

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALENCIA

SAN VICENTE MÁRTIR



## **Melanoma asociado a nevo melanocítico:**

**Análisis de factores clínicos, epidemiológicos, histopatológicos y  
de biología molecular**

## **TESIS DOCTORAL**

PRESENTADA POR:

**D. Alejandro Martín Gorgojo**

DIRIGIDA POR:

**Dr. D. Eduardo Nagore Enguídanos**

**2017**

**Dr. D. EDUARDO NAGORE ENGUÍDANOS**, Doctor en Medicina, Jefe Clínico del Departamento de Dermatología del Instituto Valenciano de Oncología y Profesor Asociado de Dermatología de la Universidad Católica de Valencia

CERTIFICA:

Que la presente tesis doctoral titulada “**Melanoma asociado a nevo melanocítico: Análisis de factores clínicos, epidemiológicos, histopatológicos y de biología molecular**” ha sido realizada por **D. Alejandro Martín Gorgojo** bajo mi dirección, en el Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud para la obtención del título de **Doctor en Medicina** por la Universidad Católica de Valencia San Vicente Mártir.

Para que así conste a los efectos legales oportunos, se presenta esta tesis doctoral y se extiende la presente certificación en Valencia 31 de mayo de 2017.



Fdo.: Dr. Eduardo Nagore Enguíanos



*Tesis doctoral*

# Melanoma asociado a nevo melanocítico

Análisis de factores clínicos, epidemiológicos, histopatológicos y de biología molecular

Autor: **Alejandro Martín Gorgojo**

Director: **Eduardo Nagore Enguïdanos**

Universidad Católica de Valencia

Facultad de Medicina

Departamento de Medicina



Universidad  
Católica  
de Valencia  
San Vicente Mártir



**ivo**

FUNDACIÓN

INSTITUTO VALENCIANO DE ONCOLOGÍA



Antes de la defensa de la presente tesis doctoral, quedó aceptada para su publicación una revisión bibliográfica titulada “Melanoma sobre nevo melanocítico” en la revista *Actas Dermo-Sifiliográficas*.

El estudio piloto fue presentado en el *EADV Spring Symposium* celebrado en marzo de 2015 en Valencia, con el título de: “*Clinical, epidemiological, histopathologic and molecular differences between patients presenting common naevus-associated melanomas, dysplastic naevus-associated melanomas and de novo melanomas. An observational retrospective analysis of 1021 patients*”.

Asimismo, se han generado dos trabajos originales derivados que, en el momento del depósito de esta tesis doctoral, continúan en proceso de revisión por parte de dos revistas internacionales de Dermatología, y uno adicional que está pendiente de finalización.



## *Agradecimientos y dedicatoria*

Al acercarme a los últimos pasos en la elaboración de esta tesis doctoral me vienen a la cabeza muchas personas (familiares, amigos, maestros) que me han guiado, acompañado y apoyado en mi camino como médico. Aunque por motivos de espacio no podré incluirlas a todas, no querría dejar de expresar mi agradecimiento:

Al Profesor Eduardo Nagore Enguídanos por su valiosa mentoría y disposición a la hora de ayudarme a realizar este trabajo.

Al Servicio de Dermatología del Instituto Valenciano de Oncología, y en especial nuevamente a Eduardo Nagore por facilitarme la base de datos y ayudarme en su interpretación. A los demás integrantes del Servicio de Dermatología, al Servicio de Anatomía Patológica y al Biobanco del Instituto Valenciano de Oncología, sin los cuales muchos de los datos empleados en este manuscrito no habrían podido ser obtenidos.

A los Dres. Ricardo Suárez Fernández y Ricardo Ruiz Rodríguez, por su confianza, apoyo y comprensión en mis primeros pasos como médico especialista en Dermatología Médico-Quirúrgica y Venereología. A mis compañeros del Servicio de Dermatología del Hospital General Universitario Gregorio Marañón y de la de la Clínica Dermatológica Internacional, por hacerme sentir parte de equipos de primera división.

A mi familia y amigos. A mis padres, José María y Lydia, y hermanos, Víctor y Jaime, por ser siempre un punto de referencia y animarme a finalizar este trabajo. A mi esposa Beatriz, por su apoyo incondicional, paciencia y amor.



