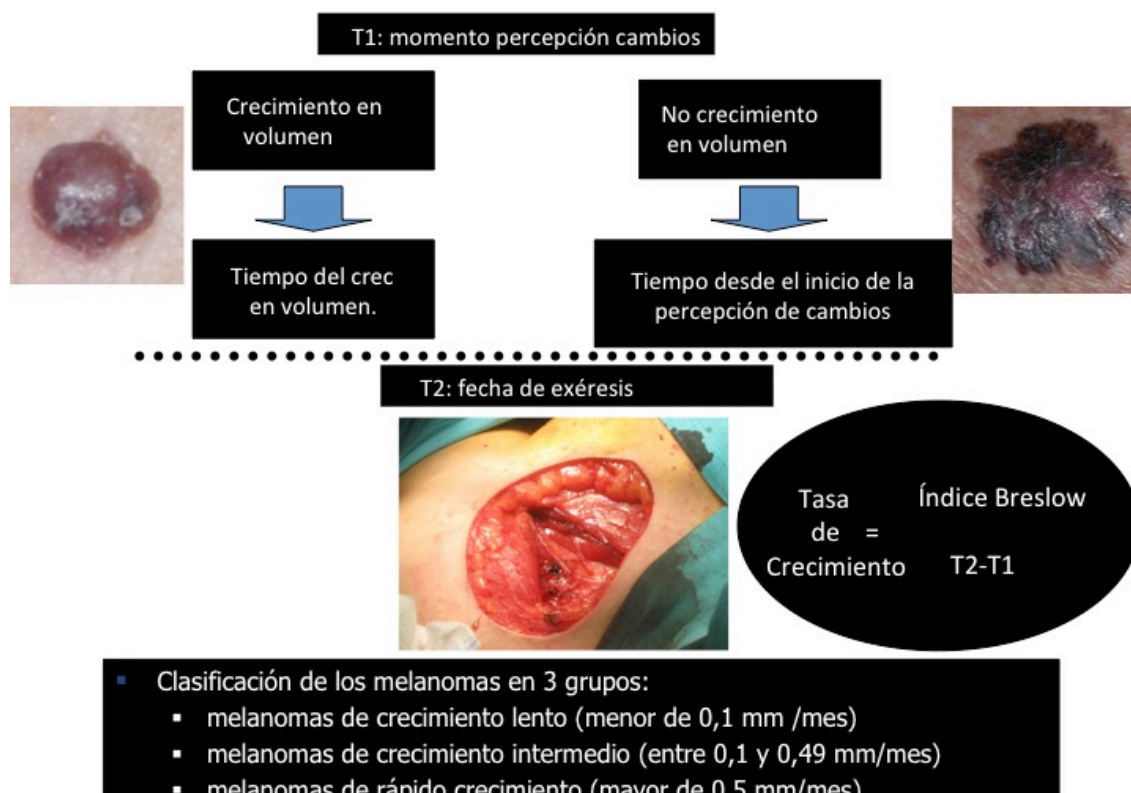


Figura 13. Modelo de velocidad de crecimiento modificada (VCm)

### 7.1.3.2. Velocidad de crecimiento en el CEC.

La VC en el CEC fue calculada usando un cuestionario estandarizado modificado obtenido del modelo de cálculo de la VC en el MM.

Así, cada paciente fue preguntado acerca de 2 fechas: T1, sería la fecha en la que el paciente o el acompañante detectaron cambios sospechosos en la lesión problema (crecimiento volumétrico, sangrado). T2, fecha de resección de la tumoración, fue obtenida de los informes quirúrgicos.

La definición de la cinética de crecimiento del CEC primario fue definido, en base a experimentos previos realizados sobre casos de MM, como el ratio del volumen del CEC en el momento de la resección y el periodo de tiempo que transcurre desde el momento de percepción inicial de cambios y el momento de la resección tumoral. (Figura 11)

Para calcular el volumen del CEC en el momento de resección, dado que el momento

exacto de inicio de crecimiento del CEC es desconocido y que el volumen es difícil de definir, se asume, como Grob hizo en el caso del MM y la VC del mismo, que el ratio de espesor histológico del CEC dividido por la duración del crecimiento tumoral hasta su resección puede ser utilizado como un modelo válido que define la cinética del CEC.

Finalmente, se define el índice cinético del CEC ( $_{cec}IC$ ), definido como el grosor histológico del CEC/  $T2-T1$ , el cual fue considerado el mejor modelo para definir el crecimiento en el CEC.

## **7.2. ESTUDIO 1: Definición de la velocidad de crecimiento en el melanoma: evaluación de aspectos epidemiológicos, clínicos e histológicos.**

### **7.2.1. Sujetos del estudio**

Se realizó un estudio observacional retrospectivo unicéntrico en el que se incluyeron todos aquellos pacientes con MM invasor registrados en la base de datos desde el 1 de Enero de 2004 y el 31 de Mayo de 2009.

#### **7.2.1.1. Criterios de inclusión**

- MM estadio I o superior.
- Disponer de una muestra de tejido tumoral para su análisis (bloque).

#### **7.2.1.2. Criterios de exclusión**

- MM primario extracutáneo.
- MM de localización desconocida.
- MM in situ.
- MM primario múltiple.
- MM con falta de datos para el cálculo de la VC.

### **7.2.2. Grupos de estudio**

Los casos se distribuyeron en 3 grupos de acuerdo con la VC: MM de crecimiento lento (MCL,  $<0,1$  mm/mes), MM de crecimiento intermedio (MCI,  $0,1-0,49$  mm/mes), y MM de crecimiento rápido (MCR,  $\geq 0,5$  mm/mes). (76,82)

### **7.2.3. Datos analizados en el estudio**

Las siguientes variables fueron consideradas en el análisis comparativo entre los grupos previamente definidos de acuerdo con su VC.

### **7.2.3.1. Datos epidemiológicos**

Los datos epidemiológicos incluyeron el sexo (masculino/femenino), y la edad (arbitrariamente clasificados en <40, entre 40-65 y >65 años).

### **7.2.3.2. Características fenotípicas**

Los aspectos fenotípicos cutáneos analizados incluyeron el fototipo cutáneo (agrupados en fototipos I-II y fenotipos III-V), el color de pelo (castaño+oscuro, rubio, pelirrojo), color de los ojos (oscuro o claro), presencia de nevos atípicos (sí o no), queratosis actínicas (sí o no), lentigos solares (sí o no), y el número total de nevos melanocíticos (<20, 20-50, 50-100, >100).

### **7.2.3.3. Factores ambientales**

En este subgrupo se incluyeron los siguientes datos: quemaduras solares de grado leve previas (0, 1-5, 6-10, >10), quemaduras solares de grado severo previas (0, 1-5, 6-10, >10), y los años/paquete de cigarrillos (No, ≤20, >20).

### **7.2.3.4. Historia oncológica personal y familiar del paciente**

En este apartado incluimos los factores de riesgo de cáncer de piel: historia personal de cáncer cutáneo no melanoma (CCNM), incluyendo al CBC y al CEC (sí o no). A su vez, también se incluyó la historia familiar de melanoma (sí o no), y de otra neoplasia maligna diferente al melanoma (sí o no).

### **7.2.3.5. Análisis de las características clínicas e histológicas del melanoma**

Los hallazgos clínicos analizados en el MM incluyeron la localización anatómica (cabeza y cuello, tronco, extremidades superiores, extremidades inferiores o acral), la presencia de lentigos solares en el área del MM (sí o no), la existencia de quemaduras en el pasado en la zona del MM (no, leve, severa), y el patrón de exposición solar en la zona del MM (no fotoexpuesta, ocasionalmente fotoexpuesta, habitualmente fotoexpuesta).

Los datos para el cálculo de la VCm incluyeron la fecha de detección de cambios en la lesión (T1) y la fecha de exéresis de la tumoración (T2).

Las características histológicas analizados incluyeron el índice de Breslow (tanto como variable continua como categorizada según los puntos de corte establecidos por la AJCC), la presencia de ulceración y la tasa de mitosis (0, 1-5, 6-10, >10 mitosis por milímetro cuadrado).

#### **7.2.3.6. Estadificación del melanoma**

Se recogió la afectación del ganglio centinela (GC) (sí o no), y la estadificación del tumor (26) (localizado, enfermedad locorregional, metástasis a distancia).\*

\*En el caso del IVO, los criterios para la realización del GC incluyen: (a) grosor tumoral >0,75 mm, ó grosor ≤0,75 mm con presencia de ulceración o más de 1 mitosis dérmica.

#### **7.2.3.7. Determinación del gen de la melanocortina 1**

Se analizó el genotipo del receptor de melanocortina 1 (*MC1R*). Los métodos de genotipado se realizaron mediante secuenciación directa han sido descritos en un estudio previo (31). Los pacientes fueron clasificados en casos sin mutación, casos que presentan una mutación, y casos que presentan más de 1 variante mutacional previamente definida (31) que confieren el riesgo de desarrollar melanoma en nuestra población.

Las variantes MC1R analizadas incluyeron las variantes RHC (p.D84E, p.R142H, p.R151C, p.R16OW, y p.D294H), las variantes no-RHC (p.V60L, p.V92M, p.T314T, p.1155T, y p.R163Q) así como otras variantes menos frecuentes descritas previamente. (31)

#### **7.2.4. Análisis estadístico**

Los datos recogidos fueron analizados usando el SPSS versión 15.0 (SPSS, Chicago, Illinois, USA).

Las diferencias en la distribución de las variables entre grupos fue evaluada usando la prueba de la Ji cuadrado de Pearson. El grado de relación entre la VC, el grosor tumoral, y la tasa de mitosis fue estimado usando el coeficiente de correlación de Spearman. El nivel de significación estadística se estableció en 0,05 y la correlación de Spearman se interpretó en base a la [tabla 5](#).



Tabla 5. Escala de interpretación de la correlación de Spearman

Correlación	Interpretación
-1,00	Correlación negativa perfecta
-0,90	Correlación negativa muy fuerte
-0,75	Correlación negativa considerable
-0,50	Correlación negativa media
-0,10	Correlación negativa débil
0,00	No correlación entre variables
+0,10	Correlación positiva débil
+0,50	Correlación positiva media
+0,75	Correlación positiva considerable
+0,90	Correlación positiva muy fuerte
+1,00	Correlación positiva perfecta

## 7.3. ESTUDIO 2: Evaluación de la velocidad de crecimiento del melanoma como factor pronóstico independiente.

### 7.3.1. Sujetos de estudio

Se realizó un estudio observacional retrospectivo que incluyó a los pacientes con MM invasor registrados en la base de datos desde el 1 de Enero de 2003 y el 31 de Mayo de 2009.

#### 7.3.1.1. Criterios de inclusión

- MM estadio I o II.
- Disponer de una muestra de tejido tumoral para su análisis (bloque).

#### 7.3.1.2. Criterios de exclusión

- MM primario extracutáneo.
- MM de localización desconocida.
- MM primario múltiple.
- MM con falta de datos para el cálculo de la VC.

### 7.3.2. Grupos de estudio

Los casos se distribuyeron en base a la VC (VC de Grob, [figura 3](#)), y en base a la forma modificada propuesta en nuestro trabajo (VCm, [figura 13](#)).

En el presente trabajo, tanto en la VC como en la VCm se categorizó como punto de corte para considerar velocidad de crecimiento rápido aquellos casos con valores superiores a 0,4 mm/mes, con la finalidad de obtener resultados comparables a los de Tejera-Vaquerizo y colaboradores (180).

### 7.3.3. Datos analizados en el estudio

Las siguientes variables fueron consideradas en el análisis comparativo entre los grupos previamente definidos de acuerdo con su VC.

(i) Datos epidemiológicos

Los datos epidemiológicos incluyeron el sexo (masculino/femenino) y la edad en el momento del diagnóstico

Análisis de las características clínicas e histológicas del melanoma

(ii)

Los hallazgos clínicos analizados en el MM incluyeron la localización anatómica (cabeza y cuello, tronco, extremidades superiores, extremidades inferiores o acral) y los datos para el cálculo de la VCm incluyeron la fecha de detección de cambios en la lesión (T1) y la fecha de exéresis de la tumoración (T2).

Los datos histológicos incluidos fueron el índice de Breslow (tanto como variable continua como categorizada según los puntos de corte establecidos por la AJCC), la presencia de ulceración y la tasa de mitosis (0, 1-5, 6-10, >10 mitosis por milímetro cuadrado).

(iii) Evolución del paciente

Las variables dependientes (o la variable principal), fueron la supervivencia libre de enfermedad (SLE, en años) y la supervivencia global (SG, en años). Se consideraron la recaída por melanoma y la muerte por cualquier causa como los eventos, respectivamente. Se consideraron censurados los pacientes que no habían presentado ninguna recaída para el cálculo de la SLE y los pacientes vivos para el cálculo de la SG en el momento de finalizar el estudio.

### 7.3.4. Análisis estadístico

Los datos recogidos fueron analizados usando el SPSS versión 15.0 (SPSS, Chicago, Illinois, USA)

Las curvas de supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad fueron generadas a partir del método de Kaplan-Meier y el análisis univariante fue realizado mediante la prueba de los rangos logarítmicos. El análisis multivariante fue realizado mediante un modelo de regresión de Cox condicional por pasos hacia adelante. Los valores de  $P < 0.05$  fueron considerados como significativos.

## 7.4. ESTUDIO 3: Análisis de la prevalencia de mutaciones BRAF y NRAS en los melanomas de rápido crecimiento no acrales

### 7.4.1. Sujetos de estudio

Se realizó un estudio observacional retrospectivo unicéntrico en el que se incluyeron todos aquellos pacientes con MM invasor registrados en la base de datos desde el 1 de Enero de 2004 y el 31 de Mayo de 2012.

El presente trabajo, dado que se hizo en colaboración con el Instituto Médico de Investigación de Queensland, fue aprobado tanto por el comité ético de la Fundación Instituto Valenciano de Oncología, Valencia (España) como por el Comité Ético de Recursos Humanos del Instituto Médico de Investigación de Queensland. El estudio a su vez se adhirió a los términos de la Declaración de Helsinki, y todos los participantes firmaron el consentimiento informado previa explicación detallada del trabajo.

#### 7.4.1.1. Criterios de inclusión

- MM estadio I o II.
- Disponer de la información acerca del estado mutacional de *BRAF* y *NRAS*, obtenida de los datos de un estudio previo.(181)

#### 7.4.1.2. Criterios de exclusión

- MM metastásico.
- MM lentiginoso acral.
- MM spitzoide.
- Lesiones nevoides.

### 7.4.2. Grupos de estudio

Los casos se distribuyeron en 3 grupos de acuerdo con la VCm: MM de crecimiento lento (MCL, <0,1 mm/mes), MM de crecimiento intermedio (MCI, 0,1-0,49 mm/mes), y MM

de crecimiento rápido (MCR,  $\geq 0,5$  mm/mes). (76,82).

Las asociaciones entre la VCm y el estado mutacional fueron evaluadas en 2 pasos. En primer lugar se consideraron los 3 grupos según la presencia de mutación de *NRAS*, mutación de *BRAF*, o la ausencia de mutaciones en *BRAF* o *NRAS*.

En segundo lugar se consideró la presencia de las variables edad, sexo, localización, subtipo histológico, el grosor de Breslow, y presencia de ulceración como factores de confusión.

### 7.4.3. Datos analizados en el estudio

Las siguientes variables fueron consideradas en el análisis comparativo entre los grupos previamente definidos de acuerdo con su VC.

(i) Datos epidemiológicos

Los datos epidemiológicos incluyeron el sexo (masculino/femenino), la edad (en años, en forma de variable continua) en el momento del diagnóstico

(ii) Características clínicas e histológicas del melanoma

Los hallazgos clínicos analizados en el MM incluyeron la localización anatómica (cabeza y cuello, tronco, extremidades superiores o inferiores), y los datos para el cálculo de la VCm incluyeron la fecha de detección de cambios en la lesión (T1) y la fecha de exéresis de la tumoración (T2).

Los datos histológicos incluidos fueron el índice de Breslow (como variable continua), la presencia de ulceración, y el subtipo histológico (extensión superficial, nodular, otro/desconocido)

#### **7.4.4. Análisis genético de *BRAF* y *NRAS***

Los procedimientos utilizados para el análisis de *BRAF* y *NRAS* en incluyen en el [anexo 5](#). (182)

#### **7.4.5. Análisis estadístico**

Los datos recogidos fueron analizados usando el SPSS versión 15.0 (SPSS, Chicago, Illinois, USA).

La asociación entre el estado mutacional y la VCm se evaluó mediante la prueba de la Ji cuadrado de Pearson o la prueba exacta de Fisher (cuando la frecuencia esperada en alguna de las casillas fue menor del 5%).

El test de ANOVA fue utilizado para realizar la comparación entre la edad media y el índice de Breslow entre los diferentes grupos definidos por la VCm.

Se realizó una regresión logística univariante binaria para calcular los odds ratios y para definir el intervalo de confianza del 95% de la asociación entre el estado mutacional y la VCm.

## 7.5. ESTUDIO 4: Prevalencia de mutaciones en el promotor de TERT en los melanomas de crecimiento rápido

### 7.5.1. Sujetos de estudio

Se realizó un estudio observacional retrospectivo unicéntrico en el que se incluyeron todos aquellos pacientes con MM invasor registrados en la base de datos desde el 1 de Enero de 2000 hasta la actualidad.

#### 7.5.1.1. Criterios de inclusión

- Disponer de la información acerca del estado mutacional de *BRAF*, *NRAS* y *TERT*, obtenida de los datos de un estudio previo.(183)
- Disponer de la información suficiente para la realización del cálculo de la VCm.

### 7.5.2. Grupos de estudio

Los casos se distribuyeron en 2 grupos de acuerdo con la velocidad de crecimiento: MM de crecimiento lento e intermedio (MCL&I, VCm <0,5 mm/mes), y MM de crecimiento rápido (MCR,  $\geq 0,5$  mm/mes). (76,82).

### 7.5.3. Datos analizados en el estudio

#### 7.5.3.1. Datos epidemiológicos

Los datos epidemiológicos incluyeron el sexo (masculino/femenino), la edad (en años, en forma de variable categorizada en terciles: ( $\leq 50$  años, 51-65 años y  $>65$  años) en el momento del diagnóstico.



### 7.5.3.2. Características clínicas e histológicas del melanoma

Los hallazgos clínicos analizados en el MM incluyeron la localización anatómica (cabeza y cuello, tronco, extremidades superiores o inferiores), y los datos para el cálculo de la VCm incluyeron la fecha de detección de cambios en la lesión (T1) y la fecha de exéresis de la tumoración (T2).

Los datos histológicos incluidos fueron el índice de Breslow (categorizada en  $\leq 2$  mm y  $> 2$  mm), la presencia de ulceración (Sí/No), y el subtipo histológico (lentigo maligna melanoma (LMM), melanoma de extensión superficial (MES), melanoma nodular (MN), melanoma lentiginoso acral (MLA), otros/desconocido (no especificado).

Adicionalmente se incluyó la tasa de mitosis (TM). Para este estudio se utilizó el denominado “hot spot”, que consiste en enumerar las mitosis en las áreas tumorales dérmicas que contienen la mayor parte de las figuras mitóticas, en caso de que existan. Tras realizar el conteo de mitosis en la “hot spot”, usando lentes de 40 o de 400 aumentos, el conteo es posteriormente realizado en los campos contiguos hasta evaluar un área total de  $1 \text{ mm}^2$ .

En caso de que no se detecte la zona de alta densidad mitótica “hot spot” y que las mitosis sean escasas y estén repartidas de forma aleatoria a lo largo de la lesión, cualquier mitosis será incluida, y el campo en el que se encuentre se convertirá en el campo de estudio, realizándose el conteo de las mitosis existentes en los campos contiguos correspondientes a  $1 \text{ mm}^2$  de tejido.

### 7.5.4. Análisis genético de *TERT*

Los procedimientos utilizados para el análisis de *TERT* se incluyen en el [anexo 6](#).  
(223)

### 7.5.5. Análisis genético de *BRAF* y *NRAS*

Los procedimientos utilizados para el análisis de *BRAF* y *NRAS* se incluyen en el [anexo 5](#).

### 7.5.6. Análisis estadístico

Los datos recogidos fueron analizados usando el SPSS versión 15.0 (SPSS, Chicago, Illinois, USA)

La asociación entre el estado mutacional y la VCm se evaluó mediante la prueba de la Ji cuadrado de Pearson o la prueba exacta de Fisher (cuando la frecuencia esperada en alguna de las casillas fue menor del 5%).

Se realizó una regresión logística univariante binaria para calcular los odds ratios y para definir el intervalo de confianza del 95% de la asociación entre el estado mutacional y la VCm. El posterior análisis multivariante fue realizado mediante un modelo de regresión de Cox condicional por pasos hacia adelante. Los valores de  $P < 0.05$  fueron considerados como significativos.

## **7.6. ESTUDIO 5: Aplicación práctica del concepto de velocidad de crecimiento: Evaluación de asociación de síndrome de apnea del sueño y melanoma de rápido crecimiento**

### **7.6.1. Sujetos de estudio**

Se realizó un estudio observacional multicéntrico, incluyendo 6 centros (Hospital La Fe, Hospital de Manises, e Instituto Valenciano de Oncología, Valencia; Hospital San Juan, Alicante; Hospital Clínic, Barcelona; Hospital Valme, Sevilla, España) con amplia experiencia en el diagnóstico y en el tratamiento de síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS) y de MM.

El estudio fue aprobado por el Comité Ético de los diferentes hospitales participantes en el estudio. Todos los participantes firmaron el consentimiento informado previa explicación detallada del trabajo.

#### **7.6.1.1. Criterios de inclusión**

- Pacientes de edad >18 años diagnosticados de MM en los 12 meses previos a la inclusión en el estudio.
- MM estadio I o superior.

#### **7.6.1.2. Criterios de exclusión**

- Paciente con MM in situ.
- Paciente con MM en localizaciones extracutáneas.
- Paciente con fallo respiratorio conocido.
- Paciente con fallo cardíaco conocido.

Paciente en tratamiento establecido de sistema de presión positiva continua (CPAP), en tratamiento con oxigenoterapia domiciliaria o mediante ventilación mecánica no invasiva.

## 7.6.2. Grupos de estudio

Los pacientes fueron clasificados, según su VCm, en MCR si su velocidad de crecimiento era superior a 0,5 mm/mes, y en MM de crecimiento intermedio y lento (MCI&L), si su velocidad de crecimiento era menor o igual a 0,5 mm/mes.

## 7.6.3. Datos analizados en el estudio.

El cuaderno de recogida de datos se incluye en el [anexo 7](#).

### 7.6.3.1. Protocolo dermatológico

La siguiente información fue recogida en cada uno de los centros por un dermatólogo sénior, en base a un protocolo preestablecido y consensuado.

#### 7.6.3.1.1. Datos epidemiológicos

Los datos epidemiológicos incluyeron el sexo (masculino/femenino), la edad (arbitrariamente clasificados en <40, entre 40-65 y >65 años), y el índice de masa corporal (IMC).

#### 7.6.3.1.2. Análisis de las características clínicas e histológicas del melanoma

Los hallazgos clínicos analizados en el MM incluyeron la localización anatómica (cabeza y cuello, tronco, extremidades superiores, extremidades inferiores o acral) y los datos para el cálculo de la VCm incluyeron la fecha de detección de cambios en la lesión (T1) y la fecha de exéresis de la tumoración (T2).

Los hallazgos histológicos analizados incluyeron el espesor de Breslow (tanto como variable continua como categorizada según los puntos de corte establecidos por la AJCC), la presencia de ulceración (sí, no), la tasa de mitosis (nº mitosis por milímetro cuadrado).

### 7.6.3.1.3. Estadificación de la enfermedad

La estadificación de la enfermedad se realizó en base a la última edición de la American Joint Committee on Cancer (7th edition). De esta forma, el MM localizado se clasificó como estadio IA, IB, IIA, IIB o IIC; el MM con extensión locorregional como IIIA, IIIB y IIIC; finalmente el MM con metástasis a distancia como estadio IV. (18)

### 7.6.3.2. Protocolo de la unidad del sueño

#### 7.6.3.2.1. Parámetros generales

La visita a la unidad del sueño incluyó la recogida de datos de la historia clínica del paciente con respecto a trastornos del sueño (ronquido crónico, detección de apneas, la realización de la escala de somnolencia de Epworth (ESE, [Anexo 8](#), escala estándar procedente del consenso nacional de expertos en enfermedad del sueño) para la evaluación de la hipersomnia a lo largo del día, y la medición del índice de masa corporal en el momento de la realización del estudio del sueño.

#### 7.6.3.2.2. Test diagnóstico del sueño

Todos los pacientes incluidos en el estudio fueron sometidos a un test diagnóstico de SAOS durante un periodo máximo de 1 mes tras su visita inicial a la unidad del sueño. En todos los casos, el test del sueño fue llevado a cabo en la residencia de los pacientes mediante dispositivos de polisomnografía que han sido previamente validados en la literatura.

Los siguientes parámetros poligráficos y oximétricos fueron incluidos: (a) Tiempo de grabación; (b) índice de apnea/hipopnea (IAH); (c) saturación basal; Saturación media; (d) saturación mínima; (e) tiempo nocturno con una saturación menor del 90% ( $T_{\text{sat90}}$ ); (f) índice de desaturación de oxígeno al 3% ( $\text{IDO}_{3\%}$ ); (g) índice de saturación de oxígeno al 4% ( $\text{IDO}_{4\%}$ ).

Todas las lecturas de los pacientes fueron realizadas manualmente por un neumólogo especializado en SAOS.

Se definió “apnea” como la interrupción del flujo respiratorio oronasal un tiempo durante un período mayor de 10 segundos. La “hipopnea” se definió como una reducción de entre el 30-90% del flujo respiratorio oronasal durante un período mayor de 10 segundos asociado con una desaturación  $\geq 4\%$  o un arousal (microdespertar). El IAH fue definido como el número de apneas e hipopneas por hora de sueño (polisomnografía) o grabadas (poligrafía respiratoria), mientras que el  $T_{\text{sat90}}$  se definió como el porcentaje de la noche en la que la saturación arterial de oxígeno decayó por debajo del 90%. En todos los casos, la saturación de oxígeno fue medida a intervalos de 2 segundos durante toda la noche.

Para considerar un test válido, debe de abarcar tanto una evaluación subjetiva por el paciente durante un tiempo de sueño mínimo de 5 horas, y un tiempo de grabación mínimo de 5 horas con suficiente calidad, tras la eliminación de los diferentes artefactos de grabación errática. En caso de que ambos supuestos no se cumplieran, el test fue considerado como no válido y se procedió a su repetición. De la misma forma, cualquier estudio en el que se detectaran problemas técnicos (especialmente la desconexión del pulsioxímetro) durante un porcentaje superior al 10% del tiempo total de grabación también fue repetido.

#### **7.6.4. Análisis estadístico**

Los datos recogidos fueron analizados usando el SPSS versión 17.0 ( Armonk, NY, USA).

Las variables cuantitativas fueron presentadas como la media $\pm$  desviación estándar (o mediana, [rango intercuartílico, RIQ] en casos de distribución no normal), mientras que las variables cualitativas o dicotómicas fueron presentadas como n (%). La normalidad de las variables fue confirmada usando la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Las variables basales de los MM, clasificadas en grupos MCR, y MCI&L fueron comparadas mediante el t-test o mediante el test U de Mann-Whitney, dependiendo de que la distribución fuera o no normal.

Los análisis de regresión logística fueron realizados para determinar la asociación independiente entre los parámetros respiratorios (IAH, IDO<sub>3%</sub>, y IDO<sub>4%</sub>) y los grupos de MM según la VCm, usando los parámetros edad, sexo e IMC como factores de confusión. Adicionalmente, se realizaron 3 análisis de regresión lineal, uno para cada parámetro respiratorio (IAH, IDO<sub>3%</sub>, y IDO<sub>4%</sub>) como variables independientes usando la VCm como variable dependiente cuantitativa.

Finalmente, los análisis de correlación (prueba de Spearman, **tabla 5**) fueron utilizados para analizar la asociación entre los parámetros poligráficos u oximétricos y el índice de Breslow, el índice mitótico, el estadio del MM, y la VCm del MM como variable continua.

## 7.7. ESTUDIO 6: Aplicación del concepto velocidad de crecimiento en el carcinoma epidermoide cutáneo y valor pronóstico

### 7.7.1. Sujetos de estudio

Se realizó un estudio observacional retrospectivo unicéntrico sobre el registro de pacientes con CEC diagnosticados entre el 1 de Enero 2007 y el 1 de Diciembre 2013.

#### 7.7.1.1. Criterios de inclusión

- CEC con periodo seguimiento mínimo de 60 meses desde el diagnóstico del tumor primario. (88)

#### 7.7.1.2. Criterios de exclusión

- CEC localizados en áreas genital o mucosa, incluyendo la cavidad oral, la región vulvo-genital y la región perianal.
- CEC con tumor primario desconocido.
- CEC in situ.
- Casos que presentaban alguna de las siguientes enfermedades: xeroderma pigmentosum, epidermolisis bullosa distrófica recesiva, albinismo cutáneo, disqueratosis congénita\*.
- Casos con una estado de inmunosupresión subyacente.\*
- Casos con un índice de Breslow < 4 mm.\*\*
- Casos en los que no se disponía de datos suficientes para calcular la VC del CEC.

\*En el presente trabajo se excluyeron los pacientes con patología de base predisponente dado que ambos son actualmente considerados factores independiente de mal pronóstico en el CEC.

\*\*De la misma forma, se excluyeron aquellos casos con un índice de Breslow <4 dado que éstos presentan un riesgo muy bajo de desarrollar afectación sistémica.



## 7.7.2. Grupos de estudio

Los casos introducidos fueron clasificados en aquellos sin afectación adenopática (CECna) y los que desarrollaron adenopatías (CECa).

En aquellos casos de CECa, el CEC primario fue comparado con las muestras de las respectivas metástasis, para definir el índice de metástasis. En aquellos caso en los que se detectaron múltiples metástasis durante el seguimiento clínico, se consideraron a todas y cada una de ellas como recurrencia del original.

## 7.7.3. Datos analizados en el estudio

### 7.7.3.1. Datos epidemiológicos

Los datos epidemiológicos incluyen el sexo (masculino/femenino), la edad (evaluada como variable continua, y como agrupada de forma arbitraria en grupos de pacientes menores de 40 años, entre 40-65 años y mayores de 65 años). A su vez se recogió el antecedente personal de CBC (sí, no), CEC (sí, no), y de MM (sí, no) y trabajo fotoexpuesto (sí, no).

### 7.7.3.2. Características fenotípicas

Los aspectos fenotípicos analizados incluyeron el fototipo cutáneo (Tipo I-VI de Fitzpatrick), el color del pelo (negro, marrón oscuro, marrón claro, rubio, rojo), color de ojos (negro, marrón oscuro, marrón claro, verde, azul), presencia de queratosis actínicas (sí, no).

### 7.7.3.3. Características clínicas

Los aspectos clínicos analizados del CEC incluyeron el tipo de tumor (primario o recurrente) la localización de la lesión, la región anatómica (frontal, sien, mejilla, dorso nasal, calota, periauricular, pabellón auricular, perilabial, fuera de cabeza y cuello), y tiempo de evolución de la lesión (en meses).

Desde el punto de vista morfométrico, se recogieron los siguientes datos: diámetro

mayor (en cm), diámetro menor (en cm), presencia de ulceración (sí, no).

Para realizar el cálculo de la VCm en el CEC:(a) T1, que se define como la fecha (mes y año) en el que se detecta el crecimiento volumétrico de la lesión problema. (b) T2, que se define como la fecha de la excisión de la lesión problema (mes y año), obtenido a partir del informe quirúrgico. (figura 11)

#### 7.7.3.4. Hallazgos histopatológicos

El análisis histopatológico de los casos incluidos en el estudio fue realizado por 3 dermatopatólogos (JC, OSJ, AMC), que revisaron todos los casos incluidos en el estudio.

Los aspectos histológicos incluidos en el análisis fueron: (a) el espesor tumoral (en mm); (b) el nivel de Clark (I-VI); (c) la diferenciación histológica (bien, moderadamente, y pobremente diferenciado, indiferenciado); (d) patrón de crecimiento tumoral (expansivo, infiltrativo, acantolítico); (e) evidencia de desmoplasia (sí, no); (f) infiltrado inflamatorio tumoral (presente, ausente); (g) población inflamatoria predominante (linfocítico, linfoplasmocitario, plasmocitos+eosinófilos); (h) Número de mitosis por 10 campos (analizado como variable continua); (i) invasión linfovascular (sí, no); (j) invasión perineural (sí, no); (k) presencia de restos de queratosis actínica subyacente (sí o no).

#### 7.7.4. Análisis estadístico

El análisis estadístico del presente estudio fue realizado mediante el software R (versión 3.1.0).

Los datos fueron analizados por la media, la desviación estándar, la mediana y el 1º y el 3º cuartil en el caso de variables continuas y en frecuencias relativas y absolutas en el caso de las variables categóricas.

Se construyó un modelo de predicción usando modelos de regresión logística. Para determinar las variables asociadas a los dos tipos de enfermedad se ha utilizado un modelo de regresión logística en el que se ha tomado como variable respuesta a la variable “grupo.estudio.ciego” y como variables predictivas a las variables edad, log(velocidad) y número de mitosis por 10 campos. También se ha determinado si el tipo de enfermedad está

asociado a un mayor riesgo de recaída o de muerte mediante otros dos modelos de regresión logística en los que recaída y muerte se usaron como variables respuesta y el tipo de enfermedad como variable predictiva.

El test de Bootstrapping (1000 repeticiones) fue utilizado como modelo de validación y para realizar la calibración de un nomograma.

Los valores de  $P < 0,05$  fueron considerados estadísticamente significativos y los intervalos de confianza del 95% fueron evaluados en cada estimación.



# RESULTADOS

---



## 8. Resultados

### 8.1. ESTUDIO 1: Definición de la velocidad de crecimiento en el melanoma: evaluación de aspectos epidemiológicos, clínicos e histológicos

De los 555 casos incluidos en el estudio se excluyeron todos aquellos melanomas primarios extracutáneos (9 casos), o de localización desconocida (13 casos), subtipos in situ (76 casos), y aquellos pacientes con melanomas primarios múltiples (13 casos). El pequeño número de variantes “in situ” se explica por el hecho de que la Fundación Instituto Valenciano de Oncología es una unidad de referencia de MM en la Comunidad Valenciana para el estudio de la biopsia del ganglio centinela, por lo que no se trata de un estudio poblacional real.

Tras la exclusión de los casos previamente comentados, 58 de los 444 pacientes restantes considerados válidos fueron retirados del estudio por la imposibilidad de calcular su velocidad de crecimiento (VC) (Por ejemplo, aquellos casos en los que ni el paciente ni el acompañante fueron capaces de proveer de información clínica apropiada). Por lo tanto, un total de 386 casos fueron finalmente incluidos en el análisis (**Figura 14**).