# Índice

<b>I. Introducción.....</b>	<b>13</b>
I.1. Justificación y antecedentes.....	15
I.2. Clasificación del melanoma cutáneo .....	17
I.3. Nevos melanocíticos adquiridos: Clasificación.....	20
I.3.1. Nevos melanocíticos comunes .....	21
I.3.2. Nevos melanocíticos clínicamente atípicos frente a histológicamente displásicos.....	23
I.4. Vías divergentes en el desarrollo del melanoma cutáneo.....	32
I.5. Nevogenicidad: factores asociados y su relación con el desarrollo de melanoma	35
I.5.1. Número y densidad de nevos melanocíticos. Presencia de nevos clínicamente atípicos. Relación con melanoma .....	35
I.5.2. Características fenotípicas y nevogenicidad .....	38
I.5.3. Factores ambientales y nevogenicidad.....	39
I.6. Factores genéticos y moleculares en las neoplasias melanocíticas.....	41
I.6.1. Exposición solar, vías divergentes en el desarrollo del melanoma, y clasificación genética-molecular del melanoma .....	41
I.6.2. Genética en el desarrollo de las neoplasias melanocíticas .....	42
I.6.3. Polimorfismos de nucleótido aislado (SNP) asociados a nevogenicidad y melanoma.....	43
I.6.4. Mutaciones genéticas en las neoplasias melanocíticas .....	44
I.6.5. Mutaciones somáticas fundamentales en las neoplasias melanocíticas .....	49
I.6.6. Mutaciones germinales en los genes <i>CDKN2A</i> y <i>CDK4</i> .....	53
I.6.7. Polimorfismos en el gen del receptor de la melanocortina 1 ( <i>MC1R</i> ).....	54
I.6.8. Otras alteraciones genéticas. Epigenética en el desarrollo de las neoplasias melanocíticas .....	55
I.6.9. Resumen de las alteraciones genéticas y del modelo evolutivo de progresión del melanoma .....	55
I.7. Melanoma asociado a nevo .....	57

I.7.1. Diferenciación de nevo y melanoma.....	58
I.7.2. Proporción de melanomas asociados a nevo. Análisis agregado de la literatura publicada .....	59
I.7.3. Características asociadas a los MAN.....	62
<b>II. Hipótesis.....</b>	<b>63</b>
<b>III. Objetivos .....</b>	<b>67</b>
<b>IV. Material y métodos.....</b>	<b>71</b>
IV.1. Sujetos de estudio.....	73
IV.1.1. Criterios de inclusión .....	73
IV.1.2. Criterios de exclusión .....	73
IV.1.3. Grupos de estudio .....	74
IV.2. Datos analizados en el estudio.....	75
IV.2.1. Variables demográficas y clínicas.....	77
IV.2.2. Variables histopatológicas .....	89
IV.2.3. Variables genéticas .....	92
IV.3. Análisis estadístico .....	93
<b>V. Resultados .....</b>	<b>95</b>
V.1. Estudio descriptivo de la población. Estudios analíticos exploratorios.....	97
V.1.1. Variables demográficas y clínicas.....	98
V.1.2. Variables histopatológicas .....	123
V.1.3. Variables genéticas .....	129
V.2. Estudio analítico de factores asociados a MAN mediante regresión logística ..	131
V.2.1. Comparación de MANdis frente a MDN .....	131
V.2.2. Comparación de MANcom frente a MDN .....	135
V.2.3. Comparación de MANcom frente a MANdis .....	138
V.3. Análisis de supervivencia.....	140
V.3.1. Comparación entre MDN y MAN .....	140
V.3.2. Comparación entre los tres subgrupos.....	145
V.4. Estudio de las diferencias entre la asociación clínica o histológica de nevo con melanoma .....	150

<i>VI. Discusión</i> .....	153
<i>VII. Conclusiones</i> .....	169
<i>VIII. Bibliografía</i> .....	173
<i>IX. Anexos</i> .....	199
IX.1. Anexo I: Características de la población estudiada.....	201
IX.2. Anexo II: Documento de consentimiento informado para la donación voluntaria de muestras biológicas para investigación .....	206
IX.3. Anexo IV: Documento de consentimiento informado por escrito de todos los pacientes que participaron en el estudio para los análisis genéticos de utilidad clínica .....	210
IX.4. Anexo IV: Variables incluidas en la base de datos.....	212
IX.5. Anexo V: Metodología empleada en la realización de los análisis genéticos ....	220
IX.5.1. Extracción de ADN .....	220
IX.5.2. Detección de mutaciones en <i>BRAF</i> .....	221
IX.5.3. Detección de mutaciones en <i>NRAS</i> .....	221
IX.5.4. Detección de mutaciones en <i>KIT</i> .....	221
IX.5.5. Detección de mutaciones en <i>TERT</i> .....	221
IX.5.6. Amplificación por PCR .....	223
IX.5.7. Secuenciación de los productos de la PCR.....	223
IX.5.8. Análisis de secuencias obtenidas.....	224
<i>X. Abreviaturas y acrónimos</i> .....	225
<i>XI. Índice de tablas y figuras</i> .....	229
XI.1. Índice de tablas .....	231
XI.2. Índice de figuras .....	235



## *I. Introducción*

*Melanoma asociado a nevo melanocítico: Análisis de factores clínicos, epidemiológicos, histopatológicos y de biología molecular*



## I.1. Justificación y antecedentes

El melanoma es hoy en día uno de los tipos de cáncer más importantes en la raza caucásica, por su constante aumento de incidencia (y discreto de mortalidad) en las últimas décadas, así como por la aparición de terapias anti-diana que han supuesto cambios sin precedentes en el pronóstico de la enfermedad metastásica.

El melanoma histológicamente asociado a nevo, melanoma sobre nevo o **melanoma asociado a nevo (MAN)** puede asentar sobre prácticamente cualquier proliferación melanocítica, pero, en su mayoría, lo hace sobre nevos melanocíticos displásicos o comunes (o, en menor medida, sobre nevos congénitos). Entre 5-85% de los melanomas cutáneos en la población caucásica están asociados clínica o histológicamente con un nevo melanocítico preexistente, con cifras generalmente menores cuando se tienen en cuenta los restos histológicos, y mayores si lo que se consideran son aquellos casos en los que el paciente recuerda una lesión clínicamente evidente.

Se ha constatado que los MAN difieren de los **melanomas *de novo* (MDN)**. Sin embargo, hasta la fecha, no ha habido estudios previos que comparen MAN comunes con MAN displásicos. Asimismo, tampoco ha habido publicaciones que evalúen específicamente la posibilidad de que la presencia factores pronósticos generalmente más benignos de los MAN pueda ser en realidad motivada por una infraestimación de su prevalencia. Actualmente continúa siendo motivo de controversia la proporción real de melanomas asociados a nevo (entre otras cosas, porque puede hacerse en base a su asociación clínica o histológica) y si el diagnóstico de estas entidades tiene implicaciones efectivas en la supervivencia.

En el año 2007, Eduardo Nagore presentó su tesis doctoral titulada *Epidemiología y factores pronósticos del melanoma cutáneo en la Comunidad Valenciana*. Las publicaciones generadas contribuyeron a la consolidación de las investigaciones en melanoma cutáneo del Servicio de Dermatología del Instituto Valenciano de Oncología. A partir de ese momento, E. Nagore ha coordinado y realizado múltiples proyectos de investigación basados en

diferentes aspectos del melanoma cutáneo, como el presente trabajo sobre melanoma asociado a nevo melanocítico, que he podido desarrollar bajo su dirección. Con esta tesis doctoral pretendemos dar respuesta a parte de las incógnitas que existen sobre el melanoma asociado a nevo. A nivel personal, considero este trabajo y los que se han derivado de él como un privilegio presente y una oportunidad futura de colaboración en investigación.

A lo largo de las próximas páginas que componen la introducción se abordarán diferentes temas relacionados con el melanoma asociado a nevo melanocítico.

## I.2. Clasificación del melanoma cutáneo

Desde las primeras descripciones del melanoma como enfermedad a principios del siglo XIX, tuvieron que transcurrir más de cien años hasta que Clark, junto con McGovern, propusieran la clasificación tradicional, la cual divide de forma básica el melanoma cutáneo en los subtipos de extensión superficial (MES), nodular (MN), lentigo maligno (LM/LMM) y lentiginoso acral (MLA) (figuras 1 a 4) [1, 2].

Aunque continúa siendo útil, y existe una concordancia entre los cambios clínicos e histológicos propuestos en el modelo de clasificación de Clark con los cambios genéticos subyacentes [3], esta clasificación podría considerarse excesivamente “estática” para un cáncer que, por su naturaleza, no lo es.