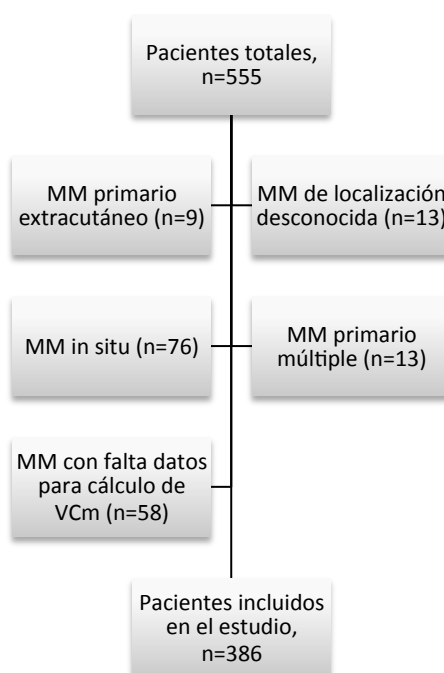


Figura 14. Diagrama de flujo del estudio 1

La población de estudio incluyó a 386 pacientes, 191 (49,5%) varones y 195 (50,5%) mujeres, con una edad media en el momento del diagnóstico de 54 años (rango, 16-91). Con respecto a la VC, 153 (40%) de los casos fueron clasificados como MM de crecimiento lento, 122 (31%) como MM de crecimiento intermedio, y 111 (29%) como MM de rápido crecimiento. Las características de los diferentes grupos se recogen en la [tabla 6 y 7](#).

**Tabla 6. Características epidemiológicas de la población incluida en el estudio 1**

Variable	Velocidad de crecimiento						P <sup>a</sup>
	Lento (<0,1 mm/mes)		Intermedio (0,1-0,49 mm/mes)		Rápido (≥0,5 mm/mes)		
	No	%	No	%	No	%	
<b>(a) Aspectos epidemiológicos</b>							
<b>Edad (años)</b>							
<40	35	22,9	30	24,6	16	14,4	<0,001
40-65	80	52,3	72	59	42	37,8	
>65	38	24,8	20	16,4	53	47,8	
<b>Sexo</b>							
Varón	72	47,1	61	50	58	52,3	0,7
Mujer	81	52,9	61	50	53	47,7	
<b>(b) Características fenotípicas</b>							
<b>Fototipo cutáneo</b>							
I-II	55	37,2	41	34,2	30	28,0	0,310
III-V	93	62,8	79	65,8	77	72,0	
<b>Color del pelo</b>							
Marrón oscuro	102	69,4	94	79,0	90	82,6	0,143
Rubio	37	25,2	21	17,6	15	13,7	
Rojo	8	5,4	4	3,4	4	3,7	
<b>Color de los ojos</b>							
Oscuros	93	62,8	73	61,3	66	60,6	0,928
Claros	55	37,2	46	38,7	43	39,4	
<b>Nevo atípicos</b>							
No	121	84,0	104	88,9	92	86,0	0,527
Sí	23	16,0	13	11,1	15	14,0	
<b>Queratosis actínicas</b>							
No	126	88,7	107	92,2	81	82,7	0,093
Sí	16	11,3	9	7,8	17	17,3	
<b>Lentigos solares</b>							
No	19	12,8	16	13,7	11	10,4	0,741
Sí	129	87,2	101	86,3	95	89,6	
<b>Número de nevo melanocíticos</b>							
<20	102	72,3	79	70,5	81	77,9	0,775
20-50	21	14,9	15	13,4	14	13,5	
51-100	14	9,9	13	11,6	6	5,8	
>100	4	2,9	5	4,5	3	2,8	



<b>(c) Aspectos genéticos</b>							
<b>Polimorfismos MC1R</b>							
<b>No</b>	31	37,3	21	32,3	22	33,8	0,934
<b>1</b>	36	43,4	33	50,8	31	47,7	
<b>&gt;1</b>	16	19,3	11	16,9	12	18,5	
<b>(d) factores ambientales</b>							
<b>Quemaduras solares leves pasadas</b>							
<b>No</b>	14	10,4	8	7,5	21	22,8	<0,001
<b>1-5</b>	30	22,2	19	17,9	19	20,7	
<b>6-10</b>	19	14,1	5	4,8	5	5,4	
<b>&gt;10</b>	72	53,3	74	69,8	47	51,1	
<b>Quemaduras solares severas pasadas</b>							
<b>No</b>	66	45,8	55	47,8	52	48,2	0,755
<b>1-5</b>	46	31,9	42	36,5	39	36,1	
<b>6-10</b>	14	9,7	10	8,7	9	8,3	
<b>&gt;10</b>	18	12,6	8	7,0	8	7,4	
<b>Trabajo fotoexpuesto</b>							
<b>No</b>	111	77,1	85	74,5	70	68,6	0,448
<b>≤20 h/semana</b>	12	8,3	14	12,3	11	10,8	
<b>&gt;20 h/semana</b>	21	14,6	15	13,2	21	20,6	
<b>Cigarrillos, Años/paquete</b>							
<b>No</b>	70	50,4	56	53,3	60	59,4	0,234
<b>≤20 año/paquete</b>	41	29,5	29	27,6	17	16,8	
<b>&gt;20 año/paquete</b>	28	20,1	20	19,1	24	23,8	
<b>(e) Historia personal y familiar de cáncer</b>							
<b>Historia personal de CCNM</b>							
<b>No</b>	136	91,3	108	92,3	90	83,3	0,045
<b>Sí</b>	13	8,7	9	7,7	18	16,7	
<b>Historia familiar de MM</b>							
<b>No</b>	142	94,7	114	95,8	109	99,1	0,164
<b>Sí</b>	8	5,3	5	4,2	1	0,09	
<b>Historia familiar de neoplasias no cutáneas</b>							
<b>No</b>	85	56,7	68	58,1	62	56,9	0,969
<b>Sí</b>	65	43,3	49	41,9	47	43,1	
<sup>a</sup> P, nivel de significación estadística, establecido en P<0,05.							

Tabla 7. Características clínico-patológicas de los pacientes incluidos en el estudio 1

Variable	Velocidad de crecimiento						P <sup>a</sup>
	Lento (<0,1 mm/mes)		Intermedio (0,1-0,49 mm/mes)		Rápido (≥0,5 mm/mes)		
	No	%	No	%	No	%	
<b>(a) Características clínicas</b>							
<b>Localización anatómica</b>							
<b>Cabeza/cuello</b>	24	15,7	17	13,9	22	19,8	0,111
<b>EE.SS</b>	27	17,6	20	16,4	15	13,5	
<b>Tronco</b>	49	32	44	36,1	40	36	
<b>EE.II</b>	40	26,1	27	22,1	14	12,6	
<b>Acral</b>	13	8,5	14	11,5	20	18,1	
<b>Lentigos solares en área MM</b>							
<b>No</b>	78	52,7	66	55,9	62	57,4	0,737
<b>Sí</b>	70	47,3	52	44,1	46	42,6	
<b>Quemaduras solares previas en el área del MM</b>							
<b>No</b>	38	27,3	24	22,0		48,1	<0,001
<b>Leve</b>	65	46,8	61	56,0	49	33,3	
<b>Severa</b>	36	25,9	24	22,0	34	18,6	
					19		
<b>MM en área fotoexpuesta</b>							
<b>No fotoexpuesta</b>	12	7,8	9	7,4	17	15,3	<0,01
<b>Ocasionalmente</b>	109	71,3	91	74,6	60	54,1	
<b>Habitualmente</b>	32	20,9	22	18,0	34	30,6	
<b>(b) Variables histológicas</b>							
<b>Restos de nevo preexistente</b>							
<b>No</b>	83	68,6	72	75,0	69	75	0,469
<b>Sí</b>	38	31,4	24	25,0	23	25	
<b>Subtipo tumoral</b>							
<b>MEL</b>	118	78,1	75	62,0	38	34,5	<0,001
<b>Nodular</b>	13	8,6	34	28,1	52	47,3	
<b>Acral</b>	10	6,6	8	6,6	9	8,2	
<b>LMM</b>	8	5,3	1	0,8	4	3,6	
<b>Otros</b>	2	1,3	3	2,5	7	6,4	
<b>Breslow</b>							
<b>≤1 mm</b>	110	71,9	38	31,1	1	0,9	<0,001
<b>1,01-2,00 mm</b>	43	28,1	79	64,8	69	62,1	
<b>2,01-4,00 mm</b>	0	0,0	3	2,5	23	20,7	
<b>&gt; 4 mm</b>	0	0,0	2	1,6	18	16,2	
<b>Ulceración</b>							
<b>No</b>	135	90,6	86	74,8	50	46,3	<0,001
<b>Sí</b>	14	9,4	29	25,2	58	53,7	

<b>Mitosis/mm<sup>2</sup></b>							
<b>0</b>	50	43,5	13	15,1	4	4,6	
<b>1-5</b>	62	53,9	60	69,8	44	50,6	
<b>6-10</b>	2	1,7	10	11,6	21	24,1	<0,001
<b>&gt;10</b>	1	0,9	3	3,5	18	20,7	
<b>Estadio tumoral</b>							
<b>Localizado</b>	149	98,0	95	78,5	71	64,5	<0,001
<b>Locorregional</b>	3	2,0	25	20,7	38	34,5	
<b>Metástasis a distancia</b>	0	0,0	1	0,8	1	0,9	
<b>Afectación GC<sup>b</sup></b>							
<b>No</b>	55	88,7	63	70,8	46	55,4	<0,001
<b>Sí</b>	3	4,8	21	23,6	30	36,2	
<b>No identificado</b>	4	6,5	5	5,6	7	8,4	
<p>MM, melanoma cutáneo; MES, melanoma de extensión superficial; LMM, lentigo maligno melanoma; MC1R, Receptor 1 de melanocortina; CCNM, cáncer cutáneo no melanoma; GC, ganglio centinela. EE.SS, extremidades superiores; EE.II, extremidades inferiores</p> <p><sup>a</sup>P, nivel de significación estadística, establecido en <math>P &lt; 0,05</math></p> <p><sup>b</sup>Sólo realizado en casos con espesor tumoral <math>&gt; 0,75</math> mm o <math>\leq 0,75</math> mm con regresión o ulceración</p>							

Los 3 grupos mostraron una heterogeneidad en la edad del diagnóstico ( $p < 0,001$ ). Los pacientes con MCR desarrollaron MM en edades más avanzadas que las formas de MCR o MCI. Así, por ejemplo, el 47,7% de los pacientes con MCR desarrollaron MM después de los 65 años; esta proporción fue aproximadamente el doble que los pacientes con MCL (24,8%) y tres veces superior a los valores observados en pacientes con MCI (16,4%). No se observaron diferencias en la distribución por sexos entre grupos.

No se encontró ninguna diferencia significativa entre los grupos en relación con las características fenotípicas estudiadas. De igual manera, no hubo diferencias entre las frecuencias de polimorfismos en MC1R.

El análisis de los factores ambientales (datos incluidos en la [tabla 6](#)) mostraron una prevalencia significativamente inferior de antecedentes de quemaduras solares leves en los pacientes con MRC ( $p = 0,001$ ). Así, por ejemplo, el 22% de los pacientes con MCR no recordaban ningún episodio de quemadura solar leve en comparación con el 10,4% y el 7,5% en los casos de MCI y MCR, respectivamente. No se observaron diferencias entre grupos en cuanto a episodios previos de quemadura solar severa ni en referencia al hábito tabáquico.

Los pacientes con MCR tenían una frecuencia significativamente mayor de antecedentes personales de CCNM (16,7%) en comparación con los otros 2 grupos (MCI, 7,7% ; MCL, 8,7%) ( $P=0,045$ ). En contraste, la VC no mostró diferencias en la historia familiar de MM o de otras neoplasias no cutáneas (**tabla 6**)

El análisis del estudio reveló a existencia de heterogeneidad entre grupos en relación con la fotoexposición solar en el área del MM ( $P=0,009$ ). De esta forma, una mayor proporción de pacientes con MCR desarrollaron sus melanomas en áreas no fotoexpuestas (MCR=15,3%; MCI=7,4%; MCL=7,8%) y en áreas habitualmente fotoexpuestas (MCR=30,6%; MCI=18%; MCL=20,9%). De la misma forma, los pacientes con MCR no recordaban historia de quemadura solar pasada en el área del MM en mayor proporción (48.1%) con respecto a aquellos casos de MCI(22%) y MCL (27.3%) ( $P<0.001$ ) (**tabla 7**)

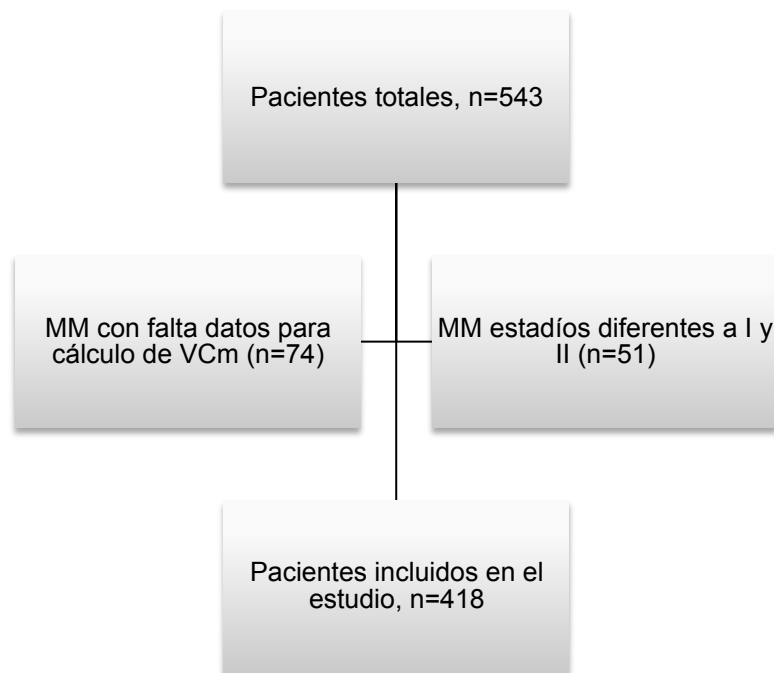
Los subtipos histológicos no mostraron una distribución homogénea entre grupos. Así, la variante nodular de MM fue la forma histológica más frecuentemente encontrada en los pacientes con MCR (47,3%). Los MCR a su vez presentaron un grosor significativamente superior con respecto a las formas de MCI y MCL. De forma concordante, la ulceración fue mucho más frecuente en el MCR. Este subgrupo mostró una mayor tasa de mitosis que los otros 2 subgrupos. De la misma forma, la VC mostró una correlación con el grosor de Breslow ( $r=0,76$ ) y una correlación moderada con la tasa mitótica ( $r=0,54$ ). (**tabla 7**)

Los pacientes con MCR presentaron enfermedad locorregional en el 34,5% de casos en el mismo momento del diagnóstico del tumor primario, una tasa marcadamente superior a la encontrada en los casos de MCI (20,7%) y en los casos de MCL (2,0%) ( $P=0,001$ ). El ganglio centinela fue positivo en un número significativamente superior en aquellos casos de MCR (36,2%), comparado con los MCI (23,6%) y aquellos MCL (4,8%). ( $P<0,001$ )

No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre la VC y la localización del MM, la presencia de lentigos solares en el área del MM, y la existencia de restos de nevo preexistente en la histología.

## 8.2. ESTUDIO 2: Evaluación de la velocidad de crecimiento del melanoma como factor pronóstico independiente

Un total de 543 casos fueron incluidos en la base de datos. Se excluyeron 125 casos por la imposibilidad de calcular su VC (**Figura 15**). Finalmente un total de 418 casos fueron analizados.



**Figura 15. Diagrama de flujo del estudio 2**

La población de estudio incluyó a 418 pacientes, 199(47,6%) varones y 219(52,4%) mujeres, con una edad media en el momento del diagnóstico de 54,1 años (rango, 6-96 años). Con respecto a la VC, 96(22,9%) de los casos mostraron una VC  $<0,4$  mm/mes, mientras que 322(77,1%) mostraron una VC  $\geq 0,4$  mm/mes. Las características de los diferentes grupos se recogen en la **tabla 8**.

Tabla 8. Características clínico-patológicas de los pacientes incluidos en el estudio 2

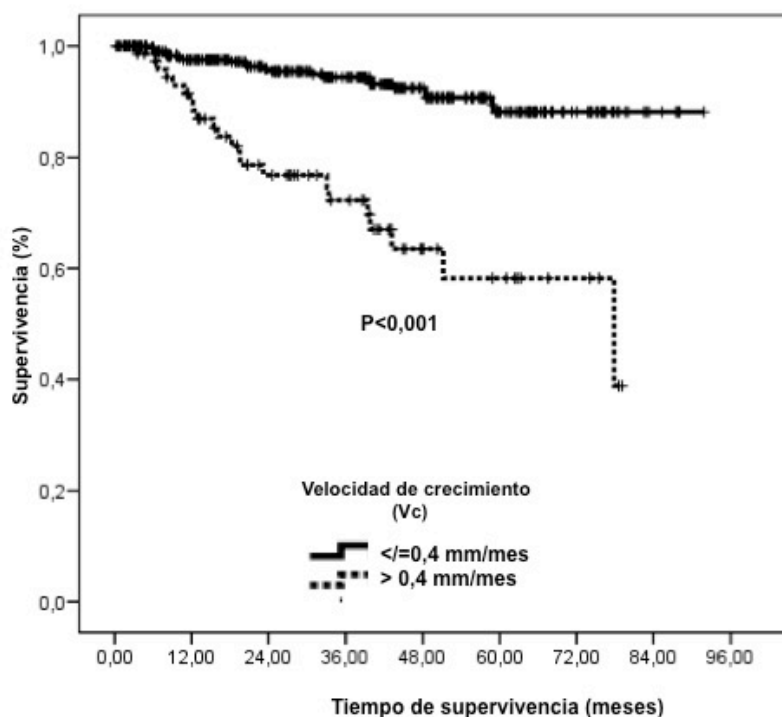
Variable	
Edad en años (media/rango)	54,1 (6-96)
Sexo (%Varones)	47,6%
Índice de Breslow, mm(media/DE)	1,73 +/- 2,1
<b>VCm</b>	
<b>MCI&amp;L (No/% total)</b>	96 (22,9%)
<b>MCR (No/% total)</b>	322 (77,1%)
<b>Índice mitótico (mm<sup>2</sup>)</b>	
<b>0 mit/mm<sup>2</sup> (No/% total)</b>	123 (24,6%)
<b>1-5 mit/mm<sup>2</sup> (No/% total)</b>	200 (47,9%)
<b>6-10 mit/mm<sup>2</sup> (No/% total)</b>	28 (6,6%)
<b>&gt;10 mit/mm<sup>2</sup> (No/% total)</b>	20 (8,4%)
<b>Perdidos (No/% total)</b>	67 (16%)
<b>Ulceración (No / % total)</b>	89 (21,2%)
<b>Localización del MM (No / %)</b>	
<b>-Cabeza y cuello</b>	75 (18,1%)
<b>-Miembros superiores</b>	62 (14,6%)
<b>- Miembros inferiores</b>	101 (24,1%)
<b>- Tronco</b>	142 (34,1%)
<b>- Acral</b>	38 (9,2%)
<b>Tipo histológico (No / %)</b>	
<b>- Melanoma extensión superficial</b>	279 (66,8%)
<b>- Lentigo maligno melanoma</b>	17 (4%)
<b>- Melanoma nodular</b>	75 (18,1%)
<b>- Melanoma lentiginoso acral</b>	22 (5,2%)
<b>- Otros (sin clasificar)</b>	25 (6%)
<b>Espesor de Breslow (No / %)</b>	
<b>- ≤ 1mm</b>	217 (51,9%)
<b>- 1.01-2.00 mm</b>	103 (24,6%)
<b>- 2,01-4,99 mm</b>	62 (14,9%)
<b>- &gt;4,00 mm</b>	36 (8,6%)
<i>Los datos están representados como la media, o como n%. MCR: Melanoma de crecimiento rápido(VC 0.4 mm/mes); MCI&amp;L: Melanoma de crecimiento intermedio y lento (VC &lt;0.4 mm/mes).</i>	

Los 3 grupos mostraron una heterogeneidad en la edad del diagnóstico ( $p < 0,001$ ). Los pacientes con MCR desarrollaron MM en edades más avanzadas que las formas de MCR o MCI. Así, por ejemplo, el 47,7% de los pacientes con MCR desarrollaron MM después de los

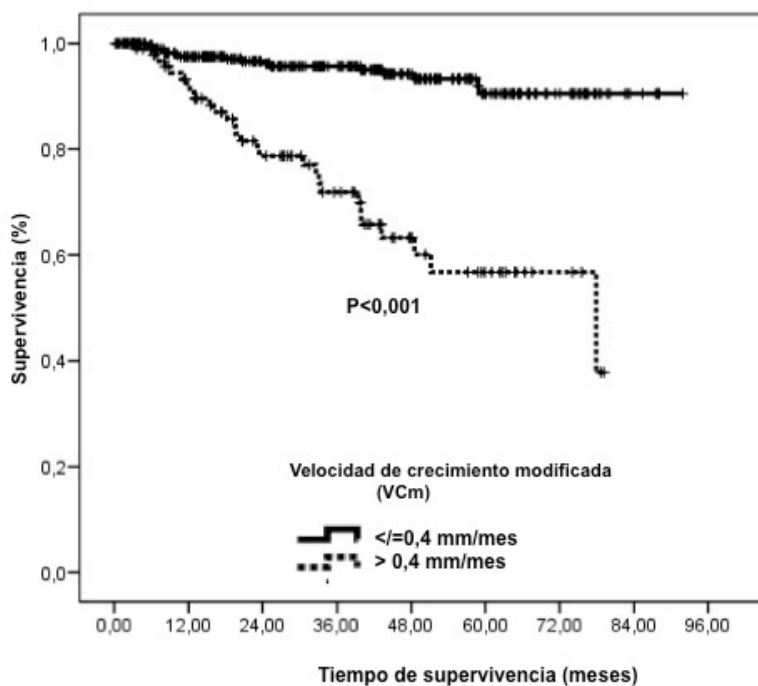
65 años; esta proporción fue aproximadamente el doble que la de los pacientes con MCL (24,8%) y tres veces superior a los valores observados en los pacientes con MCI (16,4%). No se observaron diferencias en la distribución por sexos entre los grupos.

El seguimiento mediano de los pacientes analizados fue de 38 meses (rango, 1-95). 19 casos murieron por el MM, y 43 casos recurrieron. Usando el dato de VC, el MCR, en este caso considerando como tal a aquellos con una VC  $>0.4$  mm/mes, mostró una peor supervivencia global y un menor periodo de supervivencia libre de enfermedad con respecto al grupo con VC  $\leq 0,4$  mm/mes (**Figura 16**). Tras el ajuste de las otras variables, la VC no mostró diferencias significativas para la supervivencia global. Sin embargo, la Vcm mantuvo su valor pronóstico en la tanto para la supervivencia global como para la supervivencia libre de enfermedad tras el estudio multivariado, excepto para supervivencia global cuando el ajuste se realizó con el índice de Breslow categorizado(**tabla 9**).

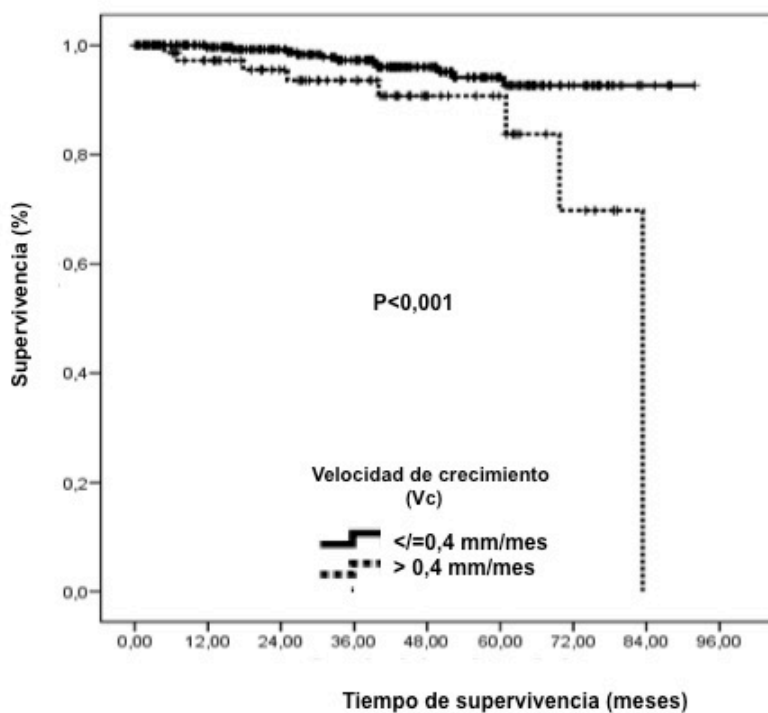
### A.1) VC. Supervivencia libre de enfermedad



### B.1) VCm. Supervivencia libre de enfermedad



### A.2) VC. Supervivencia global





## B.2) VCm. Supervivencia global

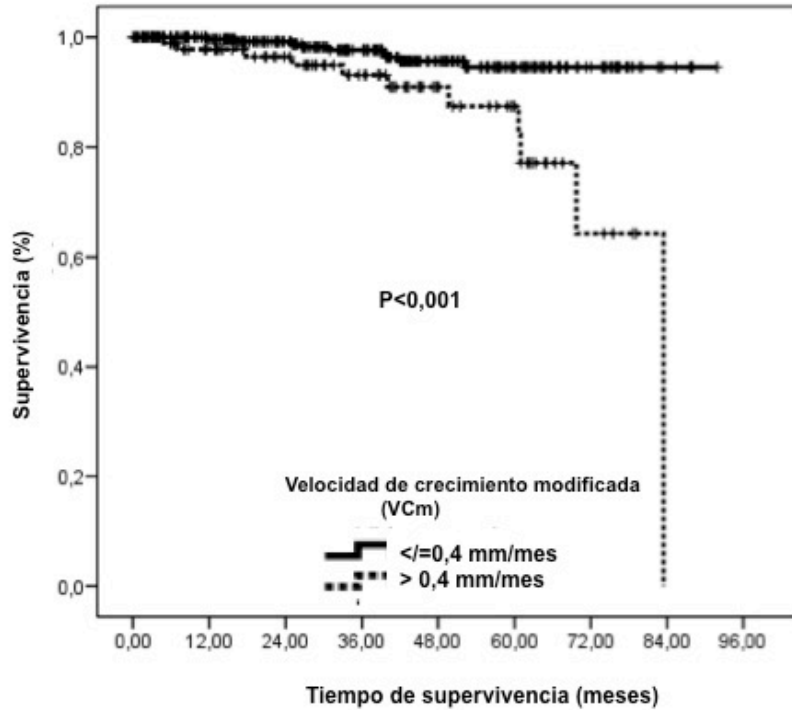


Figura 16. Estimación de Kaplan-Meier para la SG y para la SLE estratificada por la VC del MM.

A.1 y 2) Velocidad de crecimiento (VC) calculado según la fórmula de Grob (figura 3). B.1 y 2) Velocidad de crecimiento modificada (VCm) teniendo en cuenta el crecimiento volumétrico. (figura 13)

**Tabla 9. Análisis multivariante de regresión de COX para la supervivencia global (SG) y para la supervivencia libre de enfermedad (SLE). Consideración del espesor de Breslow como variable continua y como variante categorizada según los puntos de corte de la AJCC**

Variable	Wald	<sup>a</sup> HR	<sup>b</sup> HR IC 95%
<b>Velocidad de crecimiento (VC)</b>			
<b>Supervivencia global</b>			
<b>Breslow como variable continua</b>			
Ulceracion (presente frente a ausente)	11,1	6,0	2,1-17,4
Edad	5,7	1,1	1,0-1,1
<b>Breslow categorizada AJCC</b>			
Ulceración (presente frente ausente)	11,1	6,0	2,1-17,0
Edad	5,7	1,1	1,0-1,1
<b>Supervivencia libre de enfermedad</b>			
<b>Breslow como variable continua</b>			
VC (>0,4 mm/mes frente a ≤0.4 mm/mes)	5,69	2,6	1,2-5,7
Grosor de Breslow	6,46	1,2	1,0-1,3
Ulceración (presente frente a ausente)	7,86	2,8	1,4-5,6
Edad	4,16	1,0	1,0-1,1
<b>Breslow categorizada en base a AJCC</b>			
Espesor de Breslow	37,4	<sup>c</sup> NA	<sup>c</sup> NA
≤1,00 mm	<sup>c</sup> NA	1	1
1,01-2,00 mm	7,3	8,5	1,8-40,1
2,01-4,00 mm	19,1	28,1	6,3-125,7
>4,00 mm	27,5	53,0	12,0-234,1
<b>Velocidad de crecimiento modificada (VCm)</b>			
<b>Supervivencia global</b>			
<b>Breslow como variable continua</b>			
Ulceracion (presente frente a ausente)	7,0	4,4	1,5-13,1
Edad	5,1	1,1	1,0-1,1
VCm(>0,4 mm/mesVs ≤0,4 mm/mes)	4,2	3,4	1,1-10,6
<b>Breslow categorizada AJCC</b>			
Ulceración (presente frente a ausente)	7,0	4,4	1,5-13,1
Edad	5,1	1,1	1,0-1,1
VCm(>0,4 mm/mes frente a ≤0,4 mm/mes)	4,2	3,4	1,1-10,6
<b><sup>b</sup>SLE</b>			
<b>Breslow como variable continua</b>			
VC (>0,4 mm/mes frente a ≤0,4 mm/mes)	11,3	4,4	1,9-10,4
Grosor de Breslow	8,3	1,2	1,1-1,3
Ulceración (presente frente a ausente)	5,4	2,3	1,1-4,7
<b>Breslow categorizada en base a AJCC</b>			
Espesor de Breslow	37,5	<sup>c</sup> NA	<sup>c</sup> NA
≤1,00 mm	<sup>c</sup> NA	1	1
1,01-2,00 mm	7,3	8,4	1,8-40,0
2,01-4,00 mm	19,1	28,1	6,3-125,7
>4,00 mm	27,5	53,0	12,0-234,1
<sup>a</sup> HR, Hazard ratio			
<sup>b</sup> HR IC 95%,, intervalo de confianza del 95% del hazard ratio			
<sup>c</sup> NA, No aplicable			

### 8.3. ESTUDIO 3: Análisis de la prevalencia de mutaciones BRAF y NRAS en los melanomas de rápido crecimiento no acrales

La población de estudio incluyó a 126 casos con MM invasor, 68 (54%) varones y 58 (46%) mujeres, con una edad mediana en el momento del diagnóstico de 55 años (rango, 20-89).

Siguiendo con el primer paso del protocolo, se separaron a los casos en función de la VCm. Un total de 34 casos (27% del total) se correspondieron a MCR, mientras que los 92 casos restantes (73% del total) se incluyeron en el grupo de MCI&L. La [tabla 10](#) recoge las características demográficas, clínicas y el estado mutacional del MM en función de su VCm.

Los pacientes con MCR mostraron edades más avanzadas (mediana de 66,5 años) con respecto a los MCI&L (mediana de 51,5 años) ( $P<0,001$ ). Se observaron diferencias significativas en cuanto al subtipo histológico, siendo la forma nodular la variante más frecuente en el caso del MCR (22 casos, 64,7% del total de casos de MCR), mientras que en el grupo MCI&L la forma más frecuente fue la de MM de extensión superficial (75 casos, 81,5% del total de casos MCI&L) ( $P<0,001$ ). Por último, la presencia de ulceración fue significativamente más frecuente en las formas de MCR (18 casos, 52,9% del total de MCR), con respecto a las formas de MCI&L (10 casos, 10,9% del total de MCI&L) ( $P<0,001$ ).

El análisis de la prevalencia de mutaciones en función de la VCm mostró cómo el MCR presentaban una mayor frecuencia de mutaciones en ambos genes (61,8%) con respecto al grupo de MCI&L (39,1%), siendo las diferencias significativas ( $P=0,023$ ).

El análisis pormenorizado mostró mayores frecuencias de mutaciones en *NRAS* (26,5 frente al 12,1%) y de *BRAF* (35,3 frente a 27,2%) en los pacientes con MCR frente a los MCI&L.

Tabla 10. Análisis de las características clínico-demográficas y del estado mutacional del MM según la VCm

Variable	Velocidad de crecimiento <sup>a</sup>				P <sup>b</sup>
	Rápido ( $\geq 0,5$ mm/mes)		No rápido ( $< 0,5$ mm/mes)		
	No	%	No	%	
<b>Edad de diagnóstico(años)</b>					
<b>Mediana (rango)</b>	66,5	(29-89)	51,5	(20-87)	<0,001
<b>Media (DE)</b>	65,7	(14,5)	51,6	(15,0)	
<b>Sexo</b>					0,080
<b>Varón</b>	14	(41,2)	54	(58,7)	
<b>Mujer</b>	20	(58,8)	38	(41,3)	
<b>Localización anatómica</b>					
<b>Cabeza/cuello/Ext. superiores</b>	14	(41,2)	31	(33,7)	0,437
<b>Tronco/ Ext. inferiores</b>	20	(58,8)	61	(66,3)	
<b>Subtipo tumoral</b>					
<b>Extensión superficial</b>	11	(32,4)	75	(81,5)	0,003
<b>Nodular</b>	22	(64,7)	12	(13,0)	
<b>Otros</b>	1	(2,9)	5	(5,4)	
<b>Grosor de Breslow</b>					
<b>Mediana (rango)</b>	4.00	(1,00-25,00)	0.80	(0,10-7,00)	<0,001
<b>Media (DE)</b>	6.05	(5,61)	1.17	(1,01)	
<b>Ulceración</b>					
<b>No</b>	16	(47,1)	82	(89,1)	<0,001
<b>Sí</b>	18	(52,9)	10	(10,9)	
<b>Estado mutacional</b>					
<b>Sin mutación</b>	13	(38,2)	56	(60,9)	0,023
<b>Mutante</b>	21	(61,8)	36	(39,1)	
<b>Estado mutacional</b>					
<b>Sin mutación</b>	13	(38,2)	56	(60,9)	0,046
<b>Mutación BRAF</b>	12	(35,3)	25	(27,2)	
<b>Mutación NRAS</b>	9	(26,5)	11	(12,0)	

*DE, Desviación estándar*

<sup>a</sup>Simple cross-tabulations, el test exacto de Fisher, y el test Chi cuadrado de Pearson fueron utilizadas para examinar las asociaciones entre el estado mutacional y la VCm. El test de ANOVA fue utilizado para la comparación entre la media de edad y el espesor de Breslow a través de los grupos definidos por la VCm

<sup>b</sup>P, nivel de significación estadística, establecido en  $P < 0,05$

Tras la realización de ajuste de los factores de confusión, la presencia de ambas mutaciones mostraron una elevada tendencia a significación estadística con respecto a su mayor asociación al MCR (OR= 3,7; 95% IC= 1,0-14,2). (tabla 11)

La existencia de mutación de *NRAS* se mantuvo significativamente asociada al MCR (OR= 7,6; 95% IC= 1,4-41,2), mientras que la asociación entre *BRAF* y el MCR fue elevada pero perdió su significación estadística (OR=2,3; IC 95%= 0,5-10,6).