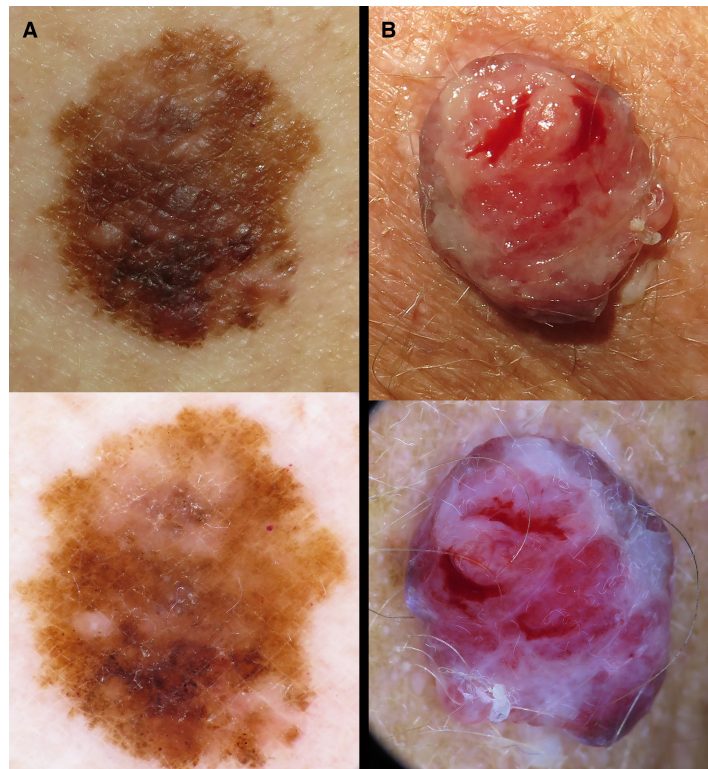


Figura 1. Ejemplos de la práctica clínica habitual. Imágenes clínica (superior) y dermatoscópica (inferior). A: Melanoma (*de novo*) de extensión superficial. B: Melanoma (*de novo*) nodular.



Figura 2. Ejemplos de la práctica clínica habitual. A y B: Melanomas (*de novo*) tipo lentigo maligno (LM/LMM). Imágenes clínica (superior) y dermatoscópica (inferior) de cada caso. C (panel de 4 imágenes): casos de melanoma lentiginoso acral.

Por ello –con la finalidad última de mejorar la prevención primaria, diagnóstico, estadificación y tratamiento del melanoma–, cada vez más grupos de investigación a nivel mundial (de forma destacada, grupos colaborativos como *genoMEL -Melanoma Genetics Consortium-* y la *Cancer Genome Atlas Network*) han contribuido a ampliar nuestra perspectiva y generar modelos de clasificación más dinámicos [4-6].

Este tipo de modelos, aunando variables clínicas, epidemiológicas, histopatológicas y de biología molecular contribuyen a caracterizar de forma más adecuada los diferentes subgrupos de melanoma [7-13]. Un modelo clasificatorio idóneo debería considerar los anteriores factores, además de otros tales como el origen de los melanocitos (pues se ha observado que diferencias en su desarrollo embrionario, incluyendo el ambiente en el que se encuentran durante su migración y diferenciación, podría modificar las propiedades y capacidad de metástasis de estas células) [14].

Hace casi dos décadas, Whiteman y colaboradores [15], propusieron que existirían al menos dos vías para el desarrollo de un melanoma cutáneo:

- Una vía se encontraría marcada por la inestabilidad de las células pigmentarias (esto es, una facilidad innata del sujeto para la proliferación melanocítica). Se caracteriza por la afectación de sujetos jóvenes, con múltiples nevos melanocíticos, que desarrollan un melanoma generalmente del subtipo de extensión superficial en una zona expuesta al sol de manera intermitente.
- La otra se caracterizaría por la afectación de sujetos de mayor edad, con marcado daño actínico, que desarrollan un melanoma en un área de exposición solar crónica. Esta vía, además, asociaría mutaciones del gen *p53* en el tumor.

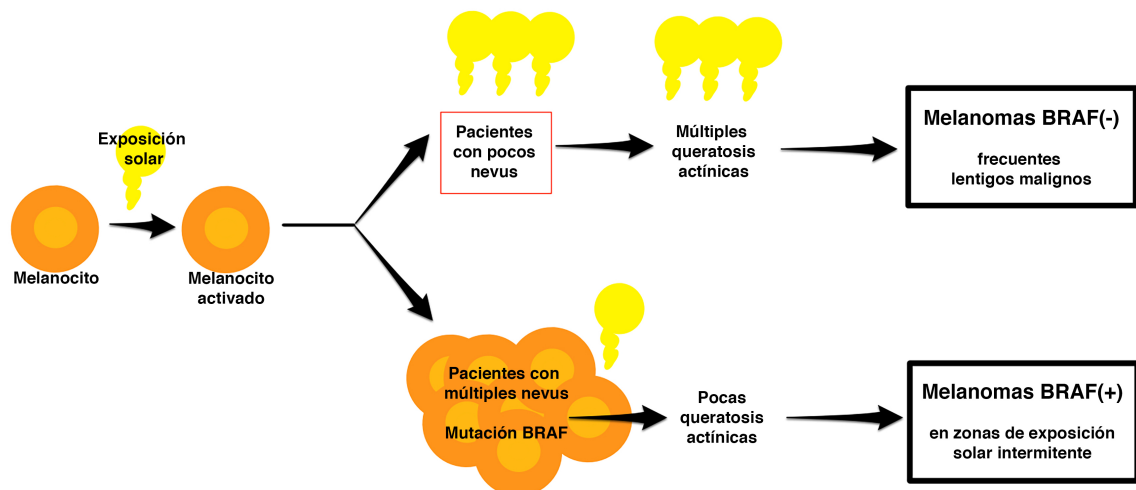


Figura 3. Subtipos de melanoma en línea con la hipótesis de Whiteman y colaboradores

Atendiendo a las lesiones precursoras desde un punto de vista histológico, en la actualidad se considera que la mayoría de melanomas aparecen *de novo* (MDN), pero hay un porcentaje significativo -aunque variable- de melanomas que aparece histológicamente asociado a un nevo melanocítico (MAN). Aunque el número de trabajos que analizan los pacientes con MAN es creciente, quedan aún múltiples cuestiones por resolver.

### I.3. Nevos melanocíticos adquiridos: Clasificación

Los nevos melanocíticos adquiridos fueron clasificados por Ackerman y Magaña-García [16] en:

- A. Nevos de Miescher: cupuliformes, con melanocitos dispuestos en forma de cuña.
- B. Nevos de Unna: de morfología polipode, con dermis papilar engrosada.
- C. Nevos de Spitz: de silueta general benigna, compuesta por células fusiformes o epitelioides de núcleo grande y citoplasma abundante.
- D. Nevos de Clark: también llamados “displásicos” (calificativo denostado por Ackerman [17]).

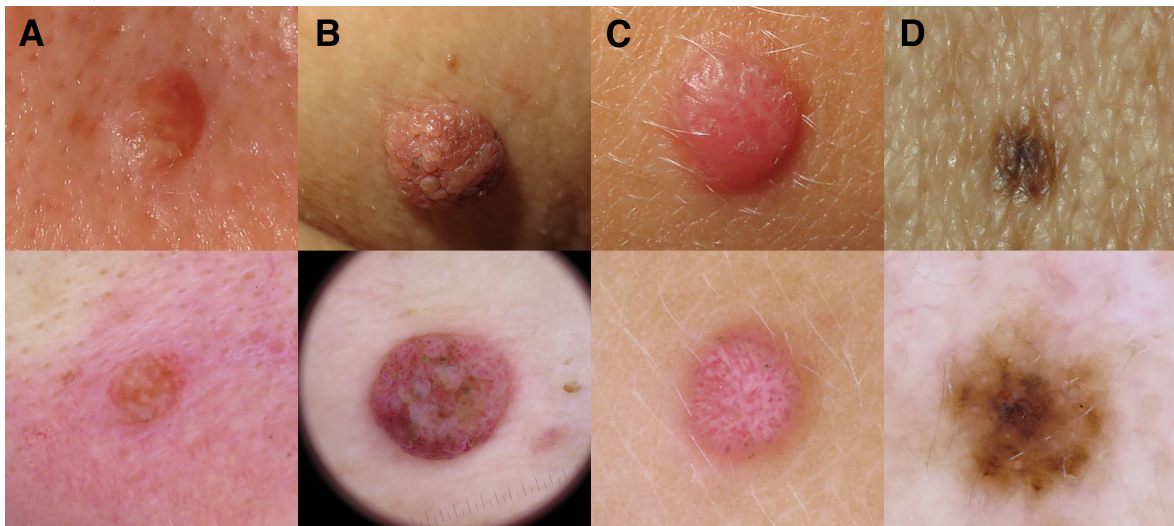


Figura 4. Ejemplos de nevos melanocíticos en la práctica clínica habitual. Imágenes clínica (superior) y dermatoscópica (inferior) de cada caso, con diagnóstico de: (A) Nevo de Miescher en ala nasal. (B) Nevo de Unna en el hombro. (C) Nevo de Spitz en extremidad inferior (niño de 4 años de edad). (D) Nevo de Clark en el tronco (con histología de nevo con displasia moderada).

Aunque esta clasificación ha sido aceptada por la mayoría de la comunidad dermatológica, y a pesar de las recomendaciones del grupo de los *National Institutes of Health* (NIH) de llamar a los nevo de Clark “nevos con desorden arquitectural”, una proporción elevada de dermatólogos y dermatopatólogos continúa dividiendo los nevos adquiridos en “comunes” y “displásicos” [18], con subdivisiones realizadas en base a la localización de la proliferación melanocítica (juntural, compuesto o intradérmico) [19].