**Tabla 11. Relación entre la VCm y el estado mutacional de *BRAF* y *NRAS* sobre los casos incluidos en el estudio 3 (n=126)**

Variable	MCR frente a no-MCR <i>Análisis univariante</i> OR (95% IC) <sup>a</sup>	MCR frente a no-MCR <i>Análisis ajustado</i> OR (95% IC) <sup>b</sup>
No mutante <i>BRAF/NRAS</i>	Ref.	Ref.
Mutante	2,5 (1,1-5,6)	3,7 (1,0-14,2)
No mutante <i>BRAF/NRAS</i>	Ref.	Ref.
Mutación <i>BRAF</i>	2,1 (0,8-5,2)	2,3 (0,5-10,6)
Mutación <i>NRAS</i>	3,5 (1,2-10,3)	7,6 (1,4-41,2)

<sup>a</sup>Análisis univariante binario de regresión logística fue utilizado para calcular la Odds Ratio (OR) y el intervalo de confianza (IC) de la asociación entre el estado mutacional y la VCm

<sup>b</sup>Valor OR ajustado por edad, sexo, espesor de Breslow, presencia de ulceración, y sitio de tumor primario analizado mediante una regresión logística binaria multivariante.

MCR: melanoma de crecimiento rápido (velocidad crecimiento ≥0,5 mm/mes) No-MCR: Velocidad de crecimiento <0,5 mm/mes)

## 8.4. ESTUDIO 4: Prevalencia de mutaciones en el promotor de TERT en los melanomas de crecimiento rápido

Un total de 339 casos fueron analizados. La población de estudio incluyó a 175 varones (52%) y 164 mujeres (48%), cuya edad en el momento del diagnóstico del melanoma fue  $\leq 50$  años en 121 pacientes (36%), entre los 51 y los 65 años en 100 casos (29%), y por encima de los 65 años en 118 casos (35%). Con respecto a la VCm, 126 casos fueron MCR (37%), mientras que los 213 casos restantes se incluyeron en el grupo de MCI&L (63%). Las características demográficas, clínicas y el estado mutacional de los MM incluidos en el trabajo se recogen en la [tabla 12](#).

**Tabla 12. Características demográficas, clínicas y estado mutacional en el estado del MM de acuerdo con la VCm**

Características	MCRs (VCm $\geq$ 0.5 mm/mes) (n=126)		no-MCRs (VCm<0.5 mm/mes) (n=213)		P
	N	%	N	(%)	
<b>Edad al diagnóstico</b>					
$\leq 50$ años	36	28,6	85	39,9	0,023
51-65 años	35	27,8	65	30,5	
>65 años	55	43,7	63	29,6	
<b>Sexo</b>					
Mujer	55	43,7	109	51,2	0,180
Varón	71	56,3	104	48,8	
<b>Localización MM</b>					
Axial	77	61,1	97	45,5	0,006
Extremidades	49	38,9	116	54,5	
<b>Subtipo histológico</b>					
LMM	5	4,0	9	4,2	<0,001
MES	33	26,2	142	66,7	
MN	75	59,5	32	15,0	
MLA	8	6,3	21	9,9	
Otro/desconocido	5	4,0	9	4,2	
<b>Espesor Breslow</b>					
$\leq 2$ mm	19	15,1	167	78,4	<0,001
>2 mm	107	84,9	46	21,6	

<b>Ulceración (m.v.=1)</b>					
<b>Ausente</b>	48	38,1	172	81,1	<0,001
<b>Presente</b>	78	61,9	40	18,9	
<b>TM (m.v.=13)</b>					
<b>≤2 mit/mm<sup>2</sup></b>	25	21,0	147	71,0	<0,001
<b>&gt;2 mit/mm<sup>2</sup></b>	94	79,0	60	29,0	
<b>Estado BRAF (m.v.=13)</b>					
<b>Nativo</b>	66	54,5	129	62,9	0,136
<b>Mutante</b>	55	45,5	76	37,1	
<b>Estado NRAS (m.v.=13)</b>					
<b>Nativo</b>	104	87,4	191	92,3	0,149
<b>Mutante</b>	15	12,6	16	7,7	
<b>Estado del promotor TERT</b>					
<b>Nativo</b>	49	38,9	144	67,6	<0,001
<b>Mutante</b>	77	61,1	69	32,4	
<b>rs2853669 (promotor TERT)</b>					
<b>No-portador (TT)</b>	81	64,8	124	58,8	0,273
<b>Portador (TC+CC)</b>	44	35,2	87	41,2	
<sup>1</sup> Las tabulaciones cruzadas simples, el test $\chi^2$ de Pearson fueron usados para analizar las asociaciones entre el estado mutacional y la VCm. MCR: melanoma de crecimiento rápido. MCI&L: Melanoma de crecimiento intermedio y lento. VCm: velocidad de crecimiento modificada. MLA: melanoma lentiginoso acral. MES: Melanoma extensión superficial. MN: Melanoma nodular. LMM: lentigo maligna melanoma. TM, tasa de mitosis					

Los pacientes MCR fueron casos de edades superiores de 65 años (55 casos, 43,7% del total de MCR) con respecto a los MCI&L (63 casos, 29,6% del total de MCI&L) (P=0,023). A su vez, la localización axial fue significativamente más frecuente para el MCR (77 casos, 61,1%) con respecto al MCI&L (97 casos, 45,5%) (P=0,006).

Desde el punto de vista histológico, el MCR estuvo representado principalmente en forma de MN (75 casos, 59,5% del total), seguido por la variante de MES (33 casos, 26,2%), mostrando diferencias significativas con el MCI&L (MN, 32 casos, 15%, y MES, 142 casos, 66,7%) (P<0,001). Los MCR superaron el espesor de Breslow de 2 mm en 107 casos (84,9%), mostrando una frecuencia significativamente superior a los pacientes con MCI&L (46 casos, 21,6%) (P<0,001).

A su vez, la ulceración estuvo presente con una frecuencia significativamente superior en el MCR (78 casos, 61,9%) frente al MCI&L (40 casos, 18,9%) ( $P < 0,001$ ). De la misma forma, la tasa de mitosis fue superior en el MCR (94 casos, 79% superaron las 2 mitosis/mm<sup>2</sup> con respecto al MCI&L, en el que este hecho se observó en 60 casos, 29%) ( $P < 0,001$ ).

A nivel molecular, el MCR mostró una mayor frecuencia de mutaciones en el promotor de *TERT* (77 casos, 61,1%) con respecto a los MCI&L (69 casos, 32,4%). ( $P < 0,001$ ).

El análisis de la existencia de mutaciones de BRAF, NRAS, así como de la presencia del polimorfismo rs2853669 no mostró diferencias entre ambos grupos.

Los análisis de regresión logística univariante reveló que la edad al diagnóstico superior a los 65 años (OR=2,1; IC 95%= 1,2-3,5), la localización del melanoma en la región axial (OR=1,88; IC 95%= 1,20-2,94), el subtipo histológico nodular (OR=8,3; IC 95%= 4,9-13,9), la presencia de ulceración (OR=6,9; IC 95%= 4,3-11,5), la TM >2 mit/mm<sup>2</sup> (OR=9,2; IC 95%= 5,4-15,7), así como la presencia de mutaciones en el promotor-*TERT* (OR= 3,3; 95% IC= 2,1-5,2) mostraron una mayor asociación al MCR (**tabla 13**).

Tras la realización de análisis multivariantes, la significación estadística se mantuvo en las variables subtipo histológico nodular (OR=3; IC 95%= 1,6-5,7), espesor de Breslow > 2mm (OR=12,3; IC 95%= 6,4-23,6) y en el estado mutacional del promotor del *TERT* (OR=3,1; IC 95%= 1,7-5,7).



Tabla 13. Relación entre la VCm y el estado mutacional de *TERT* entre los casos de MM (n=339)

	VCR vs VCI&L			
	Univariante <sup>1</sup>		Multivariante <sup>2</sup>	
	OR	OR IC 95%	OR	OR IC 95%
<b>Edad al diagnóstico</b>				
≤50 años	Ref.	Ref.	-	-
51-65 años	1,3	0,7-2,2		
>65 años	2,1	1,2-3,5		
<b>Localización del melanoma (axial vs. extremidades)</b>	1,9	1,2-2,9	-	-
<b>Subtipo histológico (MN vs. otros)</b>	8,3	4,9-13,9	3,00	1,6-5,7
<b>Espesor de Breslow (&gt;2 mm vs. ≤2 mm)</b>	20,4	11,4-36,8	12,3	6,4-23,6
<b>Ulceración (presente vs. ausente)</b>	6,9	4,3-11,5	-	-
<b>TM (&gt;2 mit/mm<sup>2</sup> vs. ≤2 mit/mm<sup>2</sup>)</b>	9,2	5,4-15,7	-	-
<b>Estado del promotor <i>TERT</i> (mutante vs. nativo)</b>	3,3	2,1-5,2	3,1	1,7-5,7

<sup>1</sup>Realización de análisis de regresión logística univariante binario para calcular la odds ratio y el IC 95% para la asociación entre el estado mutacional y la VC.

<sup>2</sup>Cálculo de OR mediante una regresión logística binaria multivariante.

MCR: Melanoma de crecimiento rápido (VCm ≥0.5 mm/mes). MCI&L (VCm <0,5 mm/mes). Ref: Categoría de referencia. TM:tasa mitosis. MN: melanoma nodular.

El subanálisis de mutaciones en el core de la región promotora de *TERT* en base a la presencia del polimorfismo rs2853669 mostró una serie de datos significativos (tabla 14). Así, en el grupo de pacientes con mutaciones del promotor *TERT*, el paciente portador del polimorfismo rs2853669 muestra una OR=2,15 (IC 95%, 1,0-4,5) que contrasta con el OR=4,16 (IC 95%, 2,3-7,5) en aquellos casos en ausencia de dicho polimorfismo.

**Tabla 14. Subanálisis de mutaciones en la región promotora de *TERT* en función de la presencia del polimorfismo rs2853669**

rs2853669	Estado del promotor <i>TERT</i>		Total	MCI&L (<0,5 mm/mes)	MCR (>=0,5 mm/mes)	OR (IC 95%)
<b>No portador (TT)</b>	Nat	N (%)	118	88 (74,6)	30 (25,4)	Ref.
	Mut	N (%)	87	36 (41,4)	51 (58,6)	4,2 (2,3-7,5)
<b>Portador (TC+CC)</b>	Nat	N (%)	73	54 (74,0)	19 (26,0)	Ref.
	Mut	N (%)	58	33 (56,9)	25 (43,1)	2,2 (1,0-4,5)
<b>Total</b>	Nat	N (%)	191	142 (74,3)	49 (25,7)	Ref.
	Mut	N (%)	145	69 (47,6)	76 (52,4)	3,3 (2,1-5,2)

Nat: Nativo

Mut: Mutante.

MCR: Melanoma crecimiento rápido. MCI&L: Melanoma de crecimiento intermedio y lento.

## 8.5. ESTUDIO 5: Aplicación práctica del concepto de velocidad de crecimiento: Evaluación de asociación de síndrome de apnea del sueño y melanoma de rápido crecimiento

De 82 pacientes elegibles, finalmente 56 casos fueron incluidos en el estudio (**Figura 17**). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las características basales entre los pacientes incluidos y los casos excluidos del estudio.

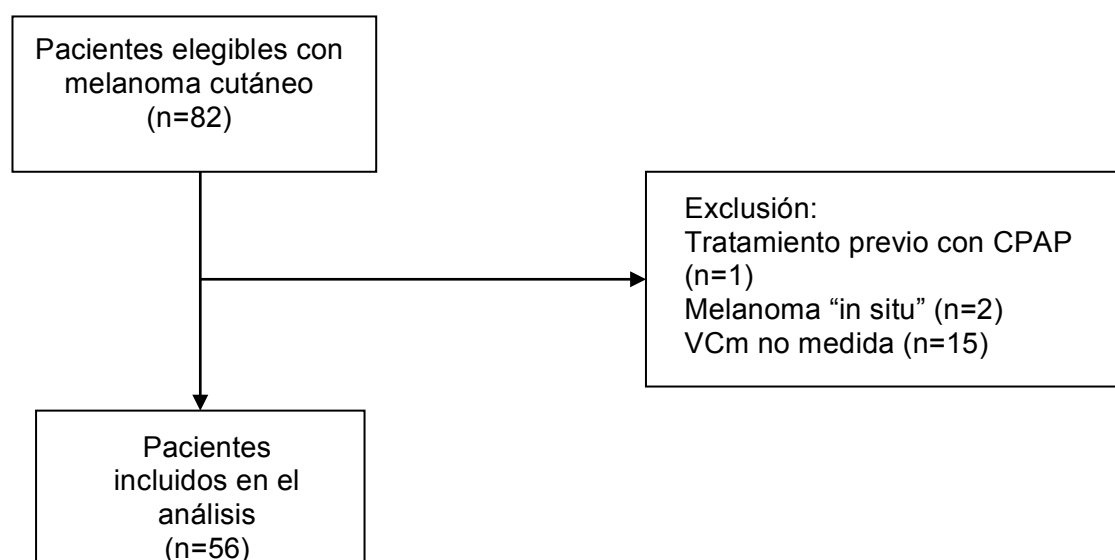


Figura 17. Diagrama de flujo del estudio 5

Las características de base de los pacientes del estudio y las variables que definen a sus respectivos MM se muestran en la **tabla 15**. El grupo estaba formado por 34 varones (60,7%) y 22 mujeres (39,3%), con unas edades medias +/-desviación estándar de 56,2+/- 16,2 años.

Un total de 41 casos (73%) mostraron la extensión local de su melanoma, 14 presentaron una extensión locorregional (25%) y 1 caso

desarrolló metástasis a distancia (2%). El índice de Breslow fue de 2,27+/-2,4 mm y la mediana (RIC) del índice mitótico fue de 1 (0-4) células por mm<sup>2</sup>. De todos los casos, 34 pacientes (60%) presentaron MMCL&I, mientras que 22 casos (40%) desarrollaron un MCR.

El intervalo de tiempo entre la exéresis del MM y la realización del estudio de SAOS varió entre 7,2+/- 2,5 meses. No se observaron cambios en los datos antropométricos durante este período de espera para la realización del estudio del sueño. Todos los estudios del sueño se realizaron en el hogar de los pacientes.

**Tabla 15. Características clínico-epidemiológicas de los pacientes incluidos en el estudio 5**

Variable	Media (DE) o No/%
Edad en años (media/DE)	56,2 +/-16,2
Sexo (%Varones)	60,7%
Índice de Breslow, mm(media/DE)	2,26 +/- 2,4
<b>VCm</b>	
MCI&L (No/% total)	34 (60,8%)
MCR (No/% total)	22 (39,2%)
Índice mitótico (mm <sup>2</sup> ), mediana (RIQ)	1 (0-4)
Ulceración (No / % total)	14 (25%)
<b>Localización del MM (No / %)</b>	
-Cabeza y cuello	7 (12,5%)
-Miembros superiores	7 (12,5%)
- Miembros inferiores	11 (19,6%)
- Tronco	28 (50%)
- Acral	3 (5,4%)
<b>Estadio de la enfermedad (No / %)</b>	
- Melanoma localizado <sup>1</sup>	41 (73,2%)
- Enfermedad locorregional <sup>2</sup>	14 (25%)
- Metástasis a distancia <sup>3</sup>	1 (1,8%)
<i>Los datos están representados como la media +/- desviación estandar, o como n%. MCR: Melanoma de crecimiento rápido; MCI&amp;L: Melanoma de crecimiento intermedio y lento; RIQ: Rango intercuartílico. <sup>1</sup>Estadio IA (19 casos), Estadio IB (7 casos), estadio IIA (9 casos), estadio IIB (3 casos), estadio IIC (3 pacientes); <sup>2</sup>Estadio IIIA (4 casos), estadio IIIB (5 casos, estadio IIIC (5 casos) <sup>3</sup>Estadio IV (1 caso)</i>	

La **tabla 16** muestra la prevalencia de trastornos respiratorios del sueño en la serie de pacientes diagnosticados de MM. La media de IAH fue de 13,6 +/- 17,3, con un IDO<sub>3%</sub> del 14,4+/-17,9 y una IDO<sub>4%</sub> del 8,28+/-13,5. El score ESS medio fue de 6.8+/-4.14. El 60.7% de los pacientes presentaron un IAH≥ 5, el 35,7% un IAH≥ 10, el 30,3% presentaron un IAH≥15, y el 14,3% presentaron un IAH≥30.

**Tabla 16. Resultados de los estudios del sueño de los pacientes del estudio 5**

Variable	Media (DE) o No/%
Ronquido crónico n (%)	30 (53,6%)
Apneas aisladas n (%)	9 (16,1%)
Escala de Epworth del sueño	6,8 (4,14)
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	26,8 (4,19)
Eventos de IAH/hora	13,6 (17,3)
-IAH ≥ 5	34 (60,7%)
-IAH≥10	20 (35,7%)
-IAH≥15	17 (30,3%)
-IAH≥30	8 (14,3%)
Saturación basal(%)	96,3 (1,9)
Saturación media (%)	94,1 (2,5)
IDO3% (%)	14,4 (17,9)
IDO4% (%)	8,28 (13,5)
Tsat90% (%)	8,2 (19,6)
Saturación mínima (%)	83,9 (8,1)
<p><i>IMC: índice de masa corporal</i>  <i>IAH: Índice de apnea/hipopnea</i>  <i>T<sub>sat90</sub>: Tiempo nocturno con saturación menor del 90%</i>  <i>IDO<sub>3%</sub>: Índice de desaturación de oxígeno al 3%</i>  <i>IDO<sub>4%</sub>: Índice de desaturación de oxígeno al 4%</i>  <i>IAH: Número de apneas e hipopneas por hora de sueño (polisomnografía) o grabadas (poligrafía respiratoria)</i>  <i>T<sub>sat90</sub> : Porcentaje de la noche en la que la saturación arterial de oxígeno decayó por debajo del 90%</i></p>	

La **tabla 17** muestra los resultados clínicos, patológicos y poligráficos de los pacientes divididos en 2 grupos con respecto a la VCm (MCR, melanoma de crecimiento rápido; MCI&L, melanoma de crecimiento intermedio y lento). Entre los datos obtenidos destaca la existencia de diferencias significativas tanto en el IAH y en las variables de hipoxemia intermitentes (IDO<sub>3%</sub> e IDO<sub>4%</sub>) entre grupos. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre grupos en edad, sexo, IMC, e hipersomnias diurna.

**Tabla 17. Comparación de las características de los pacientes del estudio 5 en función de la VCm**

Variable	Clasificación de los MM según la velocidad de crecimiento (VCm)			p
	Crecimiento lento	Crecimiento intermedio	Crecimiento rápido	
Número de casos	17	17	22	
Edad (años)	56,8 (13,9)	49,1 (14,2)	61,3 (17,8)	0,038*
Sexo (varones)	9 (52,9%)	11 (64,7%)	14 (63,6%)	0,74
Ulceración, n (%)	1 (5,9%)	1 (5,9%)	12 (54,4%)	0,001
Índice mitótico, (mm <sup>3</sup> )	0,4 (1)	1,29 (2,37)	5,36 (1,19)	0,001
Índice de Breslow, mm	0,78 (0,58)	1,3 (1,1)	4,17 (2,73)	0,001
VCm (mm/mes)	0,05 (0,02)	0,24 (0,1)	1,19 (0,79)	-
Escala de Epworth	8,7 (5,7)	6,2 (2,9)	5,8 (3,1)	0,26
IMC(Kg/m <sup>2</sup> )	26,4 (4,2)	26,2 (4,3)	27,7 (4,2)	0,35
IAH (eventos/h)	7,4 (6,8)	5,2 (5,1)	25 (22,4)	
IAH <sub>≥5</sub> , n (%)	10 (58,8%)	7 (41,2%)	17 (77,3%)	0,001
IAH <sub>≥10</sub> , n (%)	3 (17,7%)	3 (17,7%)	14 (63,6%)	
IAH <sub>≥30</sub> , n (%)	1 (5,8%)	0 (0%)	7 (31,8%)	
Saturación basal (%)	98,1 (0,8)	96,1 (1,4)	95,2 (2,1)	0,002
Saturación media (%)	94,2 (1,93)	94,8 (2,12)	93,5 (3,1)	0,373
IDO <sub>3%</sub> (%)	6,5 (5,2)	6,3 (5,8)	26,6 (22,9)	0,002
IDO <sub>4%</sub> (%)	2,4 (2,8)	2,5 (3)	17,1 (17,9)	0,002

<b>Tsat90% (%)</b>	3,2 (7,4)	1,5 (4,7)	17,2 (28,3)	0,019
<b>Saturación mínima (%)</b>	84,9 (5,9)	87,8 (4,4)	80,1 (10,3)	0,009

*IMC: índice de masa corporal*  
*IAH: Índice de apnea/hipopnea*  
*T<sub>sat90</sub>: Tiempo nocturno con saturación menor del 90%*  
*IDO<sub>3%</sub>: Índice de desaturación de oxígeno al 3%*  
*IDO<sub>4%</sub>: Índice de desaturación de oxígeno al 4%*  
*IAH: Número de apneas e hipopneas por hora de sueño (polisomnografía) o grabadas (poligrafía respiratoria)*  
*T<sub>sat90</sub> : Porcentaje de la noche en la que la saturación arterial de oxígeno decayó por debajo del 90%.*

Las **tablas 18 y 19** muestran los resultados del análisis multivariante realizado para analizar la relación independiente entre los diferentes parámetros respiratorios en el estudio del sueño (IAH, IDO<sub>3%</sub> e IDO<sub>4%</sub>) y la VCm. La **tabla 18** refleja la realización de un análisis de regresión logística que fue aplicado considerando a la VCm del MM la variable dependiente en forma de variable dicotómica (VCm rápida frente a VCm intermedia y lenta).

**Tabla 18. Relación de los parámetros de alteración de la respiración durante el sueño y la VCm como variable dicotómica**

Variables	OR no ajustada (IC 95%)	OR ajustada (IC 95%)
<b>Modelo 1</b>	1,09 (1,03-1,15) <sup>1</sup>	1,08 (1,02-1,14) <sup>3</sup>
<b>Modelo 2</b>	1,09 (1,03-1,15) <sup>1</sup>	1,08 (1,02-1,11) <sup>4</sup>
<b>Modelo 3</b>	1,22 (1,03-1,23) <sup>2</sup>	1,1 (1,02-1,2) <sup>5</sup>

*Modelos de regresión logística utilizando el IAH como variable dependiente en el modelo 1, IDO 3% en el modelo 2, y IDO 4% en el modelo 3. Los modelos no ajustados sólo incluyeron datos poligráficos u oximétricos. Los modelos ajustados también incluyeron la edad, el sexo, y el IMC.*  
<sup>1</sup>P=0,003; <sup>2</sup>P=0,012; <sup>3</sup>P=0,006; <sup>4</sup>P=0,008; <sup>5</sup>P=0,023

En la **tabla 19** se realizó un análisis lineal multivariante considerando a la VCM como una variante continua. Ambos modelos fueron ajustados en edad, sexo e IMC. En ambos estudios multivariantes se observó que el IAH, IDO<sub>3%</sub> e IDO<sub>4%</sub> se asociaron de forma independiente con la VCM del MM, independientemente de que ésta fuera considerada variable cuantitativa o cualitativa.

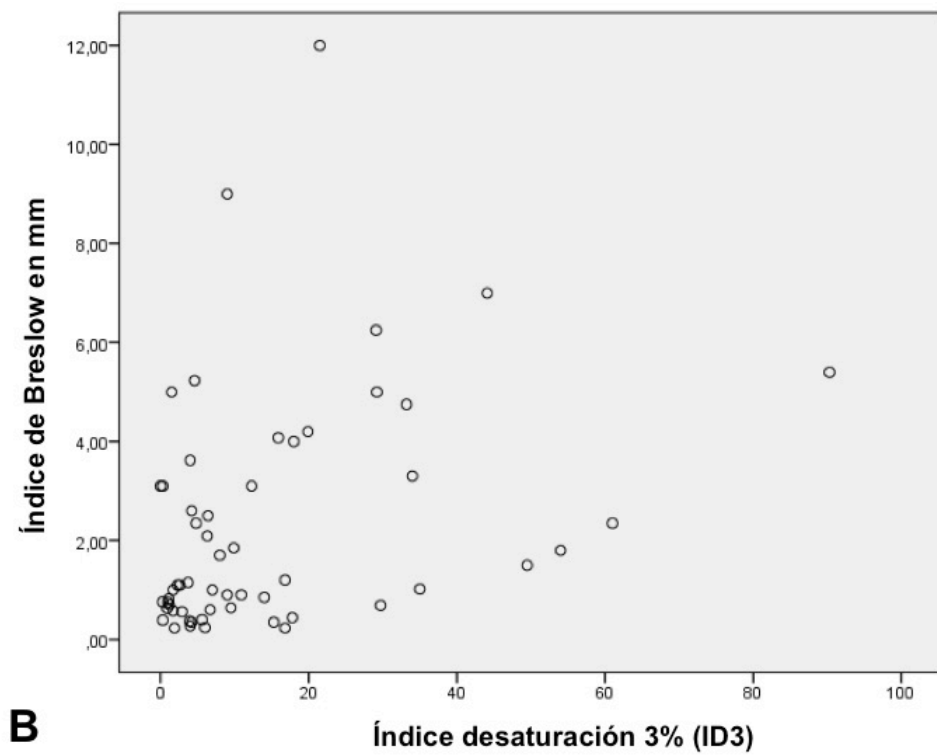
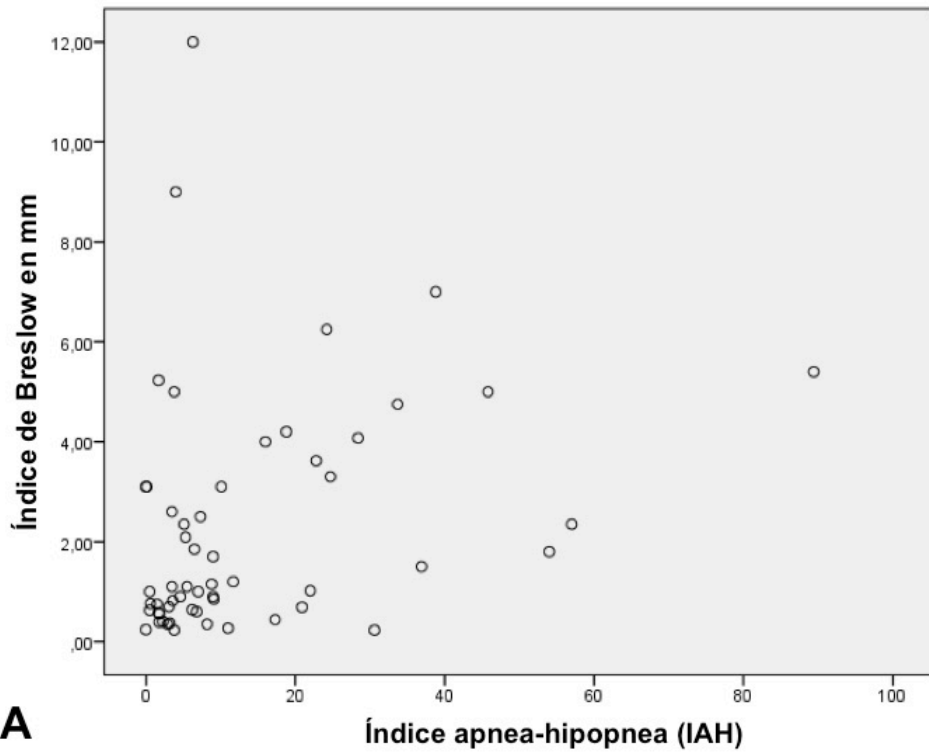
**Tabla 19. Relación entre los parámetros de alteración de la respiración durante el sueño y la VCM como variable continua**

Variables	Coefficiente $\beta$	T de Student	P-Valor	IC 95%
<b>Modelo 1<sup>1</sup></b>	0,033	4,16	0,001	0,017-0,049
<b>Modelo 2<sup>2</sup></b>	0,028	0,46	0,004	0,009-0,047
<b>Modelo 3<sup>3</sup></b>	0,026	3,26	0,002	0,010-0,042
Modelos de regresión logística utilizando el IAH como variable dependiente en el modelo 1, IDO <sub>3%</sub> en el modelo 2, IDO <sub>4%</sub> en el modelo 3, y edad, sexo e IMC como factores de confusión. <sup>1</sup> R <sup>2</sup> =0,29; <sup>2</sup> R <sup>2</sup> =0,21; <sup>3</sup> R <sup>2</sup> =0,22				

La **figura 18** muestra una correlación positiva entre el índice de Breslow y el IAH ( $r=0,37$ ,  $P=0,005$ ), IDO<sub>3%</sub> ( $r=0,43$ ,  $P=0,001$ ) e IDO<sub>4%</sub> ( $r=0,43$ ,  $P=0,001$ ), y entre la tasa de mitosis y el IDO<sub>3%</sub>, en este último caso sin alcanzar significación estadística ( $r=0,24$ ,  $P=0,07$ ). Ese mismo fenómeno se observó en la VCM, de forma que se estableció una correlación positiva entre la VCM del MM en mm/mes y el IAH (**figura 19a**), ID<sub>3%</sub> (**figura 19b**), y el IDO 4% (**figura 19c**).

En los pacientes con SAOS severo (IAH $\geq$ 30), el índice mitótico fue significativamente superior en comparación con los pacientes restantes (5,37 $\pm$ 7,56 frente a 1,83 $\pm$ 2,9,  $P=0,023$ ). A su vez, los pacientes con un IAH  $\geq$  30 ( $P=0,06$ ), IDO<sub>3%</sub>  $\geq$  10 ( $P=0,08$ ) IDO<sub>4%</sub>  $\geq$  10 ( $P=0,08$ ) mostraron tendencia hacia la ulceración tumoral.





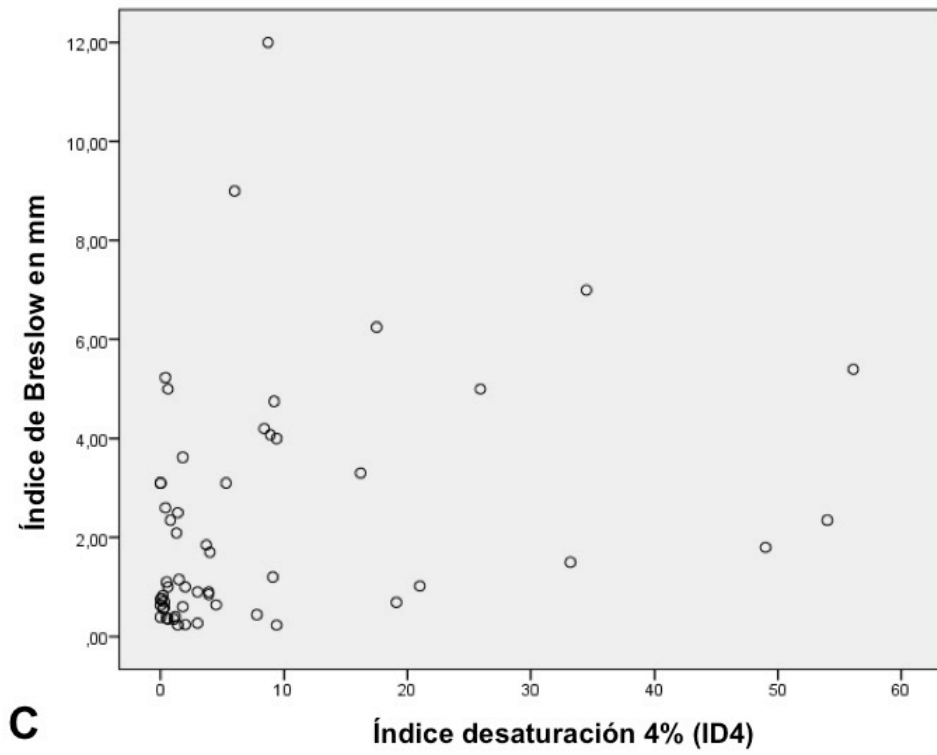
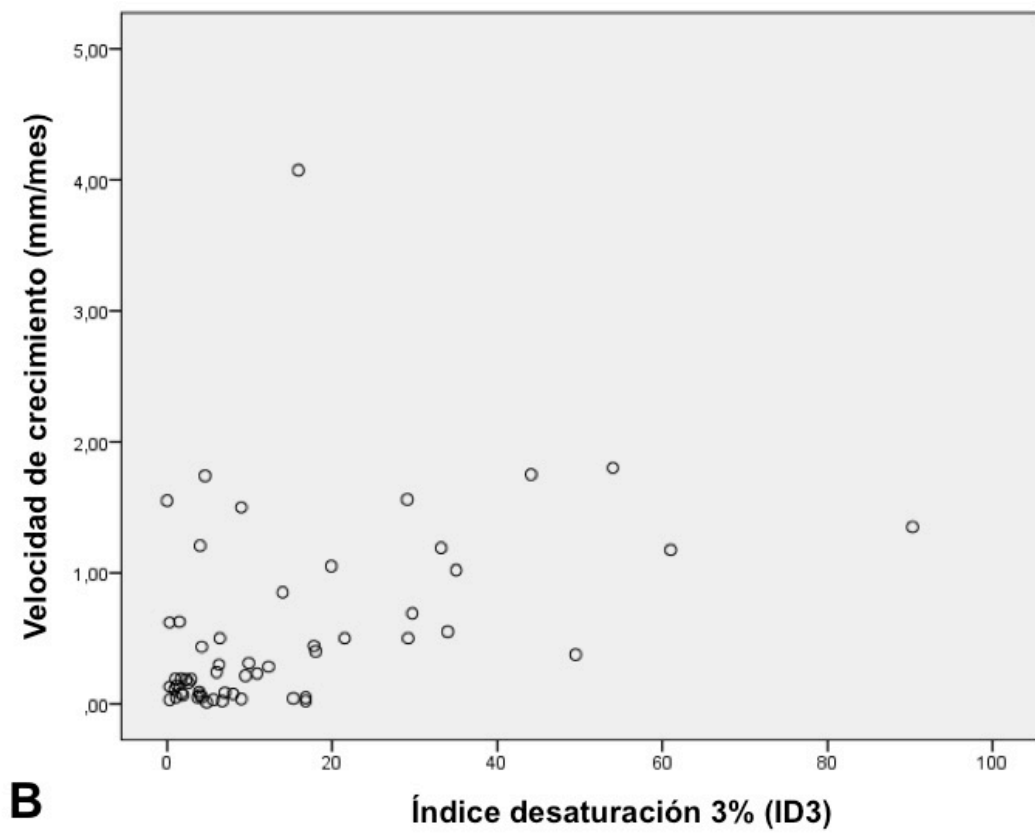
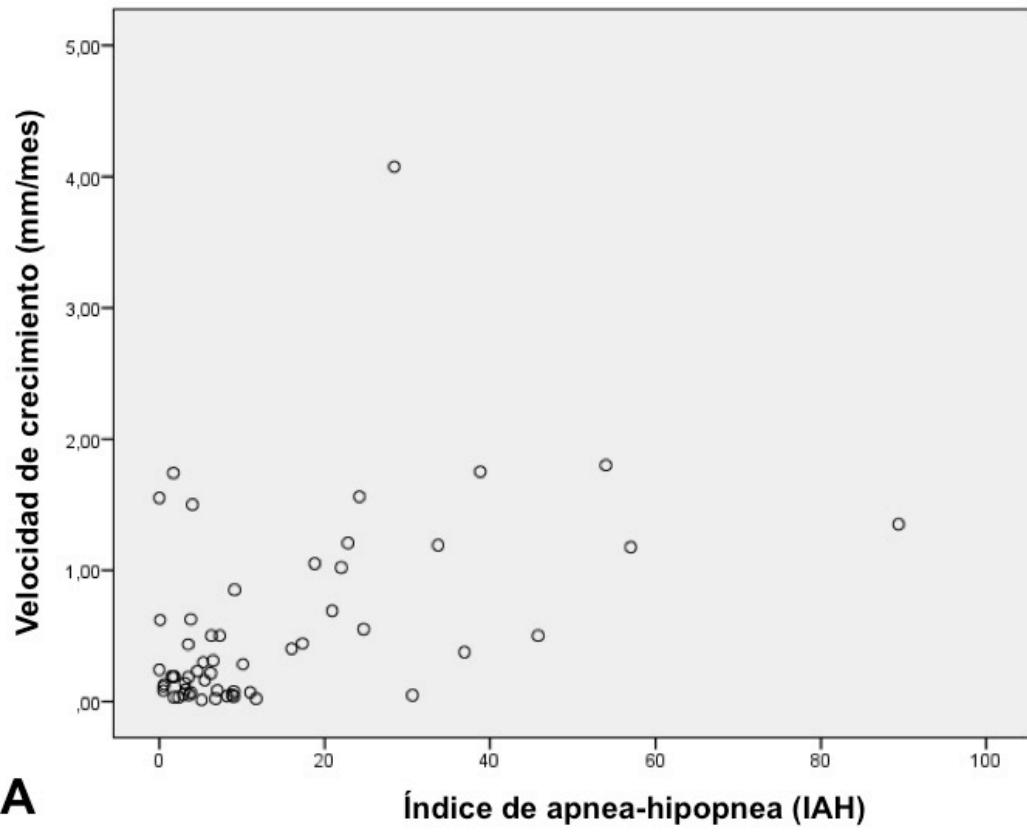