### I.3.1. Nevos melanocíticos comunes

Los nevos adquiridos comunes incluyen fundamentalmente los siguientes: lentigo simple, nevo juntural, nevo compuesto y nevo intradérmico. Con respecto a su génesis, Unna propuso la teoría del *Abtropfung*, palabra que significa “goteo” (y va referida a los melanocitos, que “caerían” de la epidermis a la dermis durante el desarrollo de los tumores melanocíticos). Según dicha teoría, podrían considerarse estadios de la evolución natural de estas neoplasias melanocíticas [20] (figura 5):

- El lentigo simple sería el primer estadio evolutivo de los nevos.
- En pasos sucesivos, los melanocitos comenzarían a agregarse y agruparse en nidos redondos a lo largo de la unión dermoepidérmica:
  - o Cuando se unen nidos aislados, la lesión pasaría a llamarse nevo juntural lentiginoso.
  - o Cuando los nidos son más numerosos, se convertiría en un nevo juntural.
  - o Conforme los nidos de melanocitos comienzan a “gotear” o “caer” en la dermis (si bien este es un proceso realmente más complejo, que involucraría la pérdida de uniones con queratinocitos y la aparición de uniones con el tejido conectivo circundante), se formaría un nevo compuesto.
  - o El último estadio comprendería la llegada de los melanocitos a la dermis, con la consiguiente formación como nevo intradérmico y la desaparición del componente juntural [21].

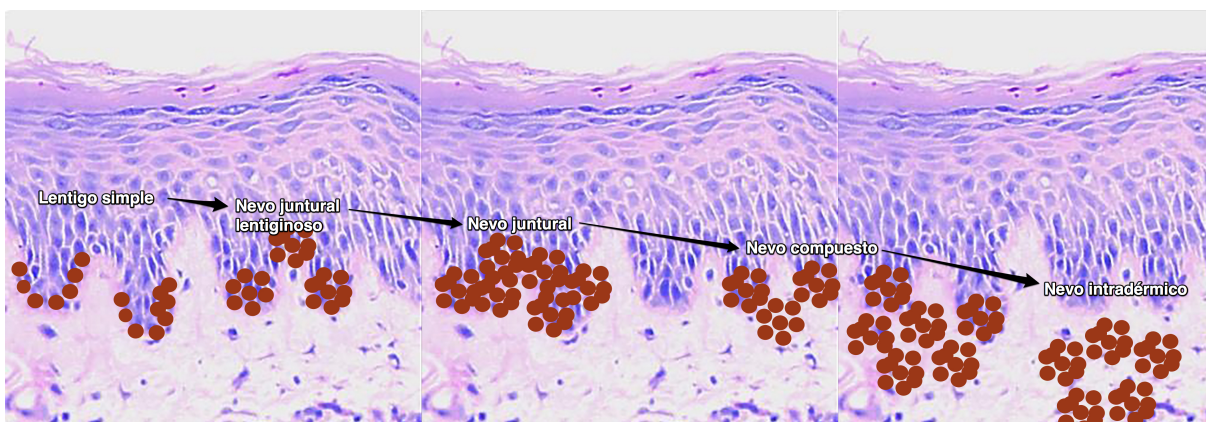


Figura 5. Representación esquemática del modelo evolutivo de los nevos adquiridos siguiendo la teoría del *Abtropfung*

A pesar del valor académico que aporta el modelo evolutivo del *Abtropfung* para entender las diferentes siluetas histopatológicas que definen los subtipos de nevos comunes, su validez ha sido ampliamente discutida. El proceso madurativo postulado por Unna a finales del siglo XIX puede corresponderse con algunas lesiones, pero no con todas. Los lentigos simples no parecen relacionadas con –ni preceder a– otras formas de nevo, al ser más frecuentes en adultos que en niños (sin embargo, sí que podrían ser una de las formas de inicio de nevo como consecuencia de la radiación solar acumulada). Los nevos junturales y compuestos con numerosos nidos son frecuentes en niños y adolescentes, más que los lentigos simples y nevos lentiginosos (predichos como más frecuentes por la teoría). Una proporción no desdeñable de nevos intradérmicos lo serían de inicio sin fase juntural previa, con origen en células precursoras presentes en determinados focos (como la zona de la protuberancia –o *bulge*– de los folículos pilosos [22]) o, más probablemente, en melanoblastos que ascenderían acompañando a haces neurovasculares [21, 23]. Finalmente, la teoría del *Abtropfung* no da información adecuada sobre la verdadera naturaleza de los nevos, su relación con características clínicas y dermatoscópicas, y su riesgo de melanoma.

En este sentido, se generaron otras dos teorías posteriores para explicar el desarrollo de nevos adquiridos. La segunda fue la de Masson, que sugería que los componentes juntural y dérmico papilar provendrían de melanocíticos epidérmicos, mientras que el componente dérmico reticular lo haría de células de Schwann. [24] La tercera y más reciente fue la de Cramer, del *Hochsteigerung* (“migración hacia arriba” de los melanocitos en la formación y evolución de los nevos) [25], con evidencias histopatológica (se han observado focos con bajas concentraciones de melanocitos dispersos en el tejido conectivo de la piel normal del adulto) [26], dermatoscópica y de microscopía confocal [27] que permiten apoyarla.