Figura 18. Correlación entre el índice de Breslow y los parámetros de alteración durante el sueño. A) índice apnea-hipopnea B) IDO3% y C) IDO4%



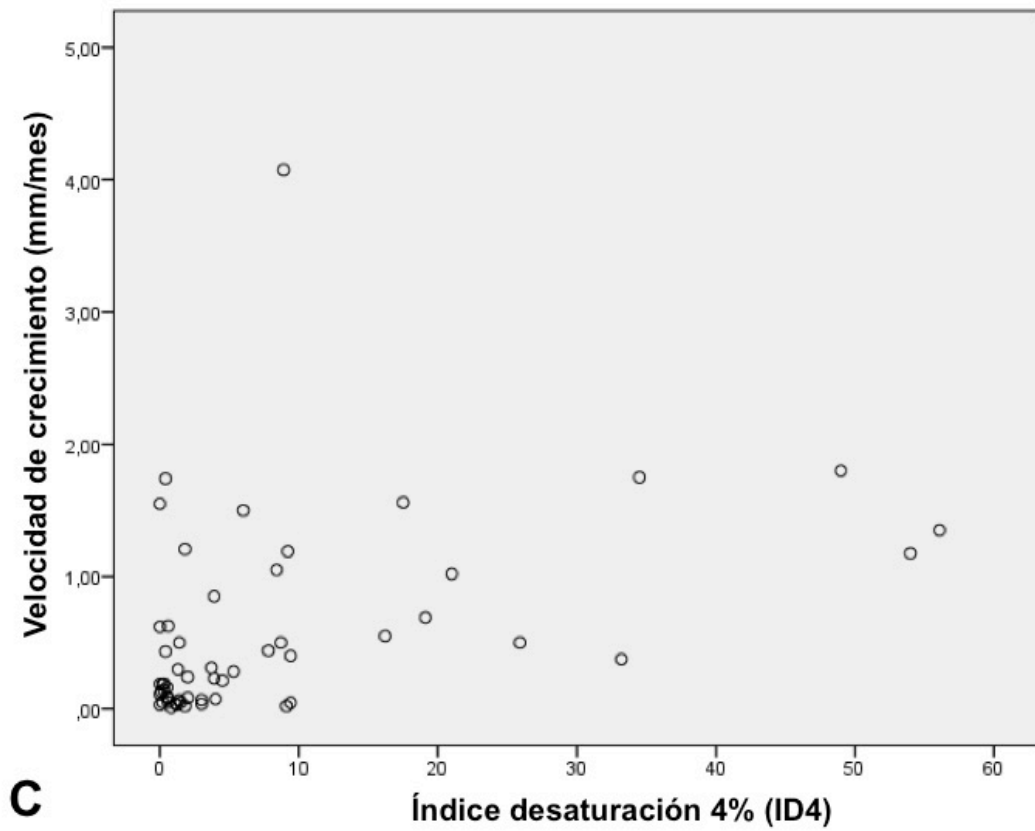
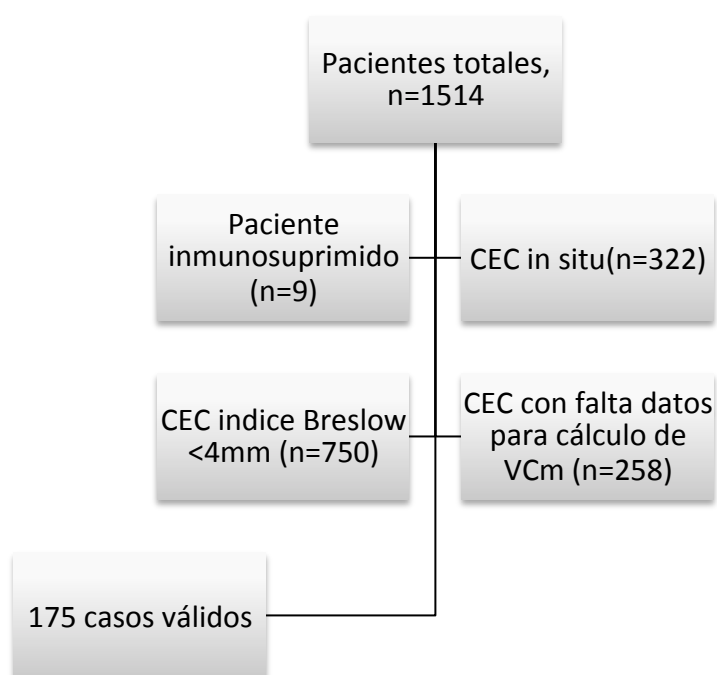


Figura 19. Correlación entre la VCm y los parámetros del sueño. A) índice apnea-hipopnea B) IDO3% y C) IDO4%

## 8.6. ESTUDIO 6: Aplicación del concepto velocidad de crecimiento en el carcinoma epidermoide cutáneo y valor pronóstico

Un total de 175 casos fueron incluidos en el estudio, 137 hombres (78,3%) y 38 mujeres (21,7%) de edades comprendidas entre los 65 y los 77,5 años (media, 70,6; mediana, 70) (**Figura 20**).



**Figura 20. Diagrama de flujo del estudio 6**

Se realizó un análisis sobre las variables reconocidas universalmente como de mal pronóstico en el CEC para la posterior realización de los análisis multivariantes.

Tabla 20. Características epidemiológicas de los pacientes incluidos en el estudio 6

Variable	Muestra (n=177)	<sup>a</sup> CECna (n=83) 46,9%	<sup>b</sup> CECa (n=94) 53,1%	<sup>h</sup> P
	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)	
<b>Edad (años)</b>	70,6 (10,4)	65,1 (9,7)	75,4 (8,4)	<0,001
<b>Edad (%)</b>				<0,001
<40	1,1%	2,4%	0,0%	
40-65	31,1%	50,6%	13,8%	
>65	67,8%	47%	86,2%	
<b>Sexo (%)</b>				<0,001
Hombre	78,3%	72,8%	83%	
Mujer	21,7%	27,2%	17%	
<b>Profesión fotoexpuesta (%)</b>				0,126
Sí	45,1%	39,5%	50%	
No	54,9%	60,5%	50%	
<b><sup>c</sup>AP CBC</b>				<0,001
Sí	18,6%	8,4%	27,7%	
No	81,4%	91,6%	72,3%	
<b><sup>d</sup>AP MM</b>				NA
Sí	0%	0%	0%	
No	100%	100%	100%	
<b><sup>e</sup>AP CEC</b>				<0,001
Sí	20,9%	8,4%	31,9%	
No	79,1%	91,6%	68,1%	
<b><sup>f</sup>AP QA</b>				0,004
Sí	45,2%	33,7%	55,3%	
No	54,8%	66,3%	44,7%	

<b>Fototipo</b>				
<b>Tipo I</b>	1,1%	0,0%	2,1%	
<b>Tipo II</b>	16,9%	6,0%	26,6%	
<b>Tipo III</b>	79,7%	91,6%	69,1%	<0,001
<b>Tipo IV</b>	2,3%	2,4%	2,1%	
<b>Tipo V</b>	0,0%	0,0%	0,0%	
<b>Tipo VI</b>	0,0%	0,0%	0,0%	
<b>Color pelo</b>				
<b>Negro</b>	13,6%	12%	14,9%	
<b>Castaño osc.<sup>i</sup></b>	58,8%	67,5%	51,1%	0,09
<b>Castaño claro</b>	26,5%	20,5%	31,9%	
<b>Rubio</b>	0%	0%	0%	
<b>Pelirrojo</b>	1,1%	0%	2,1%	
<b>Color ojos</b>				
<b>Negro</b>	6,8%	9,6%	4,3%	
<b>Marrón oscuro</b>	51,4%	65,1%	39,4%	
<b>Marrón claro</b>	36,2%	20,5%	50%	<0,001
<b>Verde</b>	3,4%	0%	6,4%	
<b>Azul</b>	2,3%	4,8%	0%	

<sup>a</sup>CECna, Carcinoma epidermoide cutáneo no adenopático

<sup>b</sup>CECa, Carcinoma epidermoide cutáneo adenopático

<sup>c</sup>AP CBC, antecedente personal de carcinoma basocelular

<sup>d</sup>AP MM, antecedente personal de melanoma maligno

<sup>e</sup>AP MM

<sup>f</sup>CEC, antecedente personal de carcinoma epidermoide cutáneo

<sup>g</sup>AP QA, antecedente personal de queratosis actínica

<sup>h</sup>P, grado de significación estadístico, fijado en <0,005

<sup>i</sup>Castaño osc, castaño oscuro

Desde el punto de vista epidemiológico (tabla 20), El grupo de CEC adenopático (CECa) mostró diferencias estadísticamente significativas

respecto a la edad de aparición de la tumoración. De esta forma, los pacientes con CECa presentaron la lesión en edades comprendidas entre los 68-80 años, con una edad media de 75,4 años y una mediana de 76 años. Por contra, los CEC no adenopáticos (CECna) se manifestaron a edades comprendidas entre los 60 y los 71 años, siendo la edad media de 65,1 y la mediana de 65 años.

De la misma forma, los CECa se desarrollaron con mayor frecuencia en pacientes con fototipo II y mostraron una frecuencia significativamente superior de antecedente personal de CEC y de carcinoma basocelular, así como una mayor frecuencia de queratosis actínicas.

Desde el punto de vista clínico (**tabla 21**), el CECa se localizó con una frecuencia significativamente superior en el pabellón auricular (7% con respecto al 0%), en la región perilabial (7% con respecto al 0%), en sien (37% frente al 3%) y en región periauricular (21% frente al 5%).

A su vez, el CECa fue una tumoración inicialmente recidivante (38,3% frente a un 2,4% en el CECna;  $P < 0,001$ ), que mostró dimensiones superiores (media  $4 \times 2,5$  frente a  $2,9 \times 2,2$ ), y una mayor frecuencia de ulceración (40,4 frente al 24,1).

Desde el punto de vista dinámico, el CECa mostró una VCm significativamente superior a la del CECna (CECa, velocidad media=1,4; CECna, velocidad media= 0,4).

Desde el punto de vista histológico (**tabla 21**), los CECa mostraron un espesor tumoral marcadamente superior (media de 6,9 mm en el CECa frente a un 5,4 mm en el CECna;  $P = 0,018$ ), con un índice de Clark superior con respecto a la variante no adenopática (61,7% de casos de CECa Clark IV con respecto al 26,5% Clark IV de los CECna). El grado de diferenciación fue marcadamente pobre en las formas adenopáticas (36,2% pobremente diferenciados y 25,5% indiferenciados) con respecto a las formas no adenopáticas (2,4% pobremente diferenciados y 0% indiferenciados). La tasa



de mitosis/10 campos fue significativamente superior en el CECa (media, 25 mitosis/10 campos) con respecto al grupo de CECna (media, 5 mitosis/10 campos).

Respecto a los subtipos histológicos, el CECa mostró un patrón de crecimiento infiltrativo en una frecuencia marcadamente superior a las formas no adenopáticas (74,5% en CECa frente a un 15,7% en el CECna;  $P < 0,001$ ) y a su vez mostró mayor frecuencia de invasión vascular (23,4% de los CECa frente al 2,4% en los CECna,  $P < 0,001$ ) y perineural (55,3% de los CECa frente al 19,3% de los CECna,  $P < 0,001$ ).

La presencia de queratosis actínica en el área del tumor fue marcadamente superior en el CECa (media= 40,4%) con respecto al grupo de CECna (media=14,5%).

No se observaron diferencias significativas con respecto a la presencia de desmoplasia, ni con la presencia y el tipo de infiltrado inflamatorio.

**Tabla 21. Características clínico-patológicas de los pacientes incluidos en el estudio 6**

Variables clínicas del tumor	Muestra (n=177)	CECna (n=83) 46,9%	CECa (n=94) 53,1%	P
	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)	
<b>Tipo de tumor</b>				
<b>Primario</b>	78,5%	97,6%	61,7%	<0.001
<b>Recidiva</b>	21,5%	2,4%	38,3%	
<b>Diámetro (en cm)</b>				
<b>mayor</b>	3,5 (2,1)	2,9 (2,5)	4 (1,6)	<0.001
<b>menor</b>	2,9 (1,4)	2,2 (1)	3,5 (1,5)	

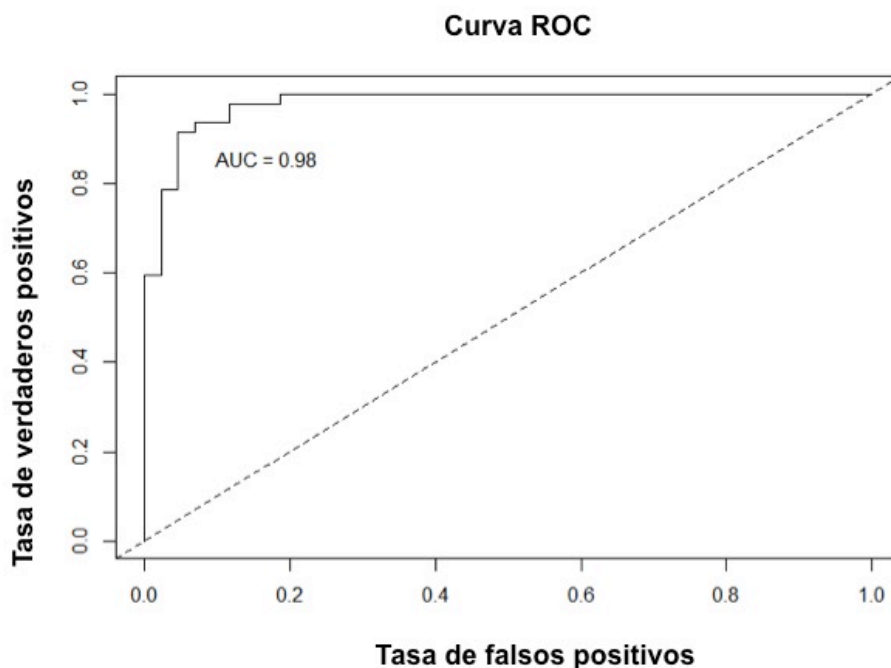
<b>Localización</b>				
-Frontal	14,1%	28%	2%	<0.001
-Sien	21,5%	3%	37%	
-Mejilla	23,7%	39%	10%	
-Dorso nasal	2,3%	2%	2%	
-Calota	14,1%	18%	11%	
-Periauricular	13,6%	5%	21%	
-Fuera de cabeza/cuello	4%	5%	3%	
-Pabellón auricular	3,4%	0%	7%	
-Perilabial	3,4%	0%	7%	
<b>Ulceración</b>				
<b>Sí</b>	32,8%	24,1%	40,4%	0.021
<b>No</b>	67,2%	75,9%	59,6%	
<b>Tiempo de evolución (meses)</b>	8,6 (4,6)	12,7 (3.3)	5 (1,6)	<0.001
<b>Variables histológicas dell tumor</b>	<b>Muestra (n=177)</b>	<b>CECna (n=83)</b> 46,9%	<b>CECa (n=94)</b> 53,1%	<b>P</b>
<b>Espesor tumoral/Breslow ( en mm)</b>	6,7 (3,3)	5.4 (4)	6,9 (2,6)	0,018
<b>Índice de Clark</b>				
<b>I</b>	0%	0%	0%	<0,001
<b>II</b>	12,4%	16,9%	8,5%	
<b>III</b>	35,6%	49,4%	23,4%	
<b>IV</b>	45,2%	26,5%	61,7%	
<b>V</b>	6,8%	7,2%	6,4%	
<b>VI</b>	0%	0%	0%	

<b>Grado de diferenciación</b>				
<b>Bien</b>	25,4%	51,8%	2,1%	
<b>Moderada</b>	40,7%	45,8%	36,2%	<0,001
<b>Pobre</b>	20,3%	2,4%	36,2%	
<b>Indiferenciado</b>	13,6%	0%	25,5%	
<b>Subtipo histológico</b>				
<b>Infiltrativo</b>	46,9%	15,7%	74,5%	
<b>Expansivo</b>	48,6%	80,7%	20,2%	<0,001
<b>Acantolítico</b>	4,5%	3,6%	3%	
<b>Desmoplasia</b>				
<b>Sí</b>	13,6%	12%	14,9%	0,581
<b>No</b>	86,4%	88%	85,1%	
<b>Infiltrado inflamatorio</b>				
<b>Presente</b>	88,12%	90,4%	85,1	
<b>Ausente</b>	11,8%	9,6%	13,8%	<0,433
<b>Tipo infiltrado inflamatorio</b>				
<b>Linfocítico</b>	26,5%	25,3%	27,7%	
<b>Linfoplasmocitario</b>	50,3%	57,8%	43,6%	0,103
<b>Plasmoeosinófilo</b>	23,2%	16,9%	28,7%	
<b>Número de mitosis /10 campos</b>	16,3 (12;3)	5,7 (5)	25,4 (9,1)	<0,001
<b>Invasión vascular</b>				
<b>Sí</b>	13,5%	2,4%	23,4%	<0,001
<b>No</b>	86,4%	97,6%	76,6%	
<b>Invasión perineural</b>				
<b>Sí</b>	38,4%	19,3%	55,3%	<0,001
<b>No</b>	61,6%	80,7%	44,7%	

<b>Queratosis actínica adyacente</b>				
<b>Sí</b>	28,3%	14,5%	40,4%	<0,001
<b>No</b>	71,7%	85,5%	59,6%	
CECna, Carcinoma epidermoide cutáneo no adenopático CECa, Carcinoma epidermoide cutáneo adenopático QA: Queratosis actínica P, Grado de significación estadístico, fijado en <0,005				

**Tabla 21.** Características clínico-patológicas de los CEC del estudio

El modelo de regresión logística para predecir aquellos CEC con mayor riesgo de metástasis nodal (CECAR) mostró un elevado poder predictivo, con un AUC = 0,98 (95% CI [0,96-1] (**figura 21**) y un bootstrap validado AUC = 0,97. El modelo de calibración mostró también resultados positivos con una media de error absoluto de 0,014.



**Figura 21.** Curva ROC para el modelo de regresión logística que predice el tipo de enfermedad

Las 3 variables predictivas que se asociaron significativamente con el tipo de enfermedad incluyeron la edad, el número de mitosis y la VCm (**tabla 22**). Las edades más avanzadas se asociaron a una mayor probabilidad de desarrollar CECa. (OR=1,2, 95% CI [1,1-1,3], P < 0,001). A su vez, el número de mitosis se asoció a una elevada probabilidad de desarrollar adenopatías. (OR=1,2, 95% CI [1,1-1,4], P < 0,001). Por último, la VCm elevada en el CEC también se asoció a una mayor probabilidad de desarrollar CECa. (OR=37,3, 95% CI [4,0, 376,1], p < 0.001).

**Tabla 22. Modelo de regresión logística para predecir el tipo de enfermedad**

Variable	Coeficiente	Error estándar	Odds ratio [IC 95%]	p-valor
<b>log(velocidad)</b>	3,62	1,0	37,3 [4,0, 376,1]	<0,001
<b>Nº mitosis 10 c.</b>	0,22	0,05	1,2 [1,1, 1,4]	<0,001
<b>Edad</b>	0,17	0,05	1,2 [1,1, 1,3]	<0,001

El modelo de regresión logística nos indica que tanto la velocidad (su logaritmo), como el número de mitosis y la edad son factores predictivos independientes del tipo de enfermedad (a mayor velocidad, nº de mitosis o edad mayor riesgo de enfermedad adenopática). Para representar los resultados de este modelo se han realizado distintas gráficas relacionando estas variables con los dos grupos de enfermos (**figura 22-24**).

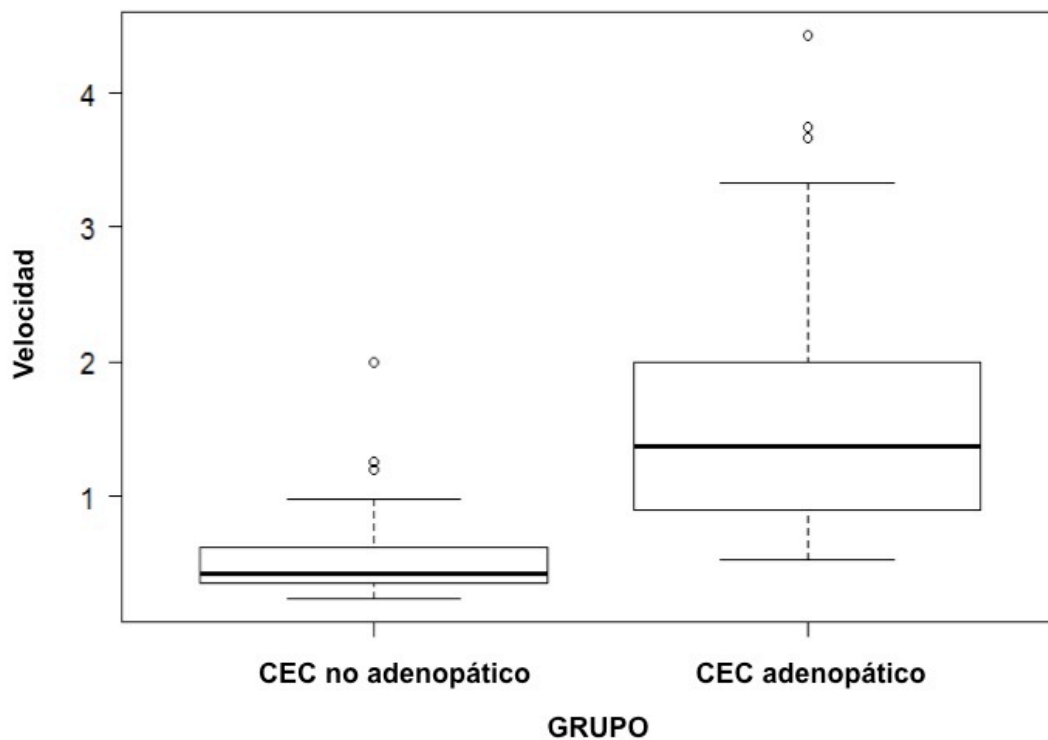


Figura 22. Diagrama de cajas de la VCm según el grupo. En la gráfica se observa como el grupo adenopático (grupo 2) tiene valores más elevados de velocidad.

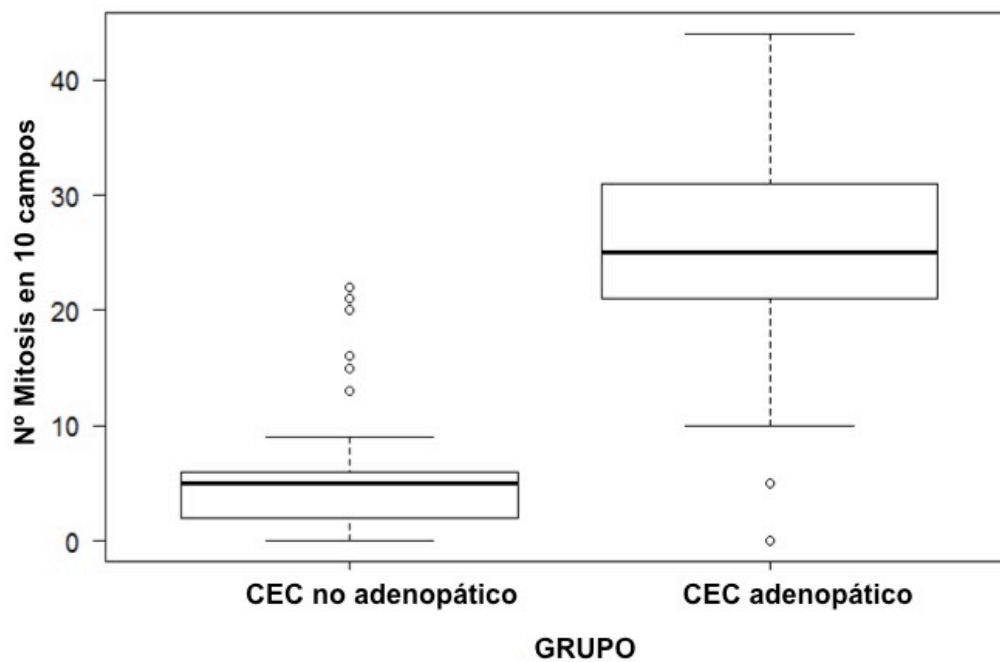


Figura 23. Diagrama de cajas de la VCm según el nºmitosis por 10 campos

Al igual que en la anterior gráfica, se observan claras diferencias entre los dos grupos. El grupo CECa tiene un mayor número de mitosis que el grupo CECna (figura 23).

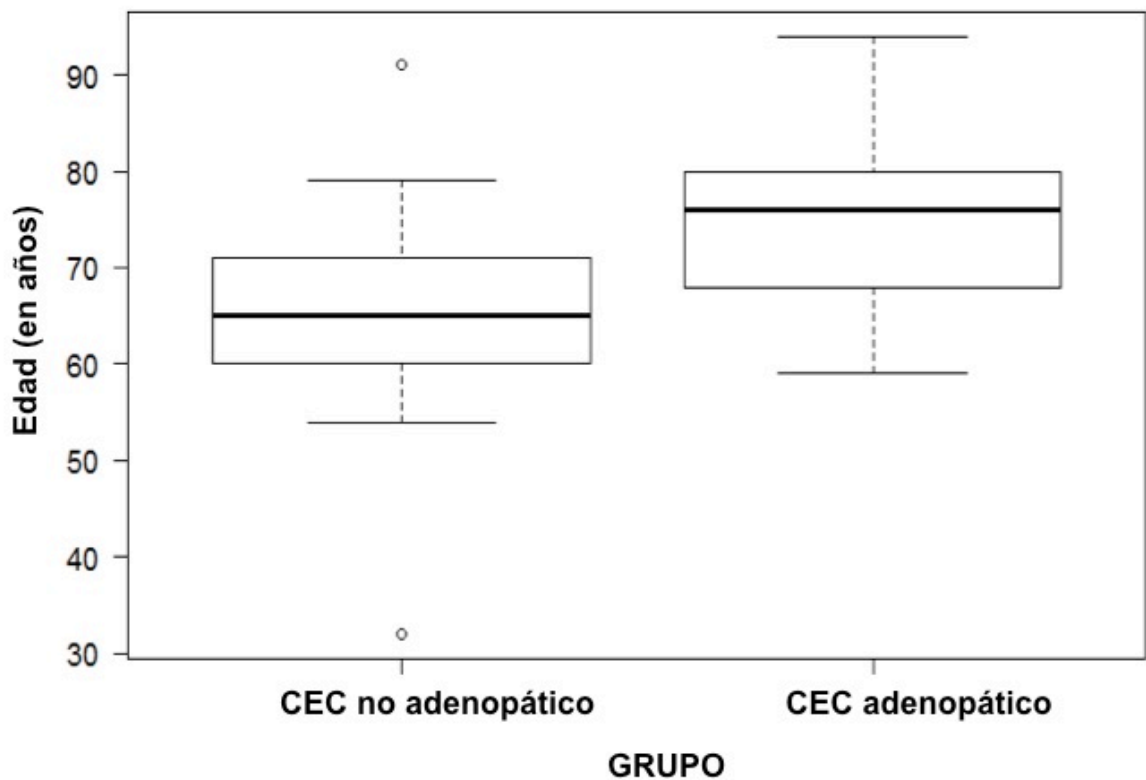


Figura 24. Diagrama de cajas de la VCM según la edad en años

Aunque la diferencia no es tan evidente como con el número de mitosis y con la VCM, se observa que los individuos del grupo CECa son de mayor edad que los del grupo CECna (figura 24).

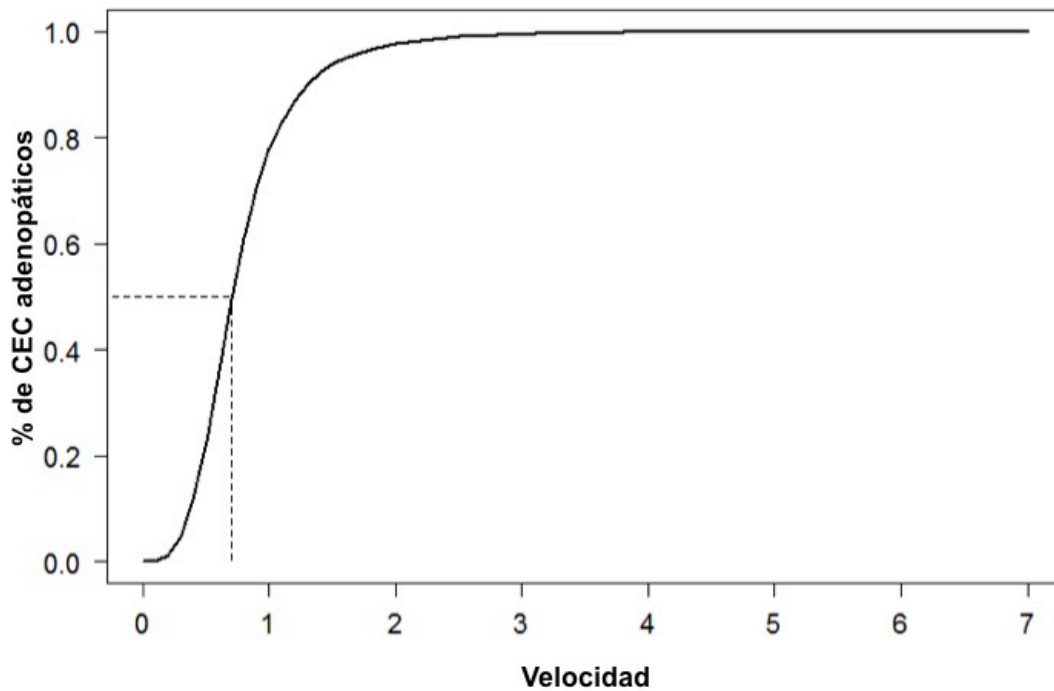


Figura 25. Diagrama de relación entre la probabilidad de desarrollar adenopatías en función de la VCm

En la [figura 25](#) puede verse como cambia la probabilidad de tener la enfermedad adenopática según aumenta la velocidad manteniendo edad y número de mitosis constantes en sus valores medios (edad=70,6 y mitosis=16,3).

A su vez, observando la tabla de contingencia ([tabla 23](#)) ya se intuye que el tipo de enfermedad tiene una influencia importante en el riesgo de recaída: Sólo un 7% del grupo CECna recae y, sin embargo, en el grupo CECa este porcentaje aumenta hasta el 27,7%.



**Tabla 23. Tabla de contingencia. Evaluación de la tasa de recaída según el desarrollo de adenopatías**

	Grupo estudio 1 (no adenopático)	Grupo estudio 2 (Adenopático)
<b>Recaída</b>	6	26
<b>No recaída</b>	75	68
<b>% de recaídas</b>	7,41%	27,66%

El modelo de regresión logística muestra que existe una asociación estadísticamente significativa entre el CECa y un aumento en el riesgo de recaída (OR = 4,78, p=0,001) (**tabla 24**).

**Tabla 24. Análisis de relación entre recaída y CEC adenopático frente a no adenopático**

Variable	Coficiente	Error estándar	Odds ratio [IC 95%]	P-valor
<b>CEC adenopático</b>	1,56	0,48	4,78 [2,0, 13,5]	0,001

El nomograma predice la probabilidad de un paciente individual con CEC de desarrollar adenopatías (**figura 26**). Para usar el nomograma, se señala el valor de cada individuo en el eje de cada variable predictiva; se traza una línea en dirección superior para determinar el número de puntos que el paciente recibe por cada valor de la variable predictiva. Los puntos son sumados y el número total se localiza en el eje correspondiente de “puntos totales”. Así, se dibuja una línea en dirección inferior para determinar la probabilidad de que un CEC presente adenopatías en el seguimiento.

El presente nomograma fue evaluado por primera vez usando los datos de la Fundación Instituto Valenciano de Oncología. Dado que estos datos se han utilizado tanto para el desarrollo como para la evaluación del nomograma, se realizó el recurso estadístico de bootstrapping para obtener una corrección de los sesgos.

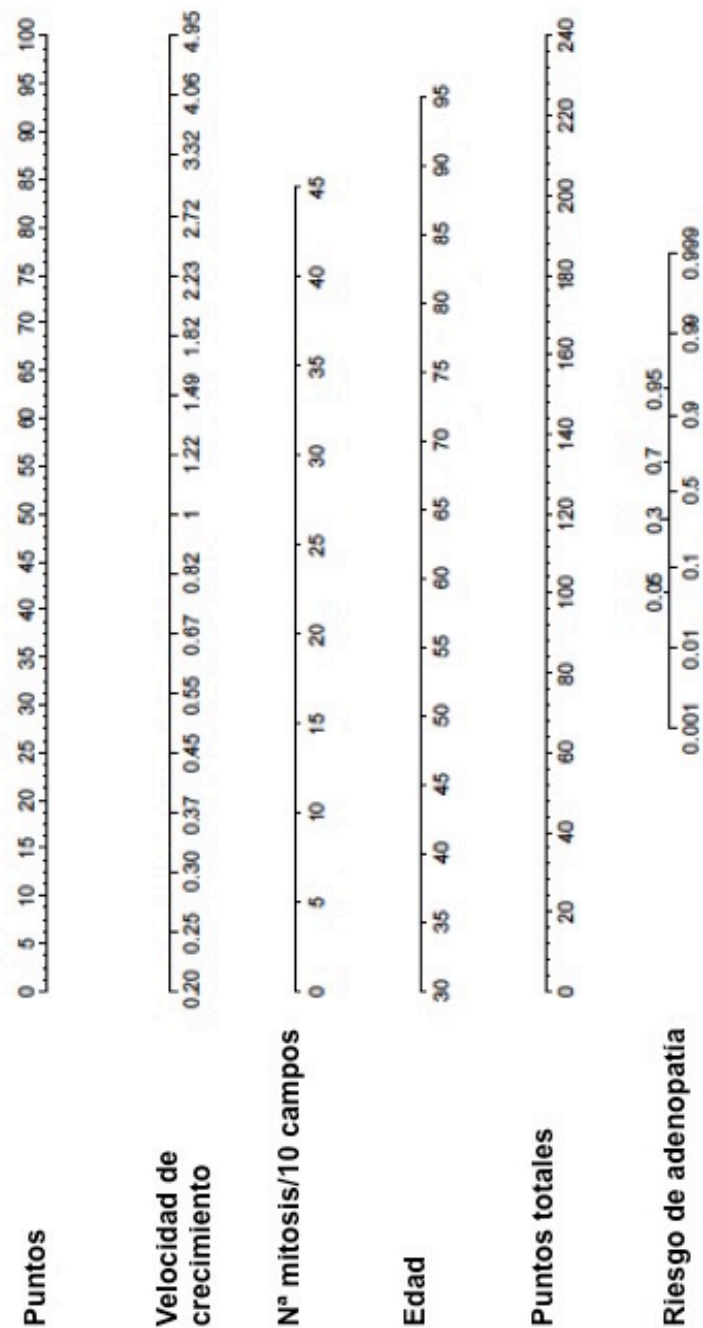


Figura 26. Nomograma para predecir la probabilidad de un CEC de desarrollar adenopatías



# DISCUSIÓN

---



## 9. Discusión

La velocidad de crecimiento (VC) de una neoplasia es un concepto considerado de forma global como un factor importante en la evaluación clínica de un paciente con un proceso oncológico en general, y sobre el que se ha dedicado un particular interés en la patología maligna cutánea, principalmente en el caso del MM. (65,75,184,185) Este hecho queda reflejado en la existencia de múltiples trabajos dirigidos hacia la evaluación de esta variable como un factor pronóstico independiente del MM. A su vez, su importancia ha sido sugerida en el caso del CEC, hasta el extremo que en las últimas clasificaciones de la AJCC (14,186) y de la NCCN (187) del CEC y en un último trabajo publicado en la que se comienza a nombrar el concepto de VC en el cáncer cutáneo no melanoma(145). Sin embargo, su carácter subjetivo ha impedido su aceptación y su uso generalizado en la práctica clínica.

Sin embargo, diversos estudios han aportado evidencias que sugieren que, pese a tratarse de un parámetro dependiente de datos subjetivos, su valor es reproducible en diferentes series. En este sentido, el trabajo realizado por Liu y colaboradores(76), en el que sugiere una clasificación del MM en base al modelo de cálculo de VC promulgado por Grob(82) (**Tabla 2**), y la corroboración de los datos por Tejera-Vaquerizo y colaboradores (185) nos permite aplicar el concepto de la VC para intentar caracterizar a los tumores cutáneos en base a esta variable.

El principal problema que existe en el cálculo de la VC es la imposibilidad de evitar el sesgo de memoria por parte del paciente,(188) ya que el dato clave para determinarla es el momento del cambio de la lesión. La situación ideal sería aquella en la que la tasa de crecimiento se pudiera evaluar mediante estudios de cohorte longitudinal prospectivos, pero por motivos éticos obvios estos estudios no son realizables(76). Como factores que pueden afectar al tiempo de detección de la lesión se incluyen la localización en áreas visibles y la apariencia de la lesión. Por ejemplo, los MM

lentiginosos acrales, localizados en piel acral, y los MM desmoplásicos, que habitualmente se presentan en forma de lesiones sobreelevadas de color de la piel normal, pueden pasar desapercibidos durante un largo período de tiempo, llevando a una sobreestimación de la VC. A su vez, el sesgo de recuerdo por memoria limitada puede también incurrir en errores del cálculo de la misma.

Para minimizar este sesgo de memoria, en el presente trabajo nuestros pacientes fueron evaluados de forma homogénea durante los primeros 3 meses tras la realización del diagnóstico y se entrevistó tanto al paciente como a su familia siempre que ello fue posible (90% de las entrevistas) (73,189).

El modelo clásico de cálculo de la VC descrito por Grob y posteriormente aplicado por Liu y Tejera-Vaquerizo (76,82,185) presenta 3 limitaciones principales: (i) la afirmación de que la VC de cualquier tipo de lesión es constante. (ii) La consideración de que todas las lesiones son invasoras desde el inicio. (iii) El uso del espesor de Breslow como equivalente al volumen tumoral. De hecho, el primer método para calcular la VC propuesta por Grob y colaboradores (82) representaba la media de crecimiento durante el periodo de crecimiento más que la velocidad de crecimiento en un punto de la evolución de una lesión.

En el presente trabajo se realizó una modificación en el cálculo de la VC con el objetivo de obtener una VC más próxima a lo que probablemente sea real, a la que denominamos velocidad de crecimiento modificada (VCm) (Ver descripción en material y métodos, [estudio 1](#) y [figura 13](#)). Así, consideramos la percepción del inicio de cambios en la lesión del paciente. A su vez, cuando fue pertinente, añadimos la percepción de crecimiento volumétrico para establecer la VCm. Este cambio fue basado, en el caso del MM, en el hecho de que nuestro principal objetivo fue la evaluación de la fase más agresiva del mismo, que corresponde con el tiempo de crecimiento vertical. El valor añadido de esta modificación se ve reflejada en nuestro estudio de supervivencia donde mejora el valor pronóstico respecto a la VC

descrita por Grob. En el caso del CEC, el crecimiento volumétrico indica la pérdida de localización intraepitelial de la tumoración y el inicio de invasión, fenómeno que resulta incluso más evidente que en el MM, y que marca el inicio de riesgo de complicaciones con esta tumoración.

De esta forma, y basándonos en lo previamente publicado, el presente compendio de estudios ha ido encaminado a la aplicación de este concepto sobre los 2 cánceres de piel con capacidad metastásica más frecuentes en nuestra población, por orden, el MM y el CEC. A su vez, el carácter práctico de la VC fue reflejado mediante la interacción de 2 enfermedades tan aparentemente alejadas como son el MM y el síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS) que se ven unidas por el carácter dinámico que desprende la VC.

Nuestro primer paso fue analizar, en base a lo previamente publicado de MM y VC, las características de esta lesión melanocítica maligna a través del **estudio 1** titulado “*Definición de la velocidad de crecimiento en el melanoma: evaluación de aspectos epidemiológicos, clínicos e histológicos*”.

En este trabajo, que incluyó a 386 pacientes, se distribuyó a los casos en función de su VC. Así, los MRC representaron el 29% del total de pacientes incluidos en el estudio. Este porcentaje concuerda con resultados publicados previamente, que coinciden en reconocer a esta variante de rápido crecimiento de MM como un subtipo importante y frecuente de MM (76,107). Teniendo en cuenta que en 58 casos la VC no pudo ser evaluada, el MCR representó aproximadamente el 25% (111/444) del total de nuestra población de MM. La evaluación de las características epidemiológicas, clínicas e histológicas de esta variante de rápido crecimiento en comparación con las otras variantes de crecimiento intermedio y lento (MCI&L), nos permitió establecer las conclusiones de este primer estudio de caracterización del MCR.

Desde el punto de vista epidemiológico, el MCR era más prevalente en pacientes con edades superiores a los 65 años. El sexo no mostró influencia



en el desarrollo de un tipo específico de MM en función de su VC. A su vez, ni los antecedentes familiares ni la historia familiar previa de MM o de cáncer no cutáneo se asociaron con el MCR. Sin embargo, la historia personal de CCNM mostró una asociación estadísticamente significativa con el desarrollo de MCR. A pesar de que existe una clara interacción entre las edades superiores a 65 años y el antecedente personal de CCNM, la existencia de asociación entre estas 2 variables y el MCR podría justificarse por la presencia de una alteración de la respuesta inmune hacia las células neoplásicas, y por una disfunción de los mecanismos de reparación del DNA propia de pacientes de edad avanzada.(190–192)

Los pacientes que padecían el MCR no presentaban ningún fenotipo característico en relación con la pigmentación cutánea o el número de nevus.. La ausencia de un fenotipo pigmentario característico fue apoyado por la ausencia de diferencias en el genotipo de MC1R entre los diferentes subtipos de MM.

De acuerdo con nuestros hallazgos, los MCR parecen desarrollarse etiopatogénicamente con una menor influencia de la fotoexposición con respecto al desarrollo de las otras 2 variantes (MCI&L). En primer lugar, los pacientes con MCR mostraron una frecuencia de quemaduras solares leves o severas en la historia clínica personal significativamente inferior con respecto a los pacientes que presentaron MCI&L. En segundo lugar, se observó una incidencia significativamente inferior de quemaduras locales en el área del MM con respecto a las otras 2 variables. En esta línea, las áreas no fotoexpuestas de forma habitual fueron la localización predilecta para el desarrollo del MCR. A la vista de estos hechos, cabe asumir otras rutas etiopatogénicas, por ejemplo, con un mayor grado de influencia del componente genético, aparentemente no relacionado con la distribución pigmentaria, que podría favorecer el desarrollo de variantes más agresivas de MM.

El análisis de las características clínicas mostraron que el MCR se localizó con mayor frecuencia en el tronco, con un porcentaje menor pero

también importante de MM localizados en región acral. Sin embargo, estas localizaciones de MM no mostraron especificidad para esta variante de MM de crecimiento rápido.

Los resultados previos que sugirieron un comportamiento agresivo del MCR fueron corroborados por los resultados obtenidos en este estudio. La mitad de los casos de MCR mostraron un patrón histológico nodular, con ulceración presente en el 53.7% de los casos. El análisis de estos datos mediante un coeficiente de correlación  $\rho$  de Spearman demostró una correlación positiva considerable entre la VCm y el índice de Breslow ( $r=0,762$ ), que apoyaría el valor pronóstico de esta variable dinámica. A su vez la correlación positiva débil entre la VCm y la tasa mitótica ( $r=0.542$ ) justificaría la hipótesis de considerar a la VCm como una variable que aporta información que no aporta el índice mitótico, lo que justifica su utilidad en la mejor definición del MM.

En la misma línea, la estadificación del MCR mostró una diseminación locorregional en el 34.5% de los casos, contrastando con las variantes de crecimiento intermedio y lento. Los resultados se correlacionaron con la afectación del ganglio centinela(GC), que estuvo alterado en el 36.2% de los casos de MCR. A su vez, nuestros datos son comparables con los resultados obtenidos por Tejera-Vaquerizo y colaboradores, en el que la probabilidad de GC positivo para el MCR fue del 37,7%, con respecto al MCI (19,8%) y MCL (8,2%). (193)

En definitiva, a través del primer estudio establecimos varias características importantes que definen al MCR: (i) Desde el punto de vista epidemiológico, el MCR muestra una elevada incidencia en pacientes de edades mayores a los 65 años, sin mostrar predilección por sexo. (ii) La ausencia de historia personal de quemaduras solares en general y de quemaduras solares en el área del MM en particular apoya una etiopatogénesis no relacionada con la exposición solar del MCR. (iii) Desde el punto de vista clínico, los MCR se desarrollan con mayor frecuencia en el

tronco y en regiones acrales. (iv) Las características histológicas que definen la variante de MM de rápido crecimiento están relacionadas con mal pronóstico, incluyendo un grosor tumoral elevado, la presencia de ulceración, y un mayor índice mitótico; A su vez, esta variante se asoció con una incidencia de diseminación de afectación del GC significativamente superior a sus variantes de crecimiento lento e intermedio. Todo ello confirmaría el comportamiento agresivo del MCR, por lo que la VC podría representar un factor pronóstico sencillo de calcular para la evaluación del MM.

Con estos resultados prometedores, realizó un segundo análisis de un grupo de pacientes con MM con el fin de corroborar a la variable VCm como un factor pronóstico independiente, reflejado en el [estudio 2](#) titulado *“Evaluación de la velocidad de crecimiento del melanoma como factor pronóstico independiente”*.

En este caso, sobre una población de 418 casos con una mediana de seguimiento de 38 meses (rangos entre 1 y 95 meses), 19 pacientes murieron de MM y 43 casos recurrieron. Clasificando a los MM en función de la VC y de la VCm, la variante de MCR mostró tasas significativamente inferiores tanto de supervivencia global(SG) como de supervivencia libre de enfermedad(SLE) con respecto a las variantes de MCI&L, considerando en este trabajo a los MCR como aquellos que superaban los 0.4 mm/mes. En este caso se fijó el punto de corte de 0.4mm/mes para realizar estudios comparativos con un trabajo previo realizado por Tejera-Vaquerizo. (185)

De esta forma, tras ajustar los resultados obtenidos, la VC calculada según el modelo de Grob,(82) no se observaron diferencias significativas para la SG y perdió su valor cuando el grosor de Breslow fue categorizado. En contraste, la VCm, calculada en base a las modificaciones del cálculo de la VC aplicadas en el [estudio 1](#), mantuvo su valor significativo tanto para la SG como la SLE, en el caso de la última cuando se consideró el índice de Breslow como una variable continua. Los resultados del análisis multivariante se muestran en la [tabla 7](#).

Por lo tanto, a través del [estudio 2](#) se concluye que la VCm representa un factor pronóstico del MM principalmente en términos de SG. A su vez, debemos de destacar que su valor se mantuvo tras ajustar sobre los factores pronósticos actualmente más aceptados del MM, particularmente cuando calculamos la VC siguiendo nuestro modelo de VCm comentada previamente, en la que se tiene en cuenta el crecimiento volumétrico del tumor. De la misma forma, destacó el hecho de que la VCm fue más predictiva de mal pronóstico que el índice mitótico, a pesar de los trabajos previamente publicados que observaban una correlación positiva entre ambos índices.(76). Esto último sugiere que el crecimiento clínico del tumor refleja una agresividad tumoral que no puede ser exclusivamente medida con los factores pronósticos universalmente aceptados del MM, confirmando por tanto, la VC como un factor pronóstico relevante en el MM localizado.

Con la consideración de la VCm del MM como un factor pronóstico del MM localizado, en el que la VC calculada mediante el modelo de VC mostraba una información más específica de su valor pronóstico, se planteó la realización de una caracterización genética del MCR. Así, bajo el [estudio 3](#), titulado “*Análisis de la prevalencia de mutaciones BRAF y NRAS en los melanomas de rápido crecimiento no acrales*” y el [estudio 4](#), “*Prevalencia de mutaciones en el promotor TERT en los melanomas de crecimiento rápido*”, se pretendió analizar la veracidad de estudios publicados previamente acerca del patrón de expresión de estos genes en relación con la VC.

En relación a mutaciones en *BRAF* y *NRAS*,, algunos autores propusieron que la mayoría de los MM de espesor grueso podrían ser MCR.(74) A su vez, se había sugerido que los MCR probablemente no presentarían mutaciones en *BRAF*(75). Por el contrario, en nuestro estudio detectamos que los MCR localizados en región no acral portaban mutaciones en *BRAF* en una mayor proporción que aquellos MCI&L. Estas diferencias, sin embargo, no fueron significativas tras realizar el ajuste sobre los diferentes factores de confusión.

Sin embargo, nuestros resultados fueron consistentes con las características de los melanomas con mutación en *BRAF*, que característicamente muestran mayor grosor tumoral, mayor frecuencia de ulceración y presentan una mayor tasa de mitosis.(31,35)

Por otra parte, encontramos una proporción significativamente mayor de mutaciones en *NRAS* en los casos de MCR con respecto a los no-MCR. Este hallazgo es relativamente explicable si comparamos los perfiles clínico-patológicos del MCR ([estudio 1](#)) y el de los tumores asociados a mutaciones en *NRAS*. Estos últimos son tumores que habitualmente aparecen en población de edades avanzadas y que presentan unas características patológicas de agresividad (mayor grosor, mayor frecuencia de ulceración, y mayor tasas de mitosis). (194–196) En este caso, la asociación entre el MCR y las mutaciones en *NRAS* mantuvo la significación estadística tras el ajuste por edad, sexo, localización, grosor de Breslow y ulceración.

Como puntos fuertes del presente estudio destacan el tamaño razonablemente grande de la muestra, y la colección sistemática y consistente de datos procedentes de 1 centro donde los participantes que informaron de los datos necesarios para evaluar la VCm desconocían su estado mutacional. Sin embargo, como limitaciones no debemos de olvidar el número de pacientes que se perdieron en el análisis por falta de datos para calcular la VCm y también la baja prevalencia de mutaciones en *NRAS* que aumenta la probabilidad de que se trate de un hallazgo casual o relacionado con otras características, como posteriormente mostramos en los resultados obtenidos en el estudio de mutaciones en el promotor de *TERT*.

De este estudio concluimos que una proporción significativa de casos de MCR portan mutaciones en *NRAS*. Nuestros datos apoyan el papel de *NRAS* como mutación que influencia la VCm. A su vez, estos datos sugieren que las tumoraciones con mutaciones en *NRAS* muestran un comportamiento más agresivo que siguen mecanismos probablemente no relacionados con los factores clínico-patológicos pronósticos actualmente bien establecidos.

Siguiendo con la caracterización genética del MCR, la presencia de mutaciones en el promotor *TERT* ha emergido en los últimos años como un mecanismo clave para la sobreexpresión mantenida de la enzima telomerasa en el cáncer humano, para el mantenimiento de la capacidad ilimitada del crecimiento tumoral. (197)

Diferentes estudios han revelado que las células embrionarias germinales pluripotentes a las que se les modifica genéticamente para incluir mutaciones en la región promotora de *TERT*, a diferencia de las células germinales sin mutación, fracasan en el silenciamiento de *TERT*, lo cual se continúa en la diferenciación en células somáticas que resulta en un incremento de la actividad telomerasa y en la formación de télomeros anormalmente largos.(198)

En los últimos años se ha propuesto que la presencia de mutaciones en el promotor de *TERT* asociado a la presencia de mutaciones en *BRAF/NRAS* como la alteración somática más frecuente en el melanoma. (57,183) Así, las mutaciones no codificantes contenidas en el promotor *TERT* han sido propuestas como la principal causa de disregulación de la expresión de *TERT* a partir de la creación de novo de proteínas de unión para los factores de transcripción. (58)

De esta forma, en el **estudio 4** realizamos un análisis de 339 casos de MM (126 MCR y 213 MCI&L), para analizar la presencia de mutaciones en el promotor *TERT*, *BRAF* y *NRAS*.

El análisis reveló que las mutaciones en el promotor de *TERT* fueron más frecuentes (146 de 339 casos; 43.1%), seguidas de las mutaciones en *BRAF* (131 de 339 pacientes; 38.6%) y en *NRAS* (31 de 339 casos; 9.4%). A su vez, mientras la frecuencia de mutaciones en *BRAF* y *NRAS* no mostraban diferencias estadísticamente significativas en relación a la velocidad de crecimiento, la frecuencia de mutación en el promotor *TERT* fue casi 2 veces superior en el MCR (61.1%) con respecto al MCI&L ( 32.4%)(P <0.001).

La casi doble frecuencia de presencia de mutación en el promotor de *TERT* en el MCR frente al MCI&L va en la línea con la hipótesis de que en ausencia de telomerasa en el punto crítico del telómero la tasa de apoptosis en las células tumorales excede a la división celular y por lo tanto se produce una velocidad de crecimiento reducida. Nuestra observación es congruente con las observaciones previas en las que mutaciones en el promotor *TERT* en varios cánceres se ha asociado con un incremento de expresión de *TERT*, con formas tumorales más agresivas y peor pronóstico. (58,183,199,200)

Este dato fue corroborado mediante un estudio multivariante que reveló que la probabilidad de presentar mutación en el promotor de *TERT* era 3 veces superior en el MCR con respecto al MCI&L. (OR=3.1, IC95%: 1.69-5.67).

En base al valor del polimorfismo rs2853669, conocido por su capacidad de modificar la actividad telomerasa, se estratificó a los paciente en base al estado de portador del mismo, que se localiza en la región del promotor *TERT*. Los resultados mostraron cómo el efecto de la mutación en el *TERT* era superior en el paciente no portador de la variante alélica del polimorfismo, reflejado el hecho de que la combinación de ambas se asocia con una probabilidad 4 veces superior de desarrollar un MCR (OR 4.16 95%CI 2.29-7.53).

Estos datos contrastan con aquéllos pacientes con la presencia de mutaciones en el promotor en presencia del polimorfismo, que si bien muestran una mayor frecuencia de MCR, ésta se reduce a la mitad. (OR 2.15 95%CI 1.03-4.50). Por tanto, la modificación observada en el efecto de mutaciones de *TERT* sobre la VC en base a la presencia del polimorfismo rs285369 es consistente con observaciones previas en cáncer renal,(199) en las que la presencia de esta última mejoraría el pronóstico que confiere la mutación del promotor de *TERT*.

La casi doble frecuencia de presencia de mutación en el promotor de *TERT* en el MCR frente al MCI&L va en la línea de la hipótesis de que en la ausencia de telomerasa en el punto crítico del telómero la tasa de apoptosis en las células tumorales excede a la división celular y por lo tanto se produce una VC reducida. Por lo tanto, nuestra observación es congruente con las observaciones previas en las que mutaciones en el promotor *TERT* en varios cánceres se ha asociado con un incremento de expresión de *TERT*, formas tumorales más agresivas y peor pronóstico.

Por lo tanto, a través del [estudio 4](#) concluimos, en primer lugar, que la mutación en el promotor de *TERT* podría explicar, al menos en parte, la agresividad tumoral del MCR. En segundo lugar, que el estado portador del polimorfismo rs2853669 actúa de factor reductor de agresividad tumoral en aquellos pacientes con MM que presentan mutación en el promotor de *TERT*.

Definido en el MM el valor de una variable dinámica como es la VCm nuestro siguiente objetivo fue el pasar a la práctica clínica el concepto, evaluando por una parte su relevancia como factor dinámico en la búsqueda de comorbilidades con este dinamismo que podrían favorecer un peor pronóstico en el MM, realizado bajo en [estudio 5](#), “*Aplicación práctica del concepto de velocidad de crecimiento: Evaluación de asociación de síndrome de apnea del sueño y melanoma de rápido crecimiento*”. A su vez, se evaluó y se analizó el valor del concepto VC en el CEC, que junto al MM son 2 de los tumores que causan mayores tasas de mortalidad en la dermatología oncológica.

En el primer caso, en colaboración con especialistas en el campo de la Neumología con experiencia en el síndrome de la apnea del sueño, liderados por Martínez-García y colaboradores,(201) se llevó a cabo el primer estudio hasta la actualidad en el que se analiza la relación entre la presencia y severidad de SAOS y sus consecuencias oximétricas, y las diferentes variables pronósticas del MM, centrando la evaluación principalmente en el concepto dinámico de la VCm.



Desde el punto de vista fisiopatológico, existen mecanismos que correlacionan la hipoxia intermitente con la formación o la diseminación del cáncer, particularmente a través de moléculas intermediarias clave en el proceso, como el HIF-1, una molécula relacionada con la carcinogénesis, y el VEGF, que favorecen la neovascularización del tumor, y por lo tanto su expansión.(151,202,173)

De acuerdo con la hipótesis planteada, diferentes estudios realizados tanto en animales como en humanos han demostrado que la presencia de hipoxia intermitente (en ocasiones relacionadas con SAOS) está asociada con el crecimiento tumoral, (203) o una mayor incidencia de cáncer (175) y de mortalidad (204) tanto en estudio poblacionales como clínicos. Sin embargo, hasta el día de hoy no existía ningún estudio que analizara los efectos de la hipoxemia intermitente en pacientes diagnosticados de un tipo particular de cáncer ( en este caso el MM, dado que la VC de este tumor ha mostrado sensibilidad a la existencia de hipoxia intermitente en modelos de estudio animal). (203)

Una de las mayores ventajas de estudiar los factores relacionados con la historia natural del MM es el hecho de que estos tumores son, en su mayor parte, visibles, y por lo tanto, cualquier cambio indicativo de transformación maligna puede ser identificada por los pacientes o por sus familiares con un elevado grado de veracidad, como ya se ha demostrado previamente en los **estudios 1 y 2**. Estos cambios en la superficie del tumor han mostrado una buena correlación con su invasividad y su profundidad.(185) Toda esta información, junto al índice de Breslow, nos permitió calcular la VCm de los MM clasificando los casos en función de si se trataban de casos de MCR (tumoraación de crecimiento > 0.5 mm/mes) o No-MCR.

El primer dato interesante obtenido a partir de este experimento fue que la prevalencia de alteraciones de la respiración durante el sueño (ARS) en los casos con MM fue mayor que la esperada en la población general,

cuando se comparó con estudios epidemiológicos previamente realizados en pacientes comparables en edad y sexo.(205), a pesar de ser pacientes que presentan un discreto incremento en el IMC (media, IMC 26.8 Kg m<sup>2</sup>) sin la presencia de una excesiva hipersomnias diurna, medida a través de la escala del sueño de Epworth([anexo 8](#)), marcador clave para medir la severidad clínica de trastornos de la respiración durante el sueño.

El principal resultado de nuestro estudio, sin embargo, fue que la presencia de trastornos de la respiración durante el sueño y sus consecuencias oximétricas se asociaron de forma independiente y significativa con la VCm del MM. A su vez, se observó una correlación positiva entre la presencia de patrones poligráficos y oximétricos de gravedad con marcadores de agresividad tumoral, como la presencia de ulceración, la tasa de mitosis, y el índice de Breslow.

Todo ello apoya la hipótesis de que la hipoxia intermitente causada por una alteración de la respiración durante el sueño excesiva puede promover el desarrollo de MM con mayor VCm y por lo tanto de mayor agresividad en los pacientes portadores de esta enfermedad maligna y potencialmente mortal.

Sin embargo, como limitaciones metodológicas de nuestro estudio hacen necesario confirmar nuestros resultados con series más grandes. Probablemente uno de los principales factores de confusión es la edad, dado que éste es un factor importante que determina que cualquier MM diagnosticado pueda presentar una VC elevada en relación a la mayor exposición a los diferentes factores etiológicos (véase el [estudio 1](#)), y a su vez la edad se asocia con un mayor número de ERS (206). En este sentido, observamos una diferencia muy cerca de la significación estadística entre los 2 grupos de VCm. ( $p=0.06$ , con una diferencia clínicamente significativa de 8.4 años). Para minimizar el impacto de la edad en nuestro estudio, la incluimos como una variable de ajuste en todos los análisis multivariantes realizados.

Debemos de recordar que el presente estudio, a pesar de que revela resultados interesantes acerca de la posible asociación entre 2 patologías importantes como son los ERS y el MM, es un trabajo en una muestra poblacional pequeña, por lo que resultan necesarios más estudios que incluyan un mayor número de pacientes para alcanzar una mayor potencia estadística.

A su vez, la VCm depende de la memoria de los pacientes y de sus acompañantes, por lo que ésta puede ser considerada una característica subjetiva. Sin embargo, debemos de puntualizar que la VCm como ha quedado patente en el [estudio 2](#) y en algún trabajo previo (76,82,185), ha sido confirmada como un factor pronóstico independiente de SG y de SLE.

Finalmente este estudio tiene una naturaleza retrospectiva en cuanto al diagnóstico del MM, dado que los pacientes habían sido diagnosticados de este tumor en el año previo a la inclusión en el estudio. Sin embargo, debe de resaltarse que entre el diagnóstico del MM y su excisión, y la realización del test del sueño, no se observaron cambios significativos en el peso o en la presencia de nuevas variables de confusión.

Por lo tanto, con el presente experimento se concluye que la VCm como una variable útil en el estudio multidisciplinar de patologías que se caracterizan por su carácter dinámico de evolución, como queda demostrado en presente trabajo. A su vez, podemos concluir que la frecuencia y la severidad de las alteraciones de la respiración durante el sueño se mostraron asociadas de forma independiente como el MCR, y a su vez se correlacionó con un mayor espesor tumoral, un mayor índice mitótico, y una mayor frecuencia de ulceración, todos ellos factores asociados a un MM de mal pronóstico. En caso de confirmar estas conclusiones con un estudio de mayor número de pacientes, la aplicabilidad clínica será evidente, y abriría una nueva puerta hacia nuevas alternativas terapéuticas en el manejo del MM dirigidas tanto al control de la propia hipoxia intermitente, como a actuar sobre dianas específicas del daño oxidativo como el HIF-1 .(207–209).

Una vez analizada la importancia del concepto VCm en el MM, y dado que el CEC es una tumoración cutánea maligna con una elevada incidencia y que se asocia, en su variante de alto riesgo, a un elevado riesgo de diseminación nodal, y que tanto la AJCC como la NCCN consideran a las formas de “crecimiento rápido” como un factor importante en la predicción de complicaciones, se decidió aplicar el concepto VCm en esta tumoración.

En este caso el [estudio 6](#), bajo el título “*Aplicación del concepto velocidad de crecimiento en el carcinoma epidermoide cutáneo y valor pronóstico*”, tuvo como principal objetivo el analizar las variables que presentan mayor potencia estadística en la definición de la variante de alto riesgo, incluyendo en este caso el cálculo de la VCm, con el objetivo final de proponer un modelo de predicción o nomograma capaz de estimar la probabilidad de un CEC de desarrollar adenopatía, factor determinante primario en el pronóstico de la enfermedad. (10)

En este sentido cada vez existe mayor evidencia del hecho de que el desarrollo de metástasis a distancia no sólo dependen de un parámetro. De hecho, múltiples factores se han estipulado como variables de mal pronóstico en los últimos años ([tabla 25](#)) que acarrear un mayor o menor riesgo incrementado de metástasis nodal. (85)

Si bien es cierto que actualmente se conocen múltiples parámetros individuales que marcan un mayor o menor riesgo de desarrollar diseminación tumoral, también resulta evidente que su evaluación de forma independiente carece de valor real práctico. Por ello, resulta necesario de algún parámetro integrador de todos ellos, o bien de un modelo que defina la agresividad tumoral real del CEC.

En este sentido, a nivel de oncología en general, y de forma específica en oncología dermatológica ([estudios 1 y 2](#)) (76,82,185), la velocidad de

crecimiento tumoral es considerada como un marcador de agresividad tumoral tanto en el momento de diagnóstico como en el seguimiento y en la evaluación de la respuesta terapéutica, definido como presencia o ausencia de progresión tumoral. En esta línea, la aplicación de un factor tan dinámico como el que representa la VCm parece ideal en la evaluación pronóstica del CEC y en la integración de los diferentes parámetros pronósticos.

**Tabla 25. Factores de alto riesgo de desarrollo de metástasis**

<b>Factor de riesgo</b>	<b>Probabilidad de metástasis</b>
Tamaño >2 cm	20-30%
Grosor $\geq$ 5mm	16-45%
<b>Pobre diferenciación histológica</b>	12-32%
<b>Invasión perineural</b>	12%
<b>Invasión linfovascular</b>	40-47%
<b>Localización periparotídea o labial</b>	40%
<b>Recurrencia local</b>	10-30%
<b>CEC en cicatriz</b>	25-62%
<b>Inmunosupresión</b>	38%
	13-20%

En nuestro trabajo, en el que el objetivo fue evaluar la utilidad de la VCm en la definición de la agresividad del CEC. Para reducir al máximo posibles factores de confusión, se excluyeron del estudio aquellos CEC con espesor <4mm, cuya capacidad metastásica es anecdótica, y aquellos antecedentes personales reconocidos de forma universal por otorgar capacidad metastática al CEC por sí solos, como son la inmunodepresión o trastornos genéticos. De esta forma planteamos un estudio comparativo entre 2 grupos de pacientes, CEC adenopático (CECa) y CEC no adenopático (CECna) con un espesor de Breslow > 4mm.

El análisis de la VCm en el CEC reveló hallazgos relevantes. Los CECa mostraron una VCm marcadamente superior ( $1.6\pm 0.9$  mm/mes) comparada con lo que ocurre en el CECna ( $0.5\pm 0.3$ ). Este dato real dinámico del crecimiento tumoral, refleja la agresividad tumoral del CEC.

Tras la realización de análisis multivariantes incluyendo los diferentes parámetros analizados anteriormente, las 3 variables que mostraron un valor pronóstico independiente y una potencia estadística superior, que fueron la VC, el número de mitosis/10 campos y la edad del paciente.

Con respecto a la edad, los pacientes con CECa se desarrollaron a edades significativamente superiores que los CECna. Así, hasta un 86.2% de los casos de los pacientes con tendencia al desarrollo de adenopatías se encuentran por encima de los 65 años. Esto se explicaría por la alteración del sistema inmune y la pérdida de la integridad de la función barrera de la piel que se produce de forma innata al envejecimiento humano(190,192).

La tasa mitótica es un parámetro no realizado de forma habitual en la evaluación del CEC. En el presente trabajo el conteo histológico de las figuras mitóticas reveló que los CECa asociaban un número medio de mitosis marcadamente superior (número de mitosis/ 10 campos medio, 25.4) en comparación con los CECna (número de mitosis/ 10 campos medio, 5,7).

Con todos los parámetros previamente comentados, y en la búsqueda de un modelo predictivo de probabilidad que ayude en la práctica clínica a establecer con mayor exactitud el riesgo de progresión tumoral con la finalidad de plantear estudios complementarios(215) se diseñó un nomograma predictivo de diseminación tumoral (**figura 26**).

En el modelo de predicción se incluyeron aquellas variables que mostraron mayor significación estadística tras la realización de análisis multivariantes: la VC, el número de mitosis/10 campos y la edad del paciente..

Si bien es cierto que la adición de más variables puede aumentar la capacidad de predicción del nomograma, el presente modelo alcanza unos valores más que aceptables en su potencia estadística. Las variables continuas no fueron categorizadas, dado que ello reduce la información y por lo tanto reduce la habilidad predictiva des este modelo.

El modelo se desarrolló y se validó sobre la misma población del presente estudio usando las técnicas estadísticas descritas previamente. Así, éste modelo mostró una capacidad de discriminación elevada. Dado que no existen modelos previos de predicción de diseminación del CEC similares en la literatura, no podemos realizar estudios comparativos al respecto.

Uno de los puntos fuertes de este nomograma es su generalización a poblaciones de mayor tamaño. Esta herramienta permite la realización de predicciones individualizadas dado que varias características están siendo consideradas simultáneamente en el paciente problema. El único precedente existente en la literatura que ha intentado definir un modelo predictivo para definir el riesgo de metástasis de un CEC fue realizado por. Sin embargo, este modelo se centró exclusivamente en aquellos CEC que aparecen en el pabellón auricular. Como parámetros predictivos incluyeron el índice de Breslow, la invasión de cartílago, la recurrencia y el grado de diferenciación(216).