En cualquier caso, la clasificación de Ackerman y Magaña-García aportó como valor la simplicidad de definir las siluetas histopatológicas generales en plana, cupuliforme y pediculada.

Considerándola, y completándola con una revisión más reciente por otros autores, podría considerarse como óptima una clasificación híbrida de los nevos comunes adquiridos en las siguientes categorías:

- **Lentigos simples.**
- **Nevos planos, superficiales o de extensión superficial:** correspondientes con un patrón de crecimiento horizontal o de extensión superficial (que no deberían recibir el epónimo de Clark asignado por Ackerman para evitar la confusión con los nevos displásicos).
- **Nevos de Miescher** (con patrón de crecimiento endofítico)
- **Nevos de Unna** (con patrón de crecimiento exofítico).

Histopatológicamente, mientras los del primer tipo serán siempre junturales y lentiginosos, los nevos de los otros tres tipos pueden ser junturales, compuestos o intradérmicos [16, 19, 21].

Evidentemente, estas categorías en la clasificación no son rígidas, de tal manera que pueden existir nevos adquiridos comunes con fenotipos mixtos, con algunas características de nevo congénito, y con múltiples fenómenos asociados (osificación metaplásica -en el llamado osteonevo de Nanta-, aparición de mucina o amiloide, neurotización, etc.) [28].

### I.3.2. Nevos melanocíticos clínicamente atípicos frente a histológicamente displásicos

La contraposición de los conceptos de nevo “común” y nevo “displásico” surgió a partir de la introducción del concepto de “nevo displásico” por parte del grupo de Clark, con la descripción de una cohorte de pacientes con nevos clínicamente atípicos y antecedentes de melanoma cutáneo (“síndrome del nevo B-K”). Posteriormente, otros dos grupos adoptaron este concepto en el contexto de síndromes familiares: “síndrome FAMMM” (“*familial atypical multiple mole melanoma syndrome*” o síndrome familiar con múltiples nevos atípicos y melanoma) y “síndrome del nevo displásico” [29-31].

### *I.3.2.i) Síndrome de nevo displásico*

Con diferentes denominaciones en el pasado (“síndrome del nevo B-K”, “síndrome FAMMM” o “síndrome del nevo displásico”) y con una base genética progresivamente más dilucidada (se han observado mutaciones en el gen *CDKN2A* en el 20-40% de estas familias [32], sin que parezca que los genes asociados a pigmentación como el *MC1R* se relacionen con este síndrome [33]), actualmente la mayoría de la comunidad dermatológica emplea la de “síndrome de nevo displásico” o, también, “síndrome del nevo atípico” en base a uno de los conjuntos de criterios sistematizados a continuación.

#### **I.3.2.i.a) Criterios de consenso de los National Institutes of Health (NIH)**

Son los únicos que incluyen características histológicas en su definición [34]. Un paciente habría de cumplir los siguientes tres criterios para alcanzar el diagnóstico:

- Aparición de melanoma en al menos un familiar de primer o segundo grado.
- Número elevado de nevos (>50), algunos de los cuales son clínicamente atípicos.
- Nevos con ciertos rasgos histológicos distintivos.

#### **I.3.2.i.b) Criterios de Bergman y colaboradores**

Definen dos tipos de síndromes de nevo displásico [35]:

- a) Esporádico, cuyo diagnóstico se alcanzaría en pacientes con:
  - Diagnóstico de melanoma y al menos un nevo con un grado elevado de atipia clínica.
- b) Familiar, que englobaría aquellos pacientes con:
  - dos familiares cercanos con melanoma (con o sin nevos clínicamente atípicos), o
  - al menos un familiar con nevos clínicamente atípicos.

Como se apunta más adelante (en el epígrafe I.3.2.iii), la publicación de este grupo holandés considera como nevo clínicamente atípico aquel que cumple 3 de los siguiente 5 criterios:  $\geq 5$  mm de diámetro, bordes poco claros, morfología asimétrica, pigmentación irregular y eritema.

### I.3.2.i.c) Criterios de Newton y colaboradores

En su primera publicación daban el diagnóstico de síndrome de nevo displásico si el paciente cumplía al menos 3 de los siguientes criterios [36]:

- Múltiples nevos (>100 si 20-50 años o >50 en los demás casos).
- >1 nevo clínicamente atípico.
- >1 nevo en las nalgas o en el dorso de los pies.
- Presencia de nevos en la cara anterior del cuero cabelludo.
- Presencia de lesiones pigmentadas en el iris.