En este sentido, la inclusión en nuestro modelo predictivo del concepto de VCm, marcador dinámico de actividad de la enfermedad, puede ser clave en el éxito del nomograma por su carácter integrador de los diferentes factores clínico-patológicos que de forma individual son considerados como datos de mal pronóstico en el CEC.

El principal factor limitante en el desarrollo de nomogramas clínicamente relevantes es la falta de validación externa, o la falta de generalización del modelo en la práctica clínica. El uso de los datos procedentes de una única institución están sujetos a posibles críticas en

términos de diagnóstico y en la aplicación de diferentes tratamientos. Idealmente, los nomogramas son testados usando múltiples cohortes de pacientes antes de la implementación de la herramienta en la práctica clínica. En este caso, el método de validación del nomograma presentado se basó en modelos estadísticos bien definidos .

Dado que la VCm nunca ha sido medida en el CEC hasta la actualidad, la evaluación de la especificidad del presente nomograma no puede ser evaluada.

Por lo tanto, con este trabajo concluimos en la importancia del cálculo de la VCm como factor pronóstico independiente en el CEC. A su vez, a partir de ésta y la tasa de mitosis y la edad del paciente se construye un modelo predictivo. El nomograma resultante aporta información útil para el manejo individualizado del paciente con CEC, en orden de facilitar decisiones, como por ejemplo, la decisión de realización del GC. No obstante, el nomograma es un sistema de probabilidades y no está desarrollado para establecer decisiones terapéuticas. Futuros estudios multicéntricos que recojan las variables de tasa de mitosis, y los parámetros necesarios para calcular la VCm permitirán validar externamente un modelo que a priori, con los datos actuales, puede optimizar el manejo del paciente con CEC.



# CONCLUSIONES

---

## 10. Conclusiones

### *Primera conclusión*

El melanoma de crecimiento rápido (MCR) es un tumor que típicamente se presenta en el tronco y las regiones acrales de pacientes de edades mayores a los 65 años, sin mostrar predilección por sexo y sin relación con la exposición solar intensa intermitente. Histológicamente, son tumores de mayor espesor tumoral, con una mayor frecuencia de ulceración, un mayor índice mitótico y una mayor frecuencia de afectación del ganglio centinela.

### *Segunda conclusión*

La velocidad de crecimiento modificada (VCm) es un factor pronóstico independiente del melanoma maligno (MM) principalmente para la supervivencia global, con un valor incluso superior al del índice mitótico. Esto último sugiere que el crecimiento clínico del tumor refleja una agresividad tumoral que no puede ser exclusivamente medida con los factores pronósticos universalmente aceptados del MM.

### *Tercera conclusión*

Una proporción significativa de casos de MCR(26,5%) portan mutaciones en NRAS.

Los MM con mutaciones en NRAS muestran un comportamiento más agresivo que siguen mecanismos probablemente no relacionados con los factores clínico-patológicos pronósticos actualmente bien establecidos.

### *Cuarta conclusión*

Las mutaciones patogénicas en el promotor de *TERT* podrían explicar, al menos en parte, la agresividad tumoral del MCR. Su relación se ve

modificada por la presencia de un polimorfismo frecuente (rs2853669) en el propio promotor.

### ***Quinta conclusión***

La frecuencia y la severidad de las alteraciones de la respiración durante el sueño en el síndrome de apnea del sueño (SAOS) se asocian de forma independiente con el MCR

A su vez, la gravedad del SAOS se correlaciona con un mayor espesor tumoral, un mayor índice mitótico, y una mayor frecuencia de ulceración,

### ***Sexta conclusión***

La VCm se comporta como un factor pronóstico independiente en el carcinoma epidermoide cutáneo (CEC) que permite su inclusión, junto con la tasa de mitosis y la edad del paciente en un modelo predictivo para definir la probabilidad de adenopatía en el CEC.



# BIBLIOGRAFÍA

---

## 11. Bibliografía

1. Yoong C, De'Ambrosis B. Cutaneous invasive squamous cell carcinoma: 10-year experience and recommendations for follow up. *Australas J Dermatol*. 2009;50(4):261–5.
2. Nagore E, Botella-Estrada R, Requena C, Serra-Guillén C, Martorell A, Hueso L, et al. Clinical and epidemiologic profile of melanoma patients according to sun exposure of the tumor site. *Actas Dermosifiliogr*. 2009;100(3):205–11.
3. Federman DG, Kirsner RS, Viola K V. Skin cancer screening and primary prevention: Facts and controversies. *Clin Dermatol*. 2013;31(6):666–70.
4. Azoury SC, Lange JR. Epidemiology, Risk Factors, Prevention, and Early Detection of Melanoma [Internet]. *Surgical Clinics of North America*. Elsevier Inc; 2014. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039610914001121>
5. Coory M, Baade P, Aitken J, Smithers M, McLeod GRC, Ring I. Trends for in situ and invasive melanoma in Queensland, Australia, 1982-2002. *Cancer Causes Control*. 2006;17(1):21–7.
6. Jones WO, Harman CR, Ng AKT, Shaw JHF. Incidence of malignant melanoma in Auckland, New Zealand: Highest rates in the world. *World J Surg*. 1999;23(7):732–5.
7. Karim-Kos HE, de Vries E, Soerjomataram I, Lemmens V, Siesling S, Coebergh JWW. Recent trends of cancer in Europe: A combined approach of incidence, survival and mortality for 17 cancer sites since the 1990s. *Eur J Cancer*. 2008;44(10):1345–89.
8. Linos E, Swetter SM, Cockburn MG, Colditz GA, Clarke CA. Increasing burden of melanoma in the United States. *J Invest Dermatol*. 2009;129(7):1666–74.

9. Geller AC, Swetter SM, Brooks K, Demierre MF Y AL. No Title. *J Am Acad Dermatol*. 2007;57:555–76.
10. Botella-Estrada, Rafael NE. Melanoma. In: Guillen C, editor. *Dermatología Oncológica*. 1st editio. Madrid-Barcelona: Aula Medica; 2002. p. 37–51.
11. Moreno V, Gonzalez J, Soler M, Bosch F, Kogevinas M, Borrás J. Estimación de la incidencia de cáncer en España: período 1993-1996. *Gac Sanit* [Internet]. 2001;15(5):380–8. Available from: \$  
\$\\nfile://c/Documents and Settings/h501ujep/Mis documentos/PDOC a  
C/Bibliografia/RM/Arxius bibliografia/jaep rm  
v12/MORENO2001/SPCC0052.pdf
12. Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, Thompson JF, Atkins MB, Byrd DR, et al. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J Clin Oncol*. 2009;27(36):6199–206.
13. Rowe CJ, Khosrotehrani K. Clinical and biological determinants of melanoma progression: Should all be considered for clinical management? *Australas J Dermatol* [Internet]. 2015;(April):n/a – n/a. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/ajd.12348>
14. American Joint Committee on Cancer. *AJCC Cancer Staging Handbook* [Internet]. Cancer. 2010. 52 p. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-0-387-88443-1>
15. Thompson JF, Soong SJ, Balch CM, Gershenwald JE, Ding S, Coit DG, et al. Prognostic significance of mitotic rate in localized primary cutaneous melanoma: An analysis of patients in the multi-institutional american joint committee on cancer melanoma staging database. *J Clin Oncol*. 2011;29(16):2199–205.
16. Green AC, Baade P, Coory M, Aitken JF, Smithers M. Population-based 20-year survival among people diagnosed with thin melanomas in Queensland, Australia. *J Clin Oncol*. 2012;30(13):1462–7.

17. Gimotty PA, Guerry D, Ming ME, Elenitsas R, Xu X, Czerniecki B, et al. Thin primary cutaneous malignant melanoma: A prognostic tree for 10-year metastasis is more accurate than American Joint Committee on cancer staging. *J Clin Oncol*. 2004;22(18):3668–76.
18. Gimotty PA, Elder DE, Fraker DL, Botbyl J, Sellers K, Elenitsas R, et al. Identification of high-risk patients among those diagnosed with thin cutaneous melanomas. *J Clin Oncol*. 2007;25(9):1129–34.
19. Gamba CS, Clarke C a, Keegan THM, Tao L, Swetter SM. Melanoma Survival Disadvantage in Young, Non-Hispanic White Males Compared With Females. *JAMA Dermatol* [Internet]. 2013;149(8):1–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23804160>
20. Joosse A, de Vries E, Eckel R, Nijsten T, Eggermont AMM, Hölzel D, et al. Gender differences in melanoma survival: female patients have a decreased risk of metastasis. *J Invest Dermatol*. 2011;131(3):719–26.
21. Kindem S, Garcias-Ladaria J, Requena C, Guillén C, Oliver V NE. Survival advantage of women in localized melanoma mainly relies on clinical-pathological differences by sex. A retrospective study of 1,607 patients in Valencia, Spain. *Eur J Dermatology*. 2015;Epub ahead to print.
22. Ettl T, Irga S, Müller S, Rohrmeier C, Reichert TE, Schreml S, et al. Value of anatomic site, histology and clinicopathological parameters for prediction of lymph node metastasis and overall survival in head and neck melanomas. *J Cranio-Maxillofacial Surg*. 2014;42(5).
23. Fadaki N, Li R, Parrett B, Sanders G, Thummala S, Martineau L, et al. Is head and neck melanoma different from trunk and extremity melanomas with respect to sentinel lymph node status and clinical outcome? *Ann Surg Oncol* [Internet]. 2013;20(9):3089–97. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23649930>



24. Thörn M, Adami HO, Ringborg U, Bergström R, Krusemo U. The association between anatomic site and survival in malignant melanoma. An analysis of 12,353 cases from the Swedish Cancer Registry. *Eur J Cancer Clin Oncol*. 1989;25(3):483–91.
25. Baade PDRPYP. Prognostic survival model for people diagnosed with invasive cutaneous melanoma. *Cancer*. 2015;15:27.
26. Azimi F, Scolyer R a, Rumcheva P, Moncrieff M, Murali R, McCarthy SW, et al. Tumor-infiltrating lymphocyte grade is an independent predictor of sentinel lymph node status and survival in patients with cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* [Internet]. 2012;30(21):2678–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22711850>
27. Martorell-Calatayud A, Requena C, Botella-Estrada R, Sangüeza OP. Novedades en biología molecular y su aplicación en el diagnóstico y el tratamiento del melanoma. *Actas Dermosifiliogr* [Internet]. Elsevier; 2009;100:52–65. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0001-7310\(09\)73168-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0001-7310(09)73168-0)
28. Clark WH, Elder DE, Guerry D, Epstein MN, Greene MH, Van Horn M. A study of tumor progression: The precursor lesions of superficial spreading and nodular melanoma. *Hum Pathol*. 1984;15(12):1147–65.
29. Zhuang L, Lee CS, Scolyer RA, McCarthy SW, Palmer AA, Zhang XD, et al. Activation of the extracellular signal regulated kinase (ERK) pathway in human melanoma. *J Clin Pathol*. 2005;58(11):1163–9.
30. Hoeflich KP, Gray DC, Eby MT, Tien JY, Wong L, Bower J, et al. Oncogenic BRAF is required for tumor growth and maintenance in melanoma models. *Cancer Res*. 2006;66(2):999–1006.
31. Nagore E, Requena C, Traves V, Guillen C, Hayward NK, Whiteman DC, et al. Prognostic value of BRAF mutations in localized cutaneous melanoma. *J Am Acad Dermatol*. 2014;70(5).

32. Chudnovsky Y, Adams AE, Robbins PB, Lin Q, Khavari PA. Use of human tissue to assess the oncogenic activity of melanoma-associated mutations. *Nat Genet.* 2005;37(7):745–9.
33. Smalley KSM, Sondak VK. Inhibition of BRAF and MEK in BRAF-mutant melanoma. *Lancet* [Internet]. Elsevier Ltd; 2015;6736(15):10–1. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60972-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60972-2)
34. Pollock PM, Harper UL, Hansen KS, Yudt LM, Stark M, Robbins CM, et al. High frequency of BRAF mutations in nevi. *Nat Genet.* 2003;33(1):19–20.
35. Mar VJ, Liu W, Devitt B, Wong SQ, Dobrovic a., McArthur G a., et al. The role of *BRAF* mutations in primary melanoma growth rate and survival. *Br J Dermatol* [Internet]. 2015;n/a – n/a. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/bjd.13756>
36. Jafari M, Papp T, Kirchner S, Kiener U, Henschler D, Burg G, et al. Analysis of ras mutations in human melanocytic lesions: activation of the ras gene seems to be associated with the nodular type of human malignant melanoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1995;121(1 Supplement):23–30.
37. Papp T, Schipper H, Kumar K, Schiffmann D, Zimmermann R. Mutational analysis of the BRAF gene in human congenital and dysplastic melanocytic naevi. *Melanoma Res.* 2005;15(5):401–7.
38. Van Elsas A, Zerp SF, van der Flier S, Krüse KM, Aarnoudse C, Hayward NK, et al. Relevance of ultraviolet-induced N-ras oncogene point mutations in development of primary human cutaneous melanoma. *Am J Pathol.* 1996;149(3):883–93.
39. Bastian BC, LeBoit PE, Pinkel D. Mutations and copy number increase of HRAS in Spitz nevi with distinctive histopathological features. *Am J Pathol.* 2000;157(3):967–72.

40. Meckbach D, Bauer J, Pflugfelder A, Meier F, Busch C, Eigentler TK, et al. Survival according to BRAF-V600 tumor mutations - An analysis of 437 patients with primary melanoma. *PLoS One*. 2014;9(1).
41. Bardeesy N, Bastian BC, Hezel A, Pinkel D, DePinho RA, Chin L. Dual inactivation of RB and p53 pathways in RAS-induced melanomas. *Mol Cell Biol*. 2001;21(6):2144–53.
42. Ackermann J, Frutschi M, Kaloulis K, McKee T, Trumpp A, Beermann F. Metastasizing melanoma formation caused by expression of activated N-RasQ61K on an INK4a-deficient background. *Cancer Res*. 2005;65(10):4005–11.
43. Nagore E, Botella-Estrada R, Garcia-Casado Z, Requena C, Serra-Guillen C, Llobart B, et al. Comparison between familial and sporadic cutaneous melanoma in Valencia, Spain. *J Eur Acad Dermatology Venereol*. 2008;22(8):931–6.
44. Nobori T, Miura K, Wu DJ, Lois A, Takabayashi K, Carson DA. Deletions of the cyclin-dependent kinase-4 inhibitor gene in multiple human cancers. *Nature*. 1994;368(6473):753–6.
45. Brandt A, Sundquist J, Hemminki K. Risk of incident and fatal melanoma in individuals with a family history of incident or fatal melanoma or any cancer. *Br J Dermatol*. 2011;165(2):342–8.
46. Yajima I, Kumasaka MY, Thang ND, Goto Y, Takeda K, Yamanoshita O, et al. RAS/RAF/MEK/ERK and PI3K/PTEN/AKT signaling in malignant melanoma progression and therapy. *Dermatology Research and Practice*. 2012.
47. Dai DL, Martinka M, Li G. Prognostic significance of activated Akt expression in melanoma: A clinicopathologic study of 292 cases. *J Clin Oncol*. 2005;23(7):1473–82.

48. Koumakpayi IH, Le Page C, Mes-Masson A-M, Saad F. Hierarchical clustering of immunohistochemical analysis of the activated ErbB/PI3K/Akt/NF-kappaB signalling pathway and prognostic significance in prostate cancer. *Br J Cancer*. 2010;102(7):1163–73.
49. Masutomi K, Yu EY, Khurts S, Ben-Porath I, Currier JL, Metz GB, et al. Telomerase maintains telomere structure in normal human cells. *Cell*. 2003;114(2):241–53.
50. Marión RM, Blasco MA. Telomere rejuvenation during nuclear reprogramming. *Current Opinion in Genetics and Development*. 2010. p. 190–6.
51. Zvereva MI, Shcherbakova DM, Dontsova OA. Telomerase: structure, functions, and activity regulation. *Biochemistry (Mosc)*. 2010;75(13):1563–83.
52. Bodnar AG, Ouellette M, Frolkis M, Holt SE, Chiu CP, Morin GB, et al. Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science*. 1998;279(5349):349–52.
53. Harley CB. Telomerase and cancer therapeutics. *Nat Rev Cancer*. 2008;8(3):167–79.
54. Artandi SE, DePinho RA. Telomeres and telomerase in cancer. *Carcinogenesis*. 2009. p. 9–18.
55. Low KC, Tergaonkar V. Telomerase: Central regulator of all of the hallmarks of cancer. *Trends in Biochemical Sciences*. 2013. p. 426–34.
56. Killela PJ, Reitman ZJ, Jiao Y, Bettgowda C, Agrawal N, Diaz L a, et al. TERT promoter mutations occur frequently in gliomas and a subset of tumors derived from cells with low rates of self-renewal. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2013;110(15):6021–6. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3625331&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

57. Horn S, Figl A, Rachakonda PS, Fischer C, Sucker A, Gast A, et al. TERT promoter mutations in familial and sporadic melanoma. *Science* [Internet]. 2013;339(6122):959–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23348503>
58. Heidenreich B, Rachakonda PS, Hemminki K, Kumar R. TERT promoter mutations in cancer development. *Current Opinion in Genetics and Development*. 2014. p. 30–7.
59. Lister J a, Capper A, Zeng Z, Mathers ME, Richardson J, Paranthaman K, et al. A conditional zebrafish MITF mutation reveals MITF levels are critical for melanoma promotion vs. regression in vivo. *J Invest Dermatol* [Internet]. 2014;134(1):133–40. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3898314&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
60. Puig-Butillé JA, Carrera C, Kumar R, Garcia-Casado Z, Badenas C, Aguilera P, et al. Distribution of MC1R variants among melanoma subtypes: P.R163Q is associated with lentigo maligna melanoma in a Mediterranean population. *Br J Dermatol*. 2013;169(4):804–11.
61. Kuphal S, Bauer R, Bosserhoff A-K. Integrin signaling in malignant melanoma. *Cancer Metastasis Rev*. 2005;24(2):195–222.
62. Kuphal S, Bosserhoff AK. Influence of the cytoplasmic domain of E-cadherin on endogenous N-cadherin expression in malignant melanoma. *Oncogene*. 2006;25(2):248–59.
63. Petitclerc E, Strömblad S, von Schalscha TL, Mitjans F, Piulats J, Montgomery AM, et al. Integrin alpha(v)beta3 promotes M21 melanoma growth in human skin by regulating tumor cell survival. *Cancer Res*. 1999;59(11):2724–30.
64. Müller DW, Bosserhoff A-K. Integrin beta 3 expression is regulated by let-7a miRNA in malignant melanoma. *Oncogene*. 2008;27(52):6698–706.

65. Ackermann A. No more should die of malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol*. 1985;12:115–6.
66. MacKie RM, Hole D. Audit of public education campaign to encourage earlier detection of malignant melanoma. *BMJ*. 1992;304(6833):1012–5.
67. McMullen EA, Kee F, Patterson CC, Gavin AT, Dolan OM. Improved survival for melanoma in Northern Ireland: A comparison of two 5-year periods (1984-88 and 1994-98). *Br J Dermatol*. 2004;151(3):587–93.
68. McCarthy M. US melanoma prevalence has doubled over past 30 years. *Bmj* [Internet]. 2015;350(jun04 10):h3074–h3074. Available from: <http://www.bmj.com/cgi/doi/10.1136/bmj.h3074>
69. Kandolf-Sekulovic L, Babovic N, Balic M, Nikolin B, Nikolic D, Janjic Z, et al. Clinicopathological characteristics, diagnosis and treatment of melanoma in Serbia: The Melanoma Focus Study. *Vojnosanit Pregl* [Internet]. 2015;72(4):312–6. Available from: <http://www.doiserbia.nb.rs/Article.aspx?ID=0042-84501400052K>
70. Gordon D, Gillgren P, Eloranta S, Olsson H, Gordon M, Hansson J, et al. Time trends in incidence of cutaneous melanoma by detailed anatomical location and patterns of ultraviolet radiation exposure. *Melanoma Res* [Internet]. 2015;1. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00008390-900000000-99559>
71. Livingstone E, Krajewski C, Eigentler TK, Windemuth-Kieselbach C, Benson S, Eisenbruch S, et al. Prospective evaluation of follow-up in melanoma patients in Germany – Results of a multicentre and longitudinal study. *Eur J Cancer* [Internet]. 2015;51(5):653–67. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959804915000155>
72. Weatherhead SC, Lawrence CM. Melanoma screening clinics: Are we detecting more melanomas or reassuring the worried well? *Br J Dermatol*. 2006;154(3):539–41.

73. Lipsker DM, Hedelin G, Heid E, Grosshans EM, Cribier BJ. Striking increase of thin melanomas contrasts with stable incidence of thick melanomas. *Arch Dermatol.* 1999;135(12):1451–6.
74. Lipsker D, Engel F, Cribier B, Velten M, Hedelin G. Trends in melanoma epidemiology suggest three different types of melanoma. *Br J Dermatol.* 2007;157(2):338–43.
75. Lipsker D. Growth rate, early detection and prevention of melanoma. The melanoma epidemiology revisited and challenges for the future. *Arch Dermatol.* 2006;142:1638–40.
76. Liu W, Dowling JP, Murray WK, McArthur GA, Thompson JF, Wolfe R, et al. Rate of growth in melanomas: characteristics and associations of rapidly growing melanomas. *Arch Dermatol.* 2006;142(12):1551–8.
77. Maldonado JL, Fridlyand J, Patel H, Jain AN, Busam K, Kageshita T, et al. Determinants of BRAF mutations in primary melanomas. *J Natl Cancer Inst.* 2003;95(24):1878–90.
78. Baade PD, English DR, Youl PH, McPherson M, Elwood JM, Aitken JF. The relationship between melanoma thickness and time to diagnosis in a large population-based study. *Arch Dermatol.* 2006;142(11):1422–7.
79. Garbe C, McLeod GR, Buettner PG. Time trends of cutaneous melanoma in Queensland, Australia and Central Europe. *Cancer.* 2000;89(6):1269–78.
80. Hersey P, Sillar RW, Howe CG, Burton RC, Darbar S V., Foster HM, et al. Factors related to the presentation of patients with thick primary melanomas. *Med J Aust.* 1991;154(9):583–7.
81. MacKie R. Thickness and Delay in diagnosis of melanoma. How far can we go? *Arch Dermatol.* 1999;135:339–40.
82. Grob JJ, Richard MA, Gouvernet J, Avril MF, Delaunay M, Wolkenstein P, et al. The kinetics of the visible growth of a primary melanoma reflects

- the tumor aggressiveness and is an independent prognostic marker: A prospective study. *Int J Cancer*. 2002;102(1):34–8.
83. Abbasi NR, Shaw HM, Rigel DS, Friedman RJ, McCarthy WH, Osman I, et al. Early diagnosis of cutaneous melanoma: revisiting the ABCD criteria. *JAMA*. 2004;292(22):2771–6.
  84. De Vries E, de Poll-Franse LV LW. Predictions of skin cancer incidence in the Netherlands up to 2015. *Br J Dermatol*. 2005;152:481–8.
  85. Moore BA, Weber RS, Prieto V, El-Naggar A, Holsinger FC, Zhou X, et al. Lymph node metastases from cutaneous squamous cell carcinoma of the head and neck. *Laryngoscope*. 2005;115(9):1561–7.
  86. Clayman GL, Lee JJ, Holsinger FC, Zhou X, Duvic M, El-Naggar AK, et al. Mortality risk from squamous cell skin cancer. *J Clin Oncol*. 2005;23(4):759–65.
  87. Veness MJ. Defining patients with high-risk cutaneous squamous cell carcinoma. *Australas J Dermatol*. 2006;47(1):28–33.
  88. Martorell-Calatayud a, Sanmartín Jimenez O, Cruz Mojarrieta J, Guillén Barona C. Cutaneous squamous cell carcinoma: defining the high-risk variant. *Actas Dermosifiliogr [Internet]*. 2013;104(5):367–79. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23683506>
  89. Burnworth B, Popp S SH-J. Gain of 11q/cyclin D1 overexpression is an essential early step in skin cancer development and causes abnormal tissue organization and differentiation. *Oncogene*. 2006;25:4399.
  90. Fine JD, Johnson LB, Weiner M, Li KP, Suchindran C. Epidermolysis bullosa and the risk of life-threatening cancers: The National EB Registry experience, 1986-2006. *J Am Acad Dermatol*. 2009;60(2):203–11.
  91. Lyakhovitsky A, Barzilai A, Fogel M, Trau H, Huszar M. Expression of e-cadherin and beta-catenin in cutaneous squamous cell carcinoma and



- its precursors. *Am J Dermatopathol* [Internet]. 2004;26(5):372–8. Available from: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=15365368](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15365368)
92. Melia J, Cooper EJ, Frost T, Graham-Brown R, Hunter J, Marsden A, et al. Cancer Research Campaign health education programme to promote the early detection of cutaneous malignant melanoma. I. Work-load and referral patterns. *Br J Dermatol*. 1995;132(3):405–13.
  93. Zwald FO, Brown M. Skin cancer in solid organ transplant recipients: advances in therapy and management: part I. Epidemiology of skin cancer in solid organ transplant recipients. *J Am Acad Dermatol*. 2011;65(2):253–61; quiz 262.
  94. Veness MJ, Quinn DI, Ong CS, Keogh AM, Macdonald PS, Cooper SG, et al. Aggressive cutaneous malignancies following cardiothoracic transplantation: The Australian experience. *Cancer*. 1999;85(8):1758–64.
  95. Mehrany K, Weenig RH, Lee KK, Pittelkow MR, Otley CC. Increased metastasis and mortality from cutaneous squamous cell carcinoma in patients with chronic lymphocytic leukemia. *J Am Acad Dermatol*. 2005;53(6):1067–71.
  96. Euvrard S, Kanitakis J, Decullier E, Butnaru AC, Lefrançois N, Boissonnat P, et al. Subsequent skin cancers in kidney and heart transplant recipients after the first squamous cell carcinoma. *Transplantation*. 2006;81(8):1093–100.
  97. Veness MJ. High-risk cutaneous squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Biomed Biotechnol*. 2007;2007(3):80572.
  98. Martinez J-C, Otley CC, Stasko T, Euvrard S, Brown C, Schanbacher CF, et al. Defining the clinical course of metastatic skin cancer in organ

- transplant recipients: a multicenter collaborative study. *Arch Dermatol.* 2003;139(3):301–6.
99. Rowe DE, Carroll RJ, Day CL. Prognostic factors for local recurrence, metastasis, and survival rates in squamous cell carcinoma of the skin, ear, and lip. Implications for treatment modality selection. *J Am Acad Dermatol.* 1992;26(6):976–90.
  100. Rodolico V, Barresi E, Di Lorenzo R, Leonardi V, Napoli P, Rappa F, et al. Lymph node metastasis in lower lip squamous cell carcinoma in relation to tumour size, histologic variables and p27Kip1 protein expression. *Oral Oncol.* 2004;40(1):92–8.
  101. Mullen JT, Feng L, Xing Y, Mansfield PF, Gershenwald JE, Lee JE, et al. Invasive squamous cell carcinoma of the skin: defining a high-risk group. *Ann Surg Oncol.* 2006;13(7):902–9.
  102. Brantsch KD, Meisner C, Schönfisch B, Trilling B, Wehner-Caroli J, Röcken M, et al. Analysis of risk factors determining prognosis of cutaneous squamous-cell carcinoma: a prospective study. *Lancet Oncol.* 2008;9(8):713–20.
  103. Lai SY, Weinstein GS, Chalian AA, Rosenthal DI, Weber RS. Parotidectomy in the treatment of aggressive cutaneous malignancies. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2002;128(5):521–6.
  104. Motley R, Kersey P, Lawrence C. Multiprofessional guidelines for the management of the patient with primary cutaneous squamous cell carcinoma. *Br J Dermatol.* 2002;146(1):18–25.
  105. Huang CC, Boyce SM. Surgical margins of excision for basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery.* 2004. p. 167–73.

106. Huang, C, Boyce S. Surgical margins of excision for basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma. *Semin Cutan Med Surg.* 2004;23(23):167–73.
107. Friedman, Robert J. Rigel, DS. Kopf, AW. Grin, CM. Helman, E. Bart R. Volume of malignant melanoma is superior to thickness as a prognostic indicator:preliminary observation. *Dermatol Clin.* 1991;9:643–8.
108. Brougham NDL, Tan ST. The incidence and risk factors of metastasis for cutaneous squamous cell carcinoma-implications on the T-classification system. *J Surg Oncol.* 2014;(October 2014):485–6.
109. Karia PS, Jambusaria-Pahlajani A, Harrington DP, Murphy GF, Qureshi A a., Schmults CD. Evaluation of American Joint Committee on Cancer, International Union Against Cancer, and Brigham and Women’s Hospital tumor staging for cutaneous squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 2014;32(4):327–34.
110. Cherpelis BS, Marcusen C, Lang PG. Prognostic factors for metastasis in squamous cell carcinoma of the skin. *Dermatol Surg [Internet].* 2002;28(3):268–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/Entrez/query?db=m&form=6&dopt=r&uid=11896781>
111. Jensen P, Hansen S, Moller B, Leivestad T, Pfeifer P, Geiran O, et al. Skin cancer in kidney and heart transplant recipients and different long-term immunosuppressive therapy regimens. *J Am Acad Dermatol.* 1999;40(2 I):177–86.
112. Nijsten TEC, Stern RS. Oral retinoid use reduces cutaneous squamous cell carcinoma risk in patients with psoriasis treated with psoralen-UVA: A nested cohort study. *J Am Acad Dermatol.* 2003;49(4):644–50.
113. Goepfert H, Dichtel WJ, Medina JE, Lindberg RD, Luna MD. Perineural invasion in squamous cell skin carcinoma of the head and neck. *American journal of surgery.* 1984. p. 542–7.

114. Garcia-Serra A, Hinerman RW, Mendenhall WM, Amdur RJ, Morris CG, Williams LS, et al. Carcinoma of the skin with perineural invasion. *Head Neck*. 2003;25(12):1027–33.
115. Ross AS, Miller Whalen F, Elenitsas R, Xu X, Troxel AB, Schmults CD. Diameter of involved nerves predicts outcomes in cutaneous squamous cell carcinoma with perineural invasion: An investigator-blinded retrospective cohort study. *Dermatologic Surg*. 2009;35(12):1859–66.
116. Carter JB, Johnson MM, Chua TL, Karia PS, Schmults CD. Outcomes of primary cutaneous squamous cell carcinoma with perineural invasion: an 11-year cohort study. *JAMA dermatology [Internet]*. 2013;149(1):35–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23324754>
117. Forslund O, Lindelöf B, Hradil E, Nordin P, Stenquist B, Kirnbauer R, et al. High prevalence of cutaneous human papillomavirus DNA on the top of skin tumors but not in “stripped” biopsies from the same tumors. *J Invest Dermatol*. 2004;123(2):388–94.
118. Turner SJ, Morgan GJ, Palme CE, Veness MJ. Metastatic cutaneous squamous cell carcinoma of the external ear: a high-risk cutaneous subsite. *J Laryngol Otol*. 2010;124(1):26–31.
119. Breuninger H, Schaumburg-Lever G, Holzschuh J, Horny HP. Desmoplastic squamous cell carcinoma of skin and vermilion surface. A highly malignant subtype of skin cancer. *Cancer*. 1997;79(5):915–9.
120. Veness MJ. Treatment recommendations in patients diagnosed with high-risk cutaneous squamous cell carcinoma. *Australas Radiol [Internet]*. 2005;49(5):365–76. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1440-1673.2005.01496.x/abstract?systemMessage=Wiley+Online+Library+wil+l+be+disrupted+Saturday%2C+7+June+from+10%3A00-15%3A00+BST+%2805%3A00-10%3A00+EDT%29+for+essential+maintenance>

121. Maubec E, Duvillard P, Velasco V, Crickx B AM. Immunohistochemical analysis of EGFR and HER-2 patients with metastatic squamous cell carcinoma of the skin. *Anticancer res.* 2005;25:1205–10.
122. Orth G. Human Papillomavirus associated with Epidermodysplasia Verruciformis in nonmelanoma skin cancers: guilty or innocent? *invest dermatol.* 2005;125:12–3.
123. Cooper JZ, Brown MD. Special concern about squamous cell carcinoma of the scalp in organ transplant recipients. *Archives of dermatology.* 2006. p. 755–8.
124. Bauman JE, Eaton KD, Martins RG. Treatment of recurrent squamous cell carcinoma of the skin with cetuximab. *Arch Dermatol* [Internet]. 2007;143(7):889–92. Available from: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=17638733](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17638733)
125. Toll A, Salgado R, Yébenes M, Martín-Ezquerria G, Gilaberte M, Baró T, et al. Epidermal growth factor receptor gene numerical aberrations are frequent events in actinic keratoses and invasive cutaneous squamous cell carcinomas. *Experimental Dermatology.* 2010. p. 151–3.
126. Bogoyevitch MA, Ngoei KRW, Zhao TT, Yeap YYC, Ng DCH. c-Jun N-terminal kinase (JNK) signaling: recent advances and challenges. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1804(3):463–75.
127. Uribe P, Gonzalez S. Epidermal growth factor receptor (EGFR) and squamous cell carcinoma of the skin: Molecular bases for EGFR-targeted therapy. *Pathology Research and Practice.* 2011. p. 337–42.
128. Serewko MM, Popa C, Dahler AL, Smith L, Strutton GM, Coman W, et al. Alterations in Gene Expression and Activity during Squamous Cell Carcinoma Development. *Cancer Res* [Internet]. 2002;62(13):3759–65. Available from: <http://cancerres.aacrjournals.org/content/62/13/3759.long>

129. Hama T, Yuza Y, Saito Y, O-uchi J, Kondo S, Okabe M, et al. Prognostic significance of epidermal growth factor receptor phosphorylation and mutation in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncologist*. 2009;14(9):900–8.
130. Maurizi M, Almadori G, Ferrandina G, Distefano M, Romanini ME, Cadoni G, et al. Prognostic significance of epidermal growth factor receptor in laryngeal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* [Internet]. 1996;74(8):1253–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8883413>
131. Shimizu T, Izumi H, Oga A, Furumoto H, Murakami T, Ofuji R, et al. Epidermal growth factor receptor overexpression and genetic aberrations in metastatic squamous-cell carcinoma of the skin. *Dermatology*. 2001;202(3):203–6.
132. Fogarty GB, Conus NM, Chu J, McArthur G. Characterization of the expression and activation of the epidermal growth factor receptor in squamous cell carcinoma of the skin. *Br J Dermatol*. 2007;156(1):92–8.
133. El-Abaseri TB, Putta S, Hansen LA. Ultraviolet irradiation induces keratinocyte proliferation and epidermal hyperplasia through the activation of the epidermal growth factor receptor. *Carcinogenesis*. 2006;27(2):225–31.
134. Gold KA, Lee H-Y, Kim ES. Targeted therapies in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer*. 2009;115(5):922–35.
135. Romagosa C, Simonetti S, López-Vicente L, Mazo A, Lleonart ME, Castellvi J, et al. p16(Ink4a) overexpression in cancer: a tumor suppressor gene associated with senescence and high-grade tumors. *Oncogene*. 2011;30(18):2087–97.
136. Mortier L. Progression of actinic keratosis to squamous cell carcinoma of the skin correlates with deletion of the 9p21 region encoding the p16(INK4a) tumor suppressor. *Cancer Lett*. 2002;176(2):205–14.

137. Hodges A, Smoller BR. Immunohistochemical comparison of p16 expression in actinic keratoses and squamous cell carcinomas of the skin. *Mod Pathol*. 2002;15(11):1121–5.
138. Serrano M. The tumor suppressor protein p16INK4a. *Exp Cell Res*. 1997;237(1):7–13.
139. Soufir N, Molès JP, Vilmer C, Moch C, Verola O, Rivet J, et al. P16 UV mutations in human skin epithelial tumors. *Oncogene*. 1999;18(39):5477–81.
140. Soufir N, Queille S, Mollier K, Roux E, Sarasin A, De Gruijl FR, et al. INK4a-ARF Mutations in Skin Carcinomas from UV Irradiated Hairless Mice. *Mol Carcinog*. 2004;39(4):195–8.
141. Parkinson EK. Senescence as a modulator of oral squamous cell carcinoma development. *Oral Oncology*. 2010. p. 840–53.
142. Richardson HE, Stueland CS, Thomas J, Russell P RS. Human cDNAs encoding homologs of the small p34Cdc28/Cdc2-associated protein of *Saccharomyces cerevisiae* and *Schizosaccharomyces pombe*. *Genes Dev*. 1990;1332–44.
143. Pines J. Cell cycle:reaching for a role for the Cks proteins. *Curr Biol* [Internet]. 1996;6(11):1399–402. Available from: <Go to ISI>://A1996VT11900018
144. Salgado R, Toll A, Alameda F, Baró T, Martín-Ezquerria G, Sanmartín O, et al. CKS1B amplification is a frequent event in cutaneous squamous cell carcinoma with aggressive clinical behaviour. *Genes Chromosom Cancer*. 2010;49(11):1054–61.
145. Kricker A, Armstrong B, Hansen V, Watson A, Singh-Khaira G, Lecathelinais C, et al. Basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma growth rates and determinants of size in community patients. *J Am Acad Dermatol*. 2014;70(3):456–64.

146. AASM. Sleep-related breathing disorders in adults: recommendations for syndrome definition and measurement techniques in clinical research. The Report of an American Academy of Sleep Medicine Task Force. *Sleep* [Internet]. 1999;22:667–89. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10450601>
147. Aasm. International Classification of Sleep Disorders: Diagnostic and Coding Manual. (ICSD-2) [Internet]. Diagnostic Coding Manual. 2005. xviii, 297 p. p. Available from: <http://www.esst.org/adds/ICSD.pdf>
148. MA LPD-CJM-G. Diagnosis and treatment of sleep apnea-hypopnea syndrome. *Arch Bronconeumol*. 2011;47:143–56.
149. Young T, Peppard PE, Gottlieb DJ. Epidemiology of obstructive sleep apnea: A population health perspective. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2002. p. 1217–39.
150. Terán-Santos J, Jiménez-Gómez A, Cordero-Guevara J. The association between sleep apnea and the risk of traffic accidents. Cooperative Group Burgos-Santander. *N Engl J Med*. 1999;340(11):847–51.
151. Lévy P, Pépin JL, Arnaud C, Tamisier R, Borel JC, Dematteis M, et al. Intermittent hypoxia and sleep-disordered breathing: Current concepts and perspectives. *European Respiratory Journal*. 2008. p. 1082–95.
152. Marin JM, Carrizo SJ, Vicente E, Agusti AGN. Long-term cardiovascular outcomes in men with obstructive sleep apnoea-hypopnoea with or without treatment with continuous positive airway pressure: An observational study. *Lancet*. 2005;365(9464):1046–53.
153. Pepperell JCT, Ramdassingh-Dow S, Crosthwaite N, Mullins R, Jenkinson C, Stradling JR, et al. Ambulatory blood pressure after therapeutic and subtherapeutic nasal continuous positive airway pressure for obstructive sleep apnoea: A randomised parallel trial. *Lancet*. 2002;359(9302):204–10.



154. Drager LF, Bortolotto LA, Lorenzi MC, Figueiredo AC, Krieger EM, Lorenzi-Filho G. Early signs of atherosclerosis in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;172(5):613–8.
155. Baguet JP, Hammer L, Lévy P, Pierre H, Launois S, Mallion JM, et al. The severity of oxygen desaturation is predictive of carotid wall thickening and plaque occurrence. *Chest.* 2005;128(5):3407–12.
156. Lavie P, Herer P, Peled R, Berger I, Yoffe N, Zomer J, et al. Mortality in sleep apnea patients: a multivariate analysis of risk factors. *Sleep.* 1995;18(3):149–57.
157. Lavie L. Obstructive sleep apnoea syndrome - An oxidative stress disorder. *Sleep Medicine Reviews.* 2003. p. 35–51.
158. Barcelo A, Miralles C, Barbe F, Vila M, Pons S, Agusti AG. Abnormal lipid peroxidation in patients with sleep apnoea. *Eur Respir J [Internet].* 2000;16(4):644–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11106206>
159. Svatikova A, Wolk R, Lerman LO, Juncos LA, Greene EL, McConnell JP, et al. Oxidative stress in obstructive sleep apnoea. *Eur Heart J.* 2005;26(22):2435–9.
160. Ohga E, Tomita T, Wada H, Yamamoto H, Nagase T, Ouchi Y. Effects of obstructive sleep apnea on circulating ICAM-1, IL-8, and MCP-1. *J Appl Physiol.* 2003;94(1):179–84.
161. Schulz R, Mahmoudi S, Hattar K, Sibelius ULF, Olschewski H, Mayer K, et al. Enhanced release of superoxide from polymorphonuclear neutrophils in obstructive sleep apnea: Impact of continuous positive airway pressure therapy. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162(2 I):566–70.
162. Ciftci TU, Kokturk O, Bukan N, Bilgihan A. The relationship between serum cytokine levels with obesity and obstructive sleep apnea

- syndrome. *Cytokine* [Internet]. 2004;28(2):87–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15381186>
163. Nieto FJ, Herrington DM, Redline S, Benjamin EJ, Robbins JA. Sleep apnea and markers of vascular endothelial function in a large community sample of older adults. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2004;169(3):354–60. Available from: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=14551166](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=14551166)
164. Itzhaki S, Lavie L, Pillar G, Tal G, Lavie P. Endothelial dysfunction in obstructive sleep apnea measured by peripheral arterial tone response in the finger to reactive hyperemia. *Sleep*. 2005;28(5):594–600.
165. Punjabi NM, Shahar E, Redline S, Gottlieb DJ, Givelber R, Resnick HE. Sleep-disordered breathing, glucose intolerance, and insulin resistance: The sleep heart health study. *Am J Epidemiol*. 2004;160(6):521–30.
166. Barcelo A, Barbe F, de la Pena M, Vila M, Perez G, Pierola J, et al. Antioxidant status in patients with sleep apnoea and impact of continuous positive airway pressure treatment. *Eur Respir J* [Internet]. 2006;27(4):756–60. Available from: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=16585082](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16585082)
167. Faure P, Tamsier R, Baguet J-P, Favier A, Halimi S, Lévy P, et al. Impairment of serum albumin antioxidant properties in obstructive sleep apnoea syndrome. *Eur Respir J* [Internet]. 2008;31(5):1046–53. Available from: <http://erj.ersjournals.com/content/31/5/1046.full.pdf>
168. Zou MH, Hou XY, Shi CM, Nagata D, Walsh K, Cohen RA. Modulation by peroxynitrite of Akt- and AMP-activated kinase-dependent Ser1179 phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase. *J Biol Chem*. 2002;277(36):32552–7.

169. Kocis JM, Kuo W-N, Liu Y, Guruvadoo LK, Langat JL. Regulation of catalase: inhibition by peroxynitrite and reactivation by reduced glutathione and glutathione S-transferase. *Front Biosci.* 2002;7:a175–80.
170. Lavie L, Hefetz A, Luboshitzky R, Lavie P. Plasma levels of nitric oxide and L-arginine in sleep apnea patients: effects of nCPAP treatment. *J Mol Neurosci.* 2003;21(1):57–63.
171. Ryan S, Taylor CT, McNicholas WT. Selective activation of inflammatory pathways by intermittent hypoxia in obstructive sleep apnea syndrome. *Circulation.* 2005;112(17):2660–7.
172. Shamsuzzaman ASM, Gersh BJ, Somers VK. Obstructive sleep apnea: implications for cardiac and vascular disease. *JAMA.* 2003;290(14):1906–14.
173. Semenza GL. Oxygen homeostasis. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine.* 2010. p. 336–61.
174. Toffoli S, Roegiers A, Feron O, Van Steenbrugge M, Ninane N, Raes M, et al. Intermittent hypoxia is an angiogenic inducer for endothelial cells: Role of HIF-1. *Angiogenesis.* 2009;12(1):47–67.
175. Nieto FJ, Peppard PE, Young T, Finn L, Hla KM, Farré R. Sleep-disordered breathing and cancer mortality: Results from the Wisconsin Sleep Cohort Study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012;186(2):190–4.
176. Campos-Rodríguez F, Martínez-García MA, Martínez M, Duran-Cantolla J, De La Peña M, Masdeu MJ, et al. Association between obstructive sleep apnea and cancer incidence in a large multicenter spanish cohort. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;187(1):99–105.
177. Almendros I, Montserrat JM, Torres M, Dalmasas M, Cabañas ML, Campos-Rodríguez F, et al. Intermittent hypoxia increases melanoma metastasis to the lung in a mouse model of sleep apnea. *Respir Physiol*

- Neurobiol [Internet]. 2013;186(3):303–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23499797>
178. Nagore E, Pereda C, Botella-Estrada R, Requena C, Guillén C. Acral lentiginous melanoma presents distinct clinical profile with high cancer susceptibility. *Cancer Causes Control*. 2009;20(1):115–9.
  179. Gomez Bastar S. Metodología de la investigación. Red Tercer Milenio S.C. 2012. p. 92.
  180. Tejera-Vaquerizo A, Nagore E, Meléndez JJ, López-Navarro N, Martorell-Calatayud A, Herrera-Acosta E, et al. Chronology of Metastasis in Cutaneous Melanoma: Growth Rate Model. *J Invest Dermatol*. 2012;132(4):1215–21.
  181. Hacker E, Nagore E, Cerroni L, Woods SL, Hayward NK, Chapman B, et al. NRAS and BRAF Mutations in Cutaneous Melanoma and the Association with MC1R Genotype: Findings from Spanish and Austrian Populations. *Journal of Investigative Dermatology*. 2012.
  182. Fullen DR, Poynter JN, Lowe L, Su LD, Elder JT, Nair RP, et al. BRAF and NRAS mutations in spitzoid melanocytic lesions. *Mod Pathol*. 2006;19(10):1324–32.
  183. Heidenreich B, Nagore E, Rachakonda PS, Garcia-Casado Z, Requena C, Traves V, et al. Telomerase reverse transcriptase promoter mutations in primary cutaneous melanoma. *Nat Commun* [Internet]. 2014;5:3401. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24569790>
  184. Geller AC, Swetter SM, Brooks K, Demierre MF, Yaroch AL. Screening, early detection, and trends for melanoma: Current status (2000-2006) and future directions. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2007. p. 555–72.
  185. Tejera-Vaquerizo A, Barrera-Vigo M V., López-Navarro N, Herrera-Ceballos E. Growth rate as a prognostic factor in localized invasive

- cutaneous melanoma. *J Eur Acad Dermatology Venereol.* 2010;24(2):147–54.
186. Brunner M, Ng BC, Veness MJ, Clark JR. Comparison of the AJCC N staging system in mucosal and cutaneous squamous head and neck cancer. *Laryngoscope.* 2014;124(7):1598–602.
187. NCCN. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®) Breast Cancer [Internet]. Version 2.2013. 2013. p. 1–174. Available from: [www.NCCN.com](http://www.NCCN.com)
188. Nagore E, Monteagudo C, Pinazo MI, Botella-Estrada R, Oliver V, Bañuls J, et al. Propuesta de protocolo para el informe histológico del tumor primario de los pacientes con un melano. *Protoc Propos Histol Rep Prim tumor patients with Cutan melano* [Internet]. 2007;98 (7):459–65. Available from: <http://db.doyma.es/cgi-bin/wdbcgi.exe/doyma/mrevista.fulltext?pident=>
189. Van Der Rhee HJ, Van Der Spek-Keijser LMT, Van Westering R, Coebergh JWW. Increase in and stabilization of incidence and mortality of primary cutaneous malignant melanoma in western Netherlands, 1980-95. *Br J Dermatol.* 1999;140(3):463–7.
190. Frank SA. Age-Specific Acceleration of Cancer. *Curr Biol.* 2004;14(3):242–6.
191. Mellman I, Coukos G, Dranoff G. Cancer immunotherapy comes of age. *Nature.* 2011. p. 480–9.
192. DePinho RA. The age of cancer. *Nature.* 2000;408(6809):248–54.
193. Tejera-Vaquero A, Nagore E, Herrera-Acosta E, Martorell-Calatayud A, Martín-Cuevas P, Traves V, et al. Prediction of sentinel lymph node positivity by growth rate of cutaneous melanoma. *Arch Dermatol* [Internet]. 2012;148(5):577–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22250187>

194. Edlundh-Rose E, Egyházi S, Omholt K, Månsson-Brahme E, Platz A, Hansson J, et al. NRAS and BRAF mutations in melanoma tumours in relation to clinical characteristics: a study based on mutation screening by pyrosequencing. *Melanoma Res.* 2006;16(6):471–8.
195. Ellerhorst JA, Greene VR, Ekmekcioglu S, Warneke CL, Johnson MM, Cooke CP, et al. Clinical correlates of NRAS and BRAF mutations in primary human melanoma. *Clin Cancer Res.* 2011;17(2):229–35.
196. J.A. J, R.L. BJ, C.S. N, J.L. C, R.W. J, G.C. A, et al. NRAS mutation status is an independent prognostic factor in metastatic melanoma [Internet]. *Cancer.* 2012. p. 4014–23. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed10&NEWS=N&AN=2012466658>
197. Rafnar T, Sulem P, Stacey SN, Geller F, Gudmundsson J, Sigurdsson A, et al. Sequence variants at the TERT-CLPTM1L locus associate with many cancer types. *Nat Genet.* 2009;41(2):221–7.
198. Chiba K, Johnson JZ, Vogan JM, Wagner T, Boyle JM HD. Cancer-associated TERT promoter mutations abrogate telomerase silencing. *Elife.* 2015;Pubmed ahead to print.
199. Rachakonda PS, Hosen I, de Verdier PJ, Fallah M, Heidenreich B, Ryk C, et al. TERT promoter mutations in bladder cancer affect patient survival and disease recurrence through modification by a common polymorphism. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2013;110(43):17426–31. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3808633&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
200. Macerola E, Loggini B, Giannini R, Garavello G, Giordano M, Proietti A, Niccoli C, Bassolo F FG. Coexistence of TERT promoter and BRAF mutations in cutaneous melanoma is associated with more clinicopathological features of aggressiveness. *Virchows Arch.* 2015;467(2):177–84.

201. Martínez-García, MA. Campos-Rodríguez, F. Durán-Cantolla J. Association between nocturnal hypoxemia and cancer mortality. Longitudinal multicenter study in 5,467 patients from the Spanish cohort. *Eur Respir J.* 2012;40:709.
202. Martínez-García, MA. Campos-Rodríguez FFF. sleep apnea and cancer: current insights and future perspectives. *Eur Respir J.* 2012;40:1315–7.
203. Sivam S, Phillips CL, Trenell MI, Yee BJ, Liu PY, Wong KK, et al. Effects of 8 weeks of continuous positive airway pressure on abdominal adiposity in obstructive sleep apnoea. *Eur Respir J [Internet].* 2012;40(4):913–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22267762>
204. Nanduri J, Yuan G, Kumar GK, Semenza GL, Prabhakar NR. Transcriptional responses to intermittent hypoxia. *Respir Physiol Neurobiol.* 2008;164(1-2):277–81.
205. Evans SM, Koch CJ. Prognostic significance of tumor oxygenation in humans. *Cancer Letters.* 2003. p. 1–16.
206. Dewhirst MW, Cao Y, Moeller B. Cycling hypoxia and free radicals regulate angiogenesis and radiotherapy response. *Nat Rev Cancer.* 2008;8(6):425–37.
207. Wilson WR, Hay MP. Targeting hypoxia in cancer therapy. *Nat Rev Cancer.* 2011;11(6):393–410.
208. Brown JM, Wilson WR. Exploiting tumour hypoxia in cancer treatment. *Nat Rev Cancer.* 2004;4(6):437–47.
209. Wouters BG, Koritzinsky M. Hypoxia signalling through mTOR and the unfolded protein response in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2008;8(11):851–64.
210. Nuño-González a, Vicente-Martín FJ, Pinedo-Moraleda F, López-Estebanz JL. High-Risk Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. *Actas*

- Dermosifiliogr [Internet]. 2012;(xx):567–78. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22944104>
211. Agar, NJM, Kirton, C, Patel, RS, Martin, RCW, Angelo, N, Emanuel P. Predicting lymph node metastases in cutaneous squamous cell carcinoma: use of a morphological scoring system. *N Z Med J*. 2015;28:59–68.
212. Krediet JT, Beyer M, Lenz K, Ulrich C, Lange-Asschenfeldt B, Stockfleth E, et al. Sentinel lymph node biopsy and risk factors for predicting metastasis in cutaneous squamous cell carcinoma. *Br J Dermatol* [Internet]. 2015;n/a – n/a. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/bjd.13508>
213. Deady S, Sharp L, Comber H. Increasing skin cancer incidence in young, affluent, urban populations: A challenge for prevention. *Br J Dermatol*. 2014;1–8.
214. Takahashi a., Imafuku S, Nakayama J, Nakaura J, Ito K, Shibayama Y. Sentinel node biopsy for high-risk cutaneous squamous cell carcinoma. *Eur J Surg Oncol* [Internet]. Elsevier Ltd; 2014;40(10):1256–62. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0748798314004661>
215. Martorell-Calatayud A, Nagore E, Botella-Estrada R, Scherer D, Requena C, Serra-Guillén C, et al. Defining fast-growing melanomas: reappraisal of epidemiological, clinical, and histological features. *Melanoma Res*. 2011;21(2):131–8.
216. Wermker K, Belok F, Schipmann S, Klein M, Schulze H-J, Hallermann C. Prediction model for lymph node metastasis and recommendations for elective neck dissection in lip cancer. *J Cranio-Maxillofacial Surg* [Internet]. Elsevier Ltd; 2015;1–8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1010518215000244>





# ANEXOS

---

## 12. Anexos

### 12.1. Anexo 1. documento de consentimiento informado para la donación voluntaria de muestras biológicas para investigación.



RED VALENCIANA DE BIOBANCOS  
BIOBANCO DE LA FUNDACIÓN INSTITUTO VALENCIANO DE  
ONCOLOGÍA (V.1)

La información que se obtenga puede ser relevante también para sus familiares biológicos. Es decisión suya informarles – algo que nosotros le aconsejamos – con el fin de que, si ellos lo desean, puedan ser estudiados y valorar así cual es el riesgo personal y sus opciones de salud en un futuro.

Cuando esta información, según criterio médico, sea necesaria para evitar un grave perjuicio a la salud de sus familiares biológicos, previa consulta del comité asistencial, se les informará de ello.

#### 5.- Derecho de revocación del consentimiento.

La decisión de donar sus muestras es totalmente voluntaria. Usted puede negarse a donarlas e incluso puede revocar su consentimiento en cualquier momento, sin tener que dar ninguna explicación y sin que ello tenga ninguna repercusión en la atención médica que recibe en el Centro.

Si revoca el consentimiento que ahora presta, la parte de las muestras que no se hayan utilizado en la investigación, podrá decidir que sean destruidas o anonimizadas. Tales efectos no se extenderán a los datos resultantes de las investigaciones que ya se hayan llevado a cabo antes de la revocación de su consentimiento.

#### 6.- Riesgos.

El procedimiento que se le propone no supone ningún riesgo añadido para su salud ni compromete el correcto diagnóstico y tratamiento de su enfermedad, puesto que se trata de muestra sobrante de la intervención.

La donación de sangre apenas tiene efectos secundarios; lo más frecuente es la aparición de pequeños hematomas en las zonas de punción que desaparecen transcurridos 1 ó 2 días.

#### 7.- Protección de datos personales y confidencialidad.

Los datos personales y de salud obtenidos de su historia clínica o equivalente serán incorporados y tratados en una base de datos que cumple con las garantías que establece la legislación sanitaria y sobre protección de datos de carácter personal.

La cesión a otros centros de investigación, públicos o privados, de sus muestras o de sus derivados, así como de la información contenida en las bases de datos vinculada a las mismas y a su estado de salud, se realizará mediante un procedimiento de disociación, esto es, suprimiendo la información personal que la identifica y sustituyéndola por un código.

Es posible que en el desarrollo de un proyecto de investigación se genere mucha información genética de sus muestras. Si los resultados fueran relevantes desde el punto de vista científico, la información obtenida, desligada de cualquier dato que pueda permitir su identificación por medios razonables, podría ser remitida para su inclusión en bases científicas y demás medios de difusión de contenido científico a los que tendrán acceso, con carácter restringido, investigadores científicos.

El biobanco en el que se custodiarán sus muestras forma parte de la Red Valenciana de Biobancos cuya coordinación es llevada a cabo por el Centro Superior de Investigación de Salud Pública de la Comunitat Valenciana.

Como consecuencia de lo anterior, el ente coordinador de la Red Valenciana de Biobancos, esto es, el Centro Superior de Investigación en Salud Pública de la Comunitat Valenciana, tendrá acceso a sus datos personales y a la información clínica asociada a la muestra donada voluntariamente, con el único fin de cumplir con las labores atribuidas a la Red Valenciana de Biobancos en virtud de la legislación vigente. En particular, el eventual acceso a sus datos personales por parte de la Red Valenciana de Biobancos tendrá como finalidad poder coordinar de la manera más eficiente posible desde el punto de vista científico la información obtenida por los biobancos adscritos a la Red Valenciana de Biobancos, mediante la gestión y coordinación del Sistema de Gestión de la Información de la Red Valenciana de Biobancos, así como la coordinación de las actividades desarrolladas por los biobancos, todo ello de acuerdo con la normativa aplicable.

Podrá ejercitar sus derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición, para lo cual tiene en el biobanco el correspondiente formulario de solicitud. En dicho escrito, deberá adjuntar copia de su DNI para que el Centro responsable de sus datos pueda comprobar su identidad.



RED VALENCIANA DE BIOBANCOS  
BIOBANCO DE LA FUNDACIÓN INSTITUTO VALENCIANO DE  
ONCOLOGÍA (V.1)

**8. Declaración de Consentimiento**

**Declaración del donante:**

Historia Clínica: \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ años de edad,  
con domicilio en \_\_\_\_\_  
DNI \_\_\_\_\_ y n.º de SIP \_\_\_\_\_

D./Dña \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ años de edad,  
con domicilio en \_\_\_\_\_  
DNI \_\_\_\_\_ en calidad de representante

(en caso de minoría legal o incapacidad) del paciente ,  
con DNI \_\_\_\_\_ y n.º de SIP \_\_\_\_\_

**DECLARO**

He leído la hoja de información que se me ha entregado.  
He sido informado por el profesional de salud abajo mencionado sobre la donación de muestras a un biobanco.  
He comprendido las explicaciones que se me han facilitado en un lenguaje claro y sencillo.  
He podido realizar observaciones y me han sido aclaradas todas las dudas que he planteado.  
He comprendido que la donación de muestras a un biobanco es voluntaria y puedo revocar mi consentimiento en cualquier momento, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.  
Que libre y voluntariamente acepto la realización de la donación voluntaria de:

Una/s muestra/s de Sangre / Tejidos /

**CONSIENTO**

- Que el Hospital u otros centros de investigación, públicos o privados, utilicen mis datos y las muestras donadas en las condiciones establecidas en la hoja de información.
- Que el ente coordinador de la Red Valenciana de Biobancos pueda acceder a mis datos, en la medida en que sea necesario y manteniendo siempre su confidencialidad.

Fdo.: D./Dña

En \_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_

**Declaración del profesional de salud:**

He informado debidamente al donante

Fdo.: Dr/a.

En \_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_

**9. Revocación de Consentimiento**

Revoco el consentimiento prestado en fecha ..... y no deseo proseguir la donación voluntaria, que doy con esta fecha por finalizada.

Fdo.: Dr/a.

Fdo.: D./Dña

En \_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_



RED VALENCIANA DE BIOBANCOS  
BIOBANCO DE LA FUNDACIÓN INSTITUTO VALENCIANO DE  
ONCOLOGÍA (V.1)

**8. Declaración de Consentimiento**

**Declaración del donante:**

Historia Clínica:  
D./Dña BELDA MARTINEZ ADELA de años de edad,  
con domicilio en  
DNI y n.º de SIP

D./Dña de años de edad,  
con domicilio en  
DNI en calidad de representante

(en caso de minoría legal o incapacidad) del paciente ,  
con DNI y nº de SIP

**DECLARO**

He leído la hoja de información que se me ha entregado.  
He sido informado por el profesional de salud abajo mencionado sobre la donación de muestras a un biobanco.  
He comprendido las explicaciones que se me han facilitado en un lenguaje claro y sencillo.  
He podido realizar observaciones y me han sido aclaradas todas las dudas que he planteado.  
He comprendido que la donación de muestras a un biobanco es voluntaria y puedo revocar mi consentimiento en cualquier momento, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.  
Que libre y voluntariamente acepto la realización de la donación voluntaria de:

Una/s muestra/s de Sangre / Tejidos /

**CONSIENTO**

- Que el Hospital u otros centros de investigación, públicos o privados, utilicen mis datos y las muestras donadas en las condiciones establecidas en la hoja de información.
- Que el ente coordinador de la Red Valenciana de Biobancos pueda acceder a mis datos, en la medida en que sea necesario y manteniendo siempre su confidencialidad.

Fdo.:

En a

**Declaración del profesional de salud:**

He informado debidamente al donante

Fdo.: Dr/a.

En a .

**9. Revocación de Consentimiento**

Revoco el consentimiento prestado en fecha ..... y no deseo proseguir la donación voluntaria, que doy con esta fecha por finalizada.

Fdo.: Dr/a.

Fdo.: D./Dña

En a



Biobanco de la Fundación Instituto Valenciano de Oncología  
C/Profesor Beltrán Bágüena,8  
46009-VALENCIA  
Tfno: 96 111 46 41 Fax: 96 111 43 41

RED VALENCIANA DE BIOBANCOS  
BIOBANCO DE LA FUNDACIÓN INSTITUTO VALENCIANO DE  
ONCOLOGÍA (V.1)

## **Consentimiento Informado para la donación voluntaria de muestras biológicas para investigación obtenidas en el curso de procedimientos quirúrgicos, terapéuticos o diagnósticos.**

### 1.- Identificación y descripción del procedimiento

Durante la intervención quirúrgica o la prueba diagnóstica a la que va a ser sometido se podrán tomar muestras de sus tejidos, sangre, así como fluidos (orina, esputo, saliva, etc) o microorganismos. El procedimiento que se le propone consiste en donar voluntariamente cualquier muestra biológica sobrante de la intervención o prueba a la que va a ser sometido a un biobanco de muestras biológicas, sin que ello suponga ningún riesgo añadido para su salud ni comprometa el correcto diagnóstico y tratamiento de su enfermedad. Dichas muestras biológicas excedentes podrán ser utilizados en proyectos de investigación biomédica que previamente sean aprobados por los comités externos, ético y científico, a los que está adscrito el biobanco.

Las muestras seguirán almacenadas en el biobanco hasta el fin de las existencias si no existe una revocación del presente consentimiento.

### 2.- Objetivo

La finalidad del biobanco es recoger y almacenar muestras biológicas humanas para realizar proyectos de investigación biomédica o diagnósticos. Los resultados de dichos proyectos de investigación pueden derivar en el descubrimiento de nuevos métodos para el mejor diagnóstico de las enfermedades y de nuevas medicinas para tratarlas.

### 3.- Condiciones de la donación

Usted no recibirá ninguna compensación económica ni otros beneficios materiales por donar sus muestras. Sin embargo, si las investigaciones que se realicen tuvieran éxito, podrán ayudar en el futuro a pacientes que tienen su misma enfermedad o padecen otras enfermedades similares.

Las muestras que usted dona no serán vendidas o distribuidas a terceros con fines comerciales, pero los costes de obtención, conservación y envío de las muestras se repercutirán, sin ánimo de lucro, a quienes las utilicen.

La donación de muestras no impedirá que Usted o su familia puedan hacer uso de ellas siempre que estén disponibles, cuando así lo requieran.

Debe saber que será prioritario el uso diagnóstico de la muestra que dona y que se garantizará un remanente de las muestras para este fin.

### 4.- Consecuencias previsibles de su realización

Se podría dar la circunstancia de ser contactado/a con el fin de recabar nueva información sobre su situación o de tomar una nueva muestra que pudiera ser interesante en el desarrollo de la investigación biomédica, en cuyo caso volverá a ser informado/a de la situación y tendrá la libertad de participar o rechazar dicha participación. Por tal motivo, es importante que comunique al Servicio de Admisión del centro FUTUROS CAMBIOS DE DIRECCIÓN y números de TELÉFONO, ya que es la única vía para poder contactar con usted.

Es posible que se obtenga información relativa a su salud derivada del desarrollo de los proyectos de investigación y, en particular, datos genéticos con relevancia clínica. En este sentido, puede solicitar la información relativa a su salud derivada del estudio de las muestras donadas. Para ejercer este derecho, tiene a su disposición en el biobanco el correspondiente formulario de solicitud.

## 12.2. Anexo 2. Modelo de Consentimiento informado por escrito de todos los pacientes que participaron en los estudios. Consentimiento análisis genético de utilidad clínica.



Profesor Beltrán Bágüena, 8  
46009 - VALENCIA  
Tfno.: 96 111 40 00  
Fax: 96 111 43 41

### CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL ANÁLISIS GENÉTICO DE UTILIDAD CLÍNICA HISTORIA CLÍNICA Nº

D./D<sup>a</sup>  
como interesado/paciente (táchese lo que no proceda), con fecha de nacimiento , con domicilio en y D.N.I. nº

#### DECLARO:

Que el Dr. , el interlocutor principal del procedimiento con el equipo asistencial (según art. 10.7 LG.S.), me ha explicado que el cáncer es una enfermedad genética, entendiéndolo como tal a que se producen alteraciones a nivel genético que son las responsables de que un tumor se desarrolle y que responda a determinados fármacos. También se me ha informado de que podemos ser portadores de variantes genéticas que pueden predisponer al desarrollo del cáncer o condicionar la respuesta al tratamiento/s a los que voy a ser sometido/a.

#### 1.- Identificación y descripción del procedimiento.

El procedimiento que se le propone, y del que se le informa verbalmente, consistirá en la realización un/unos análisis genético/s a partir del tejido excedente del proceso diagnóstico histopatológico y/o a partir de una muestra de sangre para detectar la presencia, ausencia o variantes de uno o varios segmentos de material genético, pudiendo incluir pruebas indirectas para la detección de productos génicos o metabolitos específicos indicativos de cambios genéticos determinados.

#### 2. Finalidad del análisis genético

La finalidad de todos los análisis que se le proponen, así como aquellos que se le pudieran hacer en un futuro, es la correcta caracterización/diagnóstico del cáncer que padece y la optimización del manejo clínico de su enfermedad. Debe saber, en cualquier caso, que se le informará verbalmente de los resultados de los mismos.

#### 3. Lugar de realización de análisis y destino de la muestra al término del mismo

Las muestras destinadas al análisis genético, incluyendo las pruebas indirectas para la detección de productos génicos o metabolitos específicos indicativos de cambios genéticos determinados, se realizarán en los distintos laboratorios acreditados para tal fin de la institución que está tratando su enfermedad: anatomía patológica, análisis clínicos, hematología, microbiología, genética y biología molecular.

Las muestras, una vez procesadas, se almacenarán en el Biobanco de la Fundación Instituto Valenciano de Oncología durante el tiempo necesario para realizar todo el proceso de análisis descrito y a continuación serán destruidas.

En caso de que se estime la conveniencia de otros usos, se requerirá su consentimiento para los mismos.

En el caso en el que los análisis genéticos se deban hacer fuera de la institución que le está prestando asistencia, sus datos de identificación personales serán debidamente disociados.

#### 4. Personas que tendrán acceso a los resultados de los análisis

Los datos resultantes de los análisis se almacenarán en su historia clínica. Los profesionales sanitarios del centro tendrán acceso a los datos que consten en su historia clínica en tanto sea pertinente para la asistencia que le presten. El personal que acceda a los datos genéticos en el ejercicio de sus funciones quedará sujeto al deber de secreto de forma permanente.

#### 4 bis. Protección de datos

Ha de saber que la información sobre sus datos personales y de salud serán incorporados y tratados en una base de datos informatizada cumpliendo con las garantías que establece la Ley de Protección de Datos de Carácter Personal y la legislación sanitaria aplicable.

Los datos genéticos de carácter personal se conservarán durante un periodo mínimo de 5 años, tras los cuales podrá solicitar su cancelación.

Para solicitar la cancelación deberá hacerlo por escrito y dirigirse a la dirección médica del centro que trató su enfermedad.



Profesor Beltrán Bágüena, 8  
46009 – VALENCIA  
Tfno: 96 111 40 00  
Fax: 96 111 43 41

En caso de que usted no solicitara dicha cancelación, los datos se mantendrán en su historia clínica indefinidamente.

**5. Advertencia sobre la posibilidad de descubrimientos inesperados.**

Los resultados del análisis genético se evaluarán teniendo en cuenta los antecedentes clínicos personales y familiares, los resultados de la exploración física, las pruebas complementarias y la interpretación clínica del personal facultativo. En todo momento será debidamente informado de las repercusiones que los análisis genéticos vayan a tener sobre el manejo clínico de su enfermedad.

Si se demuestra que usted es portador de una variación génica que puede ser heredada, y por tanto transmitida a la descendencia, se le ofrecerá la posibilidad de consejo genético.

**6. Implicación que el análisis genético puede tener para sus familiares y compromiso de suministrar consejo genético.**

Una vez obtenidos y evaluados los resultados del análisis genético, se le informará de las repercusiones de dicho hallazgo, tanto para usted como para sus familiares, y si procede, se le garantiza el asesoramiento genético adecuado en la forma en la que reglamentariamente está establecida. En cualquier caso se respetará su criterio y las decisiones que Usted adopte.

7. Usted podrá revocar este consentimiento en cualquier momento sin tener que dar explicaciones y sin que esto tenga ninguna repercusión en la asistencia médica que reciba o pueda recibir usted o sus familiares en el centro. Para revocar este consentimiento deberá dirigirse al mismo facultativo con el que firmó el presente consentimiento.

Manifiesto que estoy satisfecho/a con la información recibida, que se me ha informado verbalmente de los procedimientos de análisis genético a los que voy a ser sometido, que he podido hacer las preguntas que he estimado conveniente, a las que se ha respondido adecuadamente, y que comprendo el alcance del procedimiento, por lo que en tales condiciones, **OTORGO LIBRE Y VOLUNTARIAMENTE MI CONSENTIMIENTO PARA ANÁLISIS GENÉTICO.**

En Valencia 04 de septiembre de 2014

Firma del paciente	Firma de un testigo D.N.I.:	Firma del médico
--------------------	--------------------------------	------------------

Fdo:	Fdo:	Fdo:
------	------	------

**REVOCACIÓN AL CONSENTIMIENTO INFORMADO DE ANÁLISIS GENÉTICO DE UTILIDAD CLÍNICA**  
 D./D<sup>a</sup> ..... como interesado, de .....  
 años de edad, con domicilio en .....  
 y D.N.I. n<sup>o</sup> .....  
 Revoco el consentimiento prestado en fecha....., que doy con esta fecha por finalizado, sin tener que dar explicaciones y sin que esto tenga ninguna repercusión en la asistencia médica que reciba o pueda recibir Usted o sus familiares en el centro.

En Valencia ..... de ..... de 2.00...

Firma del paciente	Firma de un testigo D.N.I.:	Firma del médico
--------------------	--------------------------------	------------------

Fdo: (Nombre y dos apellidos)	Fdo: (Nombre y dos apellidos)	Fdo: (Nombre y dos apellidos)
----------------------------------	----------------------------------	----------------------------------



### 12.3. Anexo 3. Variables incluidas en la base de datos de melanoma

VARIABLE	TIPO DE VARIABLE Y CODIFICACIÓN
Número de identificación del melanoma a estudio	Texto libre
Número de historia	Texto libre
Hospital externo que envía al paciente	Texto libre
Médico que hace la primera visita	Texto libre
Número del SIP	Texto libre
Primer apellido	Texto libre
Segundo apellido	Texto libre
Fecha en la que le paciente es visto por primera vez en el Servicio de Dermatología del Hospital	Texto libre
Fecha en la que se realiza el diagnóstico histológico	Texto libre
Fecha del tratamiento definitivo (cirugía, radioterapia, quimioterapia)	Texto libre
Primera recaída tras el diagnóstico inicial	Sí/No
Fecha de la recaída	Día/Mes/Año
Última fecha en la que se tiene constancia de que el paciente está vivo	Día/Mes/Año
Paciente del que no se sabe de su evolución durante más de un año	Sí/No
Paciente fallecido (sea por la causa que sea)	Sí/No
Fallecimiento por el melanoma	Sí/No
Fallecimiento por otras causas	Sí/No
Fecha de la muerte en el caso de que haya sido por su melanoma	Día/Mes/Año
Fecha de la muerte en el caso de que haya sido por otras causas diferentes a su melanoma	Día/Mes/Año
Edad en que se le extirpó el melanoma	Texto libre
Fecha de nacimiento	Día/Mes/Año
Domicilio	Texto libre
Ciudad	Texto libre
Lugar de nacimiento	Comunidad Valenciana/ Otra comunidad/ Otro país/ Sin especificar

<b>Teléfono</b>	Texto libre
<b>Email</b>	Texto libre
<b>Peso</b>	Texto libre
<b>Altura</b>	Texto libre
<b>Profesión</b>	Texto libre
<b>Estudios</b>	Ninguno/ Menos de 14 años/ Hasta 14 años/ Hasta 16 años/ Hasta 18 años/ Estudios medios/ Estudios superiores/ Sin especificar
<b>Fototipo</b>	Según Clasificación de Fitzpatrick/ Sin especificar
<b>Color del pelo</b>	Negro/ Castaño oscuro/ Castaño claro/ Rubio/ Pelirrojo/ Sin especificar
<b>Número de quemaduras con ampollas o dolor de al menos 2 días</b>	Número
<b>Quemaduras leves</b>	Sí/No / Sin especificar
<b>Quemaduras en el área del melanoma</b>	No/ Leves/ Intensas/ No aplicable (mucosas, ocular)/ Sin especificar
<b>Exposición solar crónica</b>	Sí/No / Sin especificar
<b>Profesión según exposición al sol</b>	No expuesta al sol/ Expuesta al sol/ Sin especificar
<b>Años de profesión al sol</b>	Número de años de exposición al sol
<b>Exposición intermitente al sol (exposición solar ocio o estival)</b>	Sí/No / Sin especificar
<b>Exposición intermitente</b>	Estival/ Actividades aire libre/ Sin especificar
<b>Rayos UVA</b>	Sí/No / Sin especificar
<b>Número de sesiones de Rayos UVA</b>	Número aproximado de sesiones
<b>Edad a la que empezó la exposición a las lámparas UVA</b>	Edad en años/ No procede/ Sin especificar
<b>Número de cigarrillos al día</b>	No/ <10/ 10-20/ >20/ Sin especificar
<b>Años de consumo de tabaco</b>	No procede/ Sin especificar
<b>Menopausia</b>	Sí/No / No procede/ Sin especificar
<b>Anticonceptivos</b>	No/ Sí, alguna vez pero no en el diagnóstico/ Sí, en el momento del diagnóstico/ No procede/ Sin especificar

<b>Meses transcurridos desde la finalización del uso de anticonceptivos orales y el diagnóstico de melanoma maligno</b>	Número de meses
<b>Embarazo</b>	No/ En el diagnóstico/ Previos/ Posterior/ No procede/ Sin especificar
<b>Embarazos previos</b>	Número
<b>Diagnóstico durante el embarazo</b>	Sí/No
<b>Embarazos posteriores al diagnóstico</b>	Número
<b>Efélides en la infancia</b>	Sí/No
<b>Efélides en la cara</b>	Número, acorde con "Freckling chart de Vancouver"
<b>Efélides en los brazos</b>	Número, acorde con "Freckling chart de Vancouver"
<b>Efélides en el tronco</b>	Número, acorde con "Freckling chart de Vancouver"
<b>Lentigos</b>	Sí/No
<b>Queratosis actínicas</b>	Sí/No
<b>Léntigos en el área del melanoma</b>	Sí/No
<b>Aparición de un segundo tumor</b>	Sí/No
<b>Tipo de segundo tumor</b>	Texto libre
<b>Carcinoma espinocelular previos y tras el diagnóstico</b>	Sí/No
<b>Carcinoma basocelular previos y tras el diagnóstico</b>	Sí/No
<b>Queratosis seborreicas</b>	Sí/No
<b>Nevus congénito</b>	Ninguno/ Pequeño/ Mediano/ Gigante/ Sin especificar
<b>Nevus melanocíticos comunes de mayor de 2 mm</b>	Número/ Sin especificar
<b>Patrón de nevus</b>	No tiene casi/ Lentiginoso/ Intradérmico/ Mixto: lentiginoso más intradérmico/ Sin especificar
<b>Número de nevus en el área del melanoma (se considera como área las zonas definidas por la regla de los 9)</b>	Número
<b>Nevus atípicos</b>	Número
<b>Nevus displásicos según estudio histológico</b>	Número
<b>Melanoma múltiple</b>	Sí/No
<b>Número de melanomas</b>	Número
<b>Número de familiares afectos con melanoma</b>	Número
<b>Grado de parentesco del familiar con melanoma</b>	Segundo grado/ Primer grado/ No procede/ Sin especificar

<b>Miembro de la familiar primer y segundo grado con cáncer de páncreas</b>	Sí/No / Adoptado/ Sin especificar
<b>Miembro de la familia de primer grado con algún tipo de cáncer</b>	Sí/No / Adoptado/ Sin especificar
<b>Miembro de la familia segundo grado con algún tipo de cáncer</b>	Sí/No / Adoptado/ Sin especificar
<b>Laminilla disponible</b>	Sí/No
<b>Bloque disponible</b>	Sí/No
<b>Motivo de consulta</b>	Autoexploración y observación de una lesión rara/ Hallazgo exploratorio/ Síntomas (aumento del volumen, cambio de coloración, sangrado)/ Detección en el programa de seguimiento de nevus-screening/ Observación por una tercera persona/ Desconocido
<b>Meses desde que percibió algún cambio en la lesión</b>	Número
<b>Número Meses desde que el paciente es consciente que tiene la lesión</b>	Número
<b>Cambio en el volumen</b>	Sí/No / No lo percibió/ Sin especificar
<b>Tiempo desde la percepción del cambio de volumen hasta la extirpación</b>	<1mes/ 1-3 meses/ 4-6 meses/ 7-12 meses/ >1 año/ No lo sabe/ Sin especificar
<b>Sangrado</b>	Sí/No
<b>Si existe foto clínica en la historia del paciente</b>	Sí/No
<b>Localización</b>	Texto
<b>Localización en función de la exposición al sol</b>	Área oculta al sol siempre/ Área expuesta al sol sólo en verano/ Área expuesta todo el año/ No procede/ Sin especificar
<b>Localización en función de la visibilidad por el paciente</b>	Visible por el paciente/ Visible para conviviente íntimo/ Oculta para ambos/ No procede
<b>Exéresis</b>	Exéresis completa/ Biopsia incisional/ Rebanado/ No procede
<b>Márgenes</b>	Negativos/ Laterales afectos/ Profundidad afecta/ Laterales y profundidad afectados/ No procede
<b>Tipo histológico</b>	LMM/ SMM/ MN/ Otros-inclasificable/ No procede
<b>Ampliación del melanoma</b>	Número
<b>Fase de crecimiento</b>	Horizontal/ Vertical/ No procede

<b>Breslow</b>	Número
<b>Clark</b>	Número
<b>Ulceración</b>	Sí/No
<b>Reacción linfocitaria</b>	Nula/ Escasa o moderada/ Intensa/ No procede/ Sin especificar
<b>Disposición del infiltrado</b>	Peritumoral/ Intratumoral/ No procede/ Sin especificar
<b>Infiltrado peritumoral</b>	Ausente/ Discontinuo/ Denso/ No procede/ Sin especificar
<b>Satelitosis microscópica</b>	Sí/No
<b>Número de mitosis en 1 mm<sup>2</sup></b>	Número
<b>Regresión</b>	Sí/No
<b>Invasión vascular</b>	Sí/No
<b>Restos de nevus preexistente</b>	Sí/No
<b>Tipo de lesión previa histológica</b>	No/ Nevus displásico/ Nevus congénito/ Nevus común/ Nevus azul/ Nevus Spilus/ Otros/ No procede
<b>Invasión perineural</b>	Sí/No
<b>Tipo celular</b>	Epiteloide/ Fusiforme/ Nevoide/ Balonzantes/ Atípicos/ Otros/ No procede
<b>Elastosis histológica</b>	Sí/No
<b>Elastosis actínica</b>	Ausente/ Leve/ Moderada/ Intensa/ No valorable/ Sin especificar
<b>Ganglio centinela</b>	Sí/No
<b>Biopsia del ganglio centinela</b>	Sí/No
<b>Número de ganglios centinelas afectados</b>	Número
<b>Metástasis</b>	Sí/ No
<b>Tamaño del mayor foco metastásico</b>	Número
<b>Linfadenectomía</b>	No/ Electiva/ Profiláctica/ Terapéutica
<b>Territorios de los que se ha hecho la linfadenectomía</b>	Texto libre
<b>Adenopatías palpables</b>	Sí/No
<b>Ganglios extirpados</b>	Número
<b>Número de ganglios positivos sin contar con el ganglio centinela</b>	Número

<b>Número de ganglios con afectación capsular</b>	Número
<b>Adenopatías clínicas palpables/detectadas por imagen locorregionales previas al ganglio centinela</b>	Número
<b>Estudio PET estadificación</b>	Sí/No
<b>Estadio</b>	Melanoma in situ/ Localizado/ Metástasis ganglionares/ Metástasis sistémicas/ Sin especificar
<b>Realización de estudio mutación BRAF</b>	Sí/No/No realizada
<b>Realización de estudio mutación NRAS</b>	Sí/No/No realizada
<b>Realización de estudio mutación MC1R</b>	Sí/No/No realizada
<b>Realización de estudio mutación TERT</b>	Sí/No/No realizada
<b>Realización de estudio polimorfismos</b>	Sí/No/No realizada

## 12.4. Anexo 4. Variables incluidas en la base de datos de carcinoma epidermoide cutáneo

VARIABLE	TIPO DE VARIABLE Y CODIFICACIÓN
Número de identificación del carcinoma epidermoide cutáneo a estudio	Texto libre
Número de historia	Texto libre
Hospital externo que envía al paciente	Texto libre
Médico que hace la primera visita	Texto libre
Número del SIP	Texto libre
Primer apellido	Texto libre
Segundo apellido	Texto libre
Fecha en la que le paciente es visto por primera vez en el Servicio de Dermatología del Hospital	Texto libre
Fecha en la que se realiza el diagnóstico histológico	Texto libre
Fecha del tratamiento definitivo (cirugía, radioterapia, quimioterapia)	Texto libre
Primera recaída tras el diagnóstico inicial	Sí/No
Fecha de la recaída	Día/Mes/Año
Última fecha en la que se tiene constancia de que el paciente está vivo	Día/Mes/Año
Paciente del que no se sabe de su evolución durante más de un año	Sí/No
Paciente fallecido (sea por la causa que sea)	Sí/No
Fallecimiento por el carcinoma epidermoide cutáneo	Sí/No
Fallecimiento por otras causas	Sí/No
Fecha de la muerte en el caso de que haya sido por su carcinoma epidermoide cutáneo	Día/Mes/Año
Fecha de la muerte en el caso de que haya sido por otras causas diferentes a su carcinoma epidermoide cutáneo	Día/Mes/Año
Edad en que se le extirpó el carcinoma epidermoide cutáneo	Texto libre
Fecha de nacimiento	Día/Mes/Año
Domicilio	Texto libre
Ciudad	Texto libre

<b>Lugar de nacimiento</b>	Comunidad Valenciana/ Otra comunidad/ Otro país/ Sin especificar
<b>Teléfono</b>	Texto libre
<b>Email</b>	Texto libre
<b>Peso</b>	Texto libre
<b>Altura</b>	Texto libre
<b>Profesión</b>	Texto libre
<b>Estudios</b>	Ninguno/ Menos de 14 años/ Hasta 14 años/ Hasta 16 años/ Hasta 18 años/ Estudios medios/ Estudios superiores/ Sin especificar
<b>Fototipo</b>	Según Clasificación de Fitzpatrick/ Sin especificar
<b>Color del pelo</b>	Negro/ Castaño oscuro/ Castaño claro/ Rubio/ Pelirrojo/ Sin especificar
<b>Quemaduras leves</b>	Sí/No / Sin especificar
<b>Quemaduras en el área del carcinoma epidermoide</b>	No/ Leves/ Intensas/ No aplicable (mucosas, ocular)/ Sin especificar
<b>Exposición solar crónica</b>	Sí/No / Sin especificar
<b>Profesión según exposición al sol</b>	No expuesta al sol/ Expuesta al sol/ Sin especificar
<b>Años de profesión al sol</b>	Número de años de exposición al sol
<b>Exposición intermitente al sol (exposición solar ocio o estival)</b>	Sí/No / Sin especificar
<b>Exposición intermitente</b>	Estival/ Actividades aire libre/ Sin especificar
<b>Número de cigarrillos al día</b>	No/ <10/ 10-20/ >20/ Sin especificar
<b>Años de consumo de tabaco</b>	No procede/ Sin especificar
<b>Queratosis actínicas</b>	Sí/No
<b>Aparición de un segundo tumor</b>	Sí/No
<b>Tipo de segundo tumor</b>	Texto libre
<b>Carcinoma basocelular previos y tras el diagnóstico</b>	Sí/No
<b>Melanoma cutáneo previo y tras el diagnóstico</b>	Sí/No
<b>Queratosis seborreicas</b>	Sí/No
<b>Antecedente personal de enfermedad que</b>	Sí/No



<b>predispone a CECAR</b>	
<b>Especificar enfermedad</b>	Texto libre
<b>Laminilla disponible</b>	Sí/No
<b>Bloque disponible</b>	Sí/No
<b>Meses desde que percibió algún cambio en la lesión</b>	Número
<b>Número Meses desde que el paciente es consciente que tiene la lesión</b>	Número
<b>Cambio en el volumen</b>	Sí/No / No lo percibió/ Sin especificar
<b>Tiempo desde la percepción del cambio de volumen hasta la extirpación</b>	<1mes/ 1-3 meses/ 4-6 meses/ 7-12 meses/ >1 año/ No lo sabe/ Sin especificar
<b>Si existe foto clínica en la historia del paciente</b>	Sí/No
<b>Localización</b>	Texto
<b>Localización en función de la exposición al sol</b>	Área oculta al sol siempre/ Área expuesta al sol sólo en verano/ Área expuesta todo el año/ No procede/ Sin especificar
<b>Localización codificada de la tumoración</b>	Frontal, sien, mejilla, dorso nasal, calota, periauricular, fuera de cabeza/cuello, pabellón auricular, perilabial
<b>Exéresis</b>	Exéresis completa/ Biopsia incisional/ Rebanado/ No procede
<b>Márgenes</b>	Negativos/ Laterales afectos/ Profundidad afecta/ Laterales y profundidad afectados/ No procede
<b>Tipo histológico</b>	Expansivo/ Infiltrativo/Acantolítico/ Otros-inclasificable/ No procede
<b>Desmoplasia</b>	Sí/No
<b>Breslow</b>	Número
<b>Clark</b>	Número
<b>Ulceración</b>	Sí/No
<b>Reacción inflamatoria</b>	Nula/ Escasa o moderada/ Intensa/ No procede/ Sin especificar
<b>Tipo infiltrado</b>	Linfocítico, linfoplasmocitario, plasmoeosinófilo
<b>Número de mitosis en 10 campos</b>	Número
<b>Invasión perineural</b>	Sí/No
<b>Invasión vascular</b>	Sí/No
<b>Restos de queratosis actínica adyacente</b>	Sí/No

<b>Ganglio centinela</b>	Sí/No
<b>Biopsia del ganglio centinela</b>	Sí/No
<b>Número de ganglios centinelas afectados</b>	Número
<b>Metástasis</b>	Sí/ No
<b>Tamaño del mayor foco metastásico</b>	Número
<b>Linfadenectomía</b>	No/ Electiva/ Profiláctica/ Terapéutica
<b>Territorios de los que se ha hecho la linfadenectomía</b>	Texto libre
<b>Adenopatías palpables</b>	Sí/No
<b>Ganglios extirpados</b>	Número
<b>Número de ganglios positivos sin contar con el ganglio centinela</b>	Número
<b>Número de ganglios con afectación capsular</b>	Número
<b>Adenopatías clínicas palpables/detectadas por imagen locorregionales previas al ganglio centinela</b>	Número
<b>Estadio</b>	

## 12.5. Anexo 5. Análisis genético de *BRAF* y *NRAS*

### 1 Extracción de ADN.

La extracción de ADN se llevó a cabo sobre bloques representativos del tumor, con un alto porcentaje de células tumorales (>50%), del mismo del que se realizó el estudio inmunohistoquímico. Se emplearon cinco cortes de 5  $\mu\text{m}$  de grosor de la muestra incluida en parafina. En los casos en que el porcentaje de células tumorales fue inferior al establecido, se realizó la selección del material de la zona tumoral mediante disección con un tissue-arrayer manual (Beecher TMA-421) tomando varios cilindros del área tumoral. El tejido se desparafinó y se digirió con proteinasa K (20mg/ml de tampón de lisis) a 56°. Tras la digestión se procedió a la purificación de ADN empleando el kit de purificación "QIAamp® DNA Mini kit" (QIAGEN).

Una vez diluido el ADN se pudo emplear directamente para llevar a cabo las amplificaciones, en otros caso se congeló a -20°C hasta su uso.

El análisis de mutaciones en los genes implicados en la ruta RAS-RAFMEK- ERK se realizó mediante amplificación específica por PCR y posterior secuenciación directa de los fragmentos a estudiar. Se utilizó para ello un secuenciador automático ABI3130XL de dieciséis capilares con software específico para el análisis de secuencias (Sequencing analysis v5.2). Del ADN obtenido se empleó entre 20-50 ng para cada amplificación según previamente descrito (30).

### 2. Detección de mutaciones en *BRAF*.

El análisis de la mutación de V600E del gen *BRAF* se realizó mediante amplificación del exón 15 según lo descrito por Hacker y colaboradores.(182)

### 3. Detección de mutaciones en *NRAS*.

El análisis de las mutaciones de N-RAS consistió en el análisis de las mutaciones de los exones 1 y 2 del gen, que igualmente se amplificaron mediante PCR según lo descrito por Hacker y colaboradores, en cuanto a

cebadores y condiciones.(182)

## 12.6. Anexo 6. Análisis genético de *TERT*

### 1 Procedimiento de detección de mutaciones en la región promotora de *TERT*.

El análisis de las mutaciones de la región promotora del gen *TERT* (desde la posición -27 a -286 desde el sitio de inicio ATG) se realizó mediante amplificación con cebadores específicos y posterior secuenciación Sanger.

La PCR se llevó a cabo en un volumen de 10 µl que contenía 10 ng de ADN, 50 mM KCl, 0,1mM dNTP y 0,11mM de cada cebador. Las concentraciones de MgCl<sub>2</sub>, otros aditivos y las condiciones de temperatura se ajustaron de acuerdo con las secuencias de los cebadores. Los productos de amplificación se purificaron con Exosap (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK) para retirar el excedente de cebador. Para la secuenciación se empleó el kit Dideoxy terminator (Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit, Applied Biosystems, Austin, TX, USA) combinado con los cebadores forward y reserve en reacciones independientes. Los productos de secuenciación se precipitaron con etanol y se analizaron en un secuenciador capilar (Abi Prism 3130xl Genetic Analyzer). (223)

### 2. Análisis de datos obtenidos.

Los datos secuenciados fueron analizados usando el software Genious Pro 5.6.5 partiendo como referencia con las secuencias de la base de datos genética NCBI, *TERT* (cr 5: 1,295,071 – 1,295,521, hg19 GRCH37), *BRAF* (NG\_007873.2) and *NRAS* (NG\_007572.1).

## 12.7. Anexo 7. Cuaderno de recogida de datos estudio SAOS y MM.

### ESTUDIO SAHS MELANOMA (MM)

#### HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

<p>Código del paciente -Tres primeras iniciales del hospital Seguidas del número de paciente (0001, 0002....)</p> <p>crecimien Código.....</p>	<p><b>Exclusión:</b> Menores de 18 años MM no visible MM extracutáneo/2º MM MM no primario o in situ CPA/BiPAP previas Imposible medir tasa</p> <p><b>Ins respiratoria o cardiaca</b></p>
--	---

## V1. DERMATOLOGÍA

Fecha de consulta..... Doctor./Hospital.....

Pedir firma del consentimiento informado (decirle que solo se le hará una prueba de sueño)

**Edad:**            **Género:** M F            **Fototipo piel:** I II III IV V VI

**Nivel educacional**    No estudios    Primarios    Secundarios    Universitarios

**Antec quemaduras solares:** No    1-3    >3    **Antec Familiar de MM:** Sí No

**Antec personal de cáncer cutáneo no MM:** No Si Señalar tipo:.....

**Exposición solar habitual**    Si    No

**Localización:**    Cabeza/cuello    Ext sup    Ext inf    Tronco    Acral

**Fotolocalización:** Oculta siempre    Fotoexp. crónica    Fotoexp.en verano

**Color pelo:** Negro    Castaño oscuro    Castaño claro    Rubio    Pelirrojo

**Color ojos:** Verdes azules    marron-oscuro    marron-claro    negros

**Comentarios**.....**Peso**.....Kg

**Tasa de crecimiento (preguntar al paciente y al acompañante)**

**Fecha de cambios cutáneos (D1)**

## 230 | Velocidad de crecimiento en el cáncer de piel

- En caso de percepción de crecimiento en volumen: Fecha de inicio de crecimiento de volumen \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (día/mes/año)
- En caso de no percepción de crecimiento en volumen. Fecha de cambios (color, forma, tamaño horizontal, síntomas) \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (día/mes/año)

**Fecha de excisión (D2)** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (día/mes/año)

**En el informe de anatomía patológica debe de aparecer información al menos sobre:**

I. de Breslow \_\_\_(mm) I. de Clark \_\_\_ Presencia de regresión SI NO

Presencia de ganglio centinela afecto SI NO ¿ulceración? SI NO

índice mitótico/mm<sup>2</sup> (en 5 campos de gran aumento) \_\_\_\_\_

Presencia histológica de nevus previo SI NO

Subtipo de melanoma (subrayar la adecuada):

Melanoma de extensión superficial

Melanoma nodular

Melanoma lentiginoso

Lentigo maligno melanoma

Estadio tumoral (subrayar la adecuada):

Melanoma localizado

Extensión loco regional

Metástasis a distancia

Marcadores inmunohistoquímicos (a realizar por cada centro)

Expresión Ki67.....Melan A/MART.....HMB 45.....  
S-100.....

A rellenar por centro de referencia (sólo se realizará la determinación centralizada de los siguientes marcadores)

Expresión IHQ VEGF..... Expresión IHQ HIF-1.....  
Autofagia p62.....

Exclusión tras consulta de dermatología NO SI (motivo).....

(La velocidad de crecimiento será calculada por el centro de referencia)

**Dermatología: Grapar a este protocolo el informe de anatomía patológica del melanoma y mandar a la Unidad de Sueño de vuestro centro. Decirle al paciente que le llamarán por teléfono para prueba de sueño**

## V2. UNIDAD DE SUEÑO

Fecha de consulta.....Dr./Hospital.....

Llamar al paciente para quedar en hacerle la prueba de sueño (plazo máximo 3 mes desde el diagnóstico del MM).

- Domiciliaria             Hospitalaria
- Antecedentes de interés
  - Patología respiratoria y gravedad.....
  - Otras patologías importantes.....
  - Antecedentes cardiovasculares y factores de riesgo cardiovascular
    - HTA                             DM                             Dislipemia
    - Alcohol /gr/d).....    Tabaquismo (pq/año).....
    - Toma de psicotropos     Depresión     Ansiedad     Insomnio
    - ECV previo     Ictus             C Isquémica     Ins cardíaca
    - Arritmias     Otros.....
    - Ins respiratoria                             O2 Domiciliario
    - Roncopatía crónica.....veces/semana             No sabe
    - Apneas presenciadas             Si             No             No sabe
    - Epworth.....     Talla.....    Peso.....Per cuello.....
    - Sat basal diurna.....    Horas sueño habitual (contando siestas).....

**Poligrafía respiratoria** (Lectura manual)

Fecha.....Tipo poligrafía.....Horas registro.....

Se repetirán o no serán válidas los estudios con menos de 4 horas de registro

*Las mediciones oximétricas se realizarán con la toma por parte del polígrafo de la sat de O2 cada 2-3 segundos (comprobar en el software)*

IAH.....            ID4%.....            Sat mínima .....            CT90% .....

IAHobs.....            ID3%.....            Sat basal.....

IAHc.....            Sat media.....            IAH supino.....

**Comentario (otras mediciones)**.....

*Los registros completos serán enviados a el centro principal para su lectura ciega de forma centralizada*

Exclusion tras visita de sueño    NO            SI (causa).....

**Análítica sangre periférica (se congelan y guarda el plasma hasta su Traslado para la medición central)**

232 | Velocidad de crecimiento en el cáncer de piel

VEFG (pg/ml)..... IL-6 (pg/ml)..... FNTalfa (pg/ml).....

ICAM-1 (pg/ml)..... VCAM (pg/ml)..... PCR-US (UI/ml).....

VSG (mm<sup>1</sup>h)..... Fibrinógeno /mg/dl).....

¿Finaliza el estudio? SI NO (causa).....

**Unidad de sueño: Una vez rellenado este protocolo será enviado junto a una copia del informe de anatomía patológica del melanoma, el registro completo de la prueba de sueño y una copia del polgraphy report al centro principal o coordinador**



**12.8. Anexo 8. Escala de Epworth.** Se trata de una escala que el paciente debe de rellenar. Se considera cuando la puntuación final es igual o mayor a 12.

<b>ESCALA DE SOMNOLENCIA DE EPWORTH</b>				
Señale la respuesta que se asemeja más a su situación actual				
	Nunca se adormilaría	Pocas posibilidades de que se adormilase	Es posible que se adormilase	Grandes posibilidades de que se adormilase
SENTADO LEYENDO.	0	1	2	3
VIENDO LA TELEVISION.	0	1	2	3
SENTADO, INACTIVO, EN UN LUGAR PÚBLICO. ( por ejemplo en un <i>teatro o un acto público o una reunión</i> ).	0	1	2	3
COMO PASAJERO EN UN COCHE UNA HORA SEGUIDA.	0	1	2	3
DESCANSANDO ECHADO POR LA TARDE CUANDO LAS CIRCUNSTANCIAS LO PERMITEN.	0	1	2	3
SENTADO CHARLANDO CON ALGUIEN.	0	1	2	3
SENTADO TRANQUILAMENTE DESPUES DE UNA COMIDA SIN ALCOHOL.	0	1	2	3
EN UN COCHE, AL PARARSE UNOS MINUTOS EN EL TRÁFICO	0	1	2	3
<b>Suma total de puntos:</b>				



# **PUBLICACIONES, RECONOCIMIENTOS Y AYUDAS PÚBLICAS**

---



## **13. Publicaciones, reconocimientos y ayudas públicas**

### **13.1. Artículos científicos (indexados en Pubmed)**

1. **Martorell-Calatayud A**, Requena C, Botella-Estrada R, Sangüeza OP. [Advances in molecular biology and their application in the diagnosis and treatment of melanoma]. *Actas Dermosifiliogr.* 2009 Nov; 100 Suppl 1:52-65. Spanish. PubMed PMID: 20096197.

2. **Martorell-Calatayud A**, Nagore E, Botella-Estrada R, Scherer D, Requena C, Serra-Guillén C, Llombart B, Sanmartin O, Kumar R, Guillén C. Defining fast-growing melanomas: reappraisal of epidemiological, clinical, and histological features. *Melanoma Res.* 2011 Apr; 21(2): 131-8. doi: 10.1097/CMR.0b013e328342f312. PubMed PMID: 21183860.

3: Nagore E, **Martorell-Calatayud A**, Botella-Estrada R, Guillén C. Growth rate as an independent prognostic factor in localized invasive cutaneous melanoma. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2011 May;25(5):618-20; author reply 620. doi: 10.1111/j.1468-3083.2011.04029.x. Epub 2011 Mar 9. PubMed PMID: 21492248.

4: Tejera-Vaquerizo A, Nagore E, Meléndez JJ, López-Navarro N, **Martorell-Calatayud A**, Herrera-Acosta E, Traves V, Guillén C, Herrera-Ceballos E. Chronology of metastasis in cutaneous melanoma: growth rate model. *J Invest Dermatol.* 2012 Apr;132(4):1215-21. doi: 10.1038/jid.2011.433. Epub 2012 Jan 5. PubMed PMID: 22217744.

5: Tejera-Vaquerizo A, Nagore E, Herrera-Acosta E, **Martorell-Calatayud A**, Martín-Cuevas P, Traves V, Herrera-Ceballos E. Prediction of sentinel lymph node positivity by growth rate of cutaneous melanoma. *Arch Dermatol.* 2012

May;148(5):577-84. doi: 10.1001/archdermatol.2011.2522. PubMed PMID: 22250187.

6: Nagore E, Hacker E, **Martorell-Calatayud A**, Traves V, Guillen C, Hayward NK, Whiteman D. Prevalence of BRAF and NRAS mutations in fast-growing melanomas.

Pigment Cell Melanoma Res. 2013 May;26(3):429-31. doi: 10.1111/pcmr.12082. Epub 2013 Mar 20. PubMed PMID: 23448684.

7: Martínez-García MÁ, **Martorell-Calatayud A**, Nagore E, Valero I, Selma MJ, Chiner E, Landete P, Montserrat JM, Carrera C, Pérez-Gil A, Campos-Rodríguez F, Farré R. Association between sleep disordered breathing and aggressiveness markers of malignant cutaneous melanoma. Eur Respir J. 2014 Jun;43(6):1661-8. doi: 10.1183/09031936.00115413. Epub 2014 Mar 23. PubMed PMID: 24659545.\*Integrado en proyecto Beca FIS (Aprobada en 2013), con anexo de 2 investigadores principales: Neumología, Miguel Angel Martinez, Dermatología, Antonio Martorell.

8: **Martorell-Calatayud A**, Sanmartín Jimenez O, Cruz Mojarrieta J, Guillén Barona

C. Cutaneous squamous cell carcinoma: defining the high-risk variant. Actas Dermosifiliogr. 2013 Jun;104(5):367-79. doi: 10.1016/j.adengl.2011.12.012. Epub 2013 May 14. Review. English, Spanish. PubMed PMID: 23683506.

## 13.2.Reconocimientos

1. Reconocimiento de la Academia Española de Dermatología y Venereología al mejor artículo publicado en 2012 en revista internacional: Tejera-Vaquero A, Nagore E, Meléndez JJ, Lopez-Navarro N, Martorell-Calatayud A, Herrera E-Acosta, Traves V, Guillen C, E. Herrera-Ceballos Chronology of metastasis

in cutaneous melanoma: growth rate model. J Invest Dermatol. 2012 Apr, 132 (4) :1215-21.

2. Reconocimiento al mejor trabajo de Dermatología Oncológica presentado en el 40 Congreso Nacioanl de Dermatología y Venereología 2014 (Las Palmas de Gran Canaria,8-June 11, 2014).. Martorell-Calatayud A, Sanmartin O, Nagore E, Serra C, Guillén C. Valor de la velocidad de crecimiento en el carcinoma epidermoide cutáneo.

3. Reconocimiento de la Academia Valenciana de Dermatología al mejor trabajo de investigación prsentado en 2013. (Mayo 2013, Castellon.) Martorell A, Martinez-Garcia MA, Nagore E, Alfaro A. Melanoma de rápido crecimiento y apnea del sueño.

4. . Reconocimiento al mejor trabajo de Dermatología Oncológica presentado en el 38 Congreso Nacional de Dermatología y Venereología 2012 (Madrid,8-11 Junio, 2012). Martorell-Calatayud A, Requena C, Sanmartin O, Serra C, Botella R, Nagore E, Llombart B, C. Guillen. Definición clínico-patológica del carcinoma epidermoide cutáneo de alto riesgo.

### **13.3.Proyectos de financiación pública.**

2013-2017. Beca de investigación Instituto Carlos III (beca FIS). Síndrome de Apnea del sueño y su correlación como valor pronóstico en el melanoma. Financiación pública. Desde Mayo 2013 hasta la actualidad. Participante como investigador colaborador.

Investigador principal: Miguel Ángel Martínez García  
Centro: Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia  
FIS PI12 / 01363

Coordinador Neumología: Dr. Miguel Angel Martinez García. Hospital La Fe, Valencia

Coordinador Dermatología: Dr. Antonio Martorell Calatayud. Hospital de Manises, Valencia. Dr. Eduardo Nagore. Fundación Instituto Valenciano de Oncología, Valencia