Estos criterios fueron actualizados -con modificación del apellido de la primera autora anglosajona por el de [Newton-]Bishop- en una revisión publicada en el año 2000, que otorgaba el diagnóstico de síndrome de nevo displásico si se cumplen al menos 3 criterios entre los siguientes [37]:

- >100 nevos de >2 mm de diámetro (>50 si <20 o >50 años de edad).
- >2 nevos clínicamente atípicos.
- >2 nevos en el dorso de los pies.
- >1 nevo en las nalgas.

### I.3.2.i.d) Clasificaciones de Rigel y de Kraemer para los pacientes con síndrome de nevo displásico

Cabe mencionar que las definiciones iniciales del síndrome de nevo displásico fueron acompañadas de clasificaciones del riesgo de desarrollo de un melanoma, que algunos grupos continúan empleando en el manejo de los pacientes con melanoma. Destacan entre ellas:

#### *I.3.2.i.d.1 Clasificación de Kraemer*

Publicada en 1983 [38], clasifica a los pacientes en 5 grupos:

- Tipo A: Síndrome de nevo atípico esporádico.
- Tipo B: Síndrome de nevo atípico
- Tipo C: Síndrome de nevo displásico esporádico con historia personal de melanoma.

- Tipo D1: Síndrome de nevo displásico familiar, con un solo familiar con historia de melanoma (puede ser el propio paciente).
- Tipo D2: Síndrome de nevo displásico familiar, con al menos 2 familiares con melanoma (pudiendo incluir al propio paciente).

Tabla 1. Clasificación de Kraemer para el síndrome del nevo displásico

Tipo	Nevo displásico* paciente	Melanoma cutáneo* paciente	Nevo displásico* familia	Melanoma cutáneo* familia
A	+	-	-	-
B	+	-	+	-
C	+	+	+	-
D1	+	+	+	-
	+	+	-	+
	+	+	+	+
D2	+	+/-	+/-	>1 familiar

\*Nevo displásico: Presencia de nevos atípicos en el paciente o en la familia.  
 \*Melanoma: Diagnóstico de melanoma en el paciente o en la familia.  
 (+): Uno o más familiares con melanoma.  
 Familiares: abuelos, padres, tíos, hijos (i.e., familiares de primer grado).

Algunos autores postulan que esta clasificación pone de manifiesto los diferentes mecanismos por los que se puede desarrollar un melanoma.

### *1.3.2.i.d.2 Clasificación de Rigel*

Vio la luz cinco años más tarde que la de Kraemer [39]. Cuantifica la probabilidad de melanoma a los 25 años (esto es, el riesgo acumulado en los 25 años siguientes) en base a una puntuación que se asigna en función de la historia de melanoma personal (1 punto) y familiar (2 puntos por cada miembro de la familia con un melanoma).

Esta clasificación se encuentra reflejada en la tabla 2.

Tabla 2. Clasificación de Rigel para el síndrome del nevo atípico

Grupo	Puntuación	Probabilidad de melanoma a los 25 años <i>(riesgo relativo -RR- cuantificado en revisión de Slade y colaboradores [40])</i>
0	0	6% (RR: 2-92)
I	1	10% (RR: 8-127)
II	2	15% (RR: 33-444)
III	≥3	50% (RR: 85-1269)

### *I.3.2.ii) Atipia clínica versus displasia histológica*

La descripción de Clark asumía la equivalencia de displasia histológica con la de atipia clínica, y así lo apoyaron algunas publicaciones posteriores [41]. Un estudio relacionó la presencia de más rasgos clínicos de atipia con mayor displasia histológica [42]. No obstante, la aparición de rasgos “displásicos” puede verse en nevos clínicamente “comunes”, tal y como quedó reflejado en un trabajo que demostró la presencia de un criterio de nevo displásico en el 88%, dos criterios en el 69% y tres en el 29% de los casos de una muestra de 58 nevos melanocíticos clínicamente “típicos” [43]. Complementariamente, la aparición de rasgos histológicos “comunes” puede observarse en nevo clínicamente “atípicos” [44].

Dada la pobre concordancia entre atipia clínica y displasia histológica (subrayada en algunos estudios [45, 46]), es indispensable emplear “nevo atípico” como concepto clínico, y “nevo displásico” como concepto histológico, sin hacerlo de forma intercambiable.

### *I.3.2.iii) Definición de nevo clínicamente atípico*

En 1992, la IARC (*International Agency for Research on Cancer*) publicó una monografía en la que detallaba un protocolo para estandarizar la metodología que debía emplearse en los estudios epidemiológicos que estudiaran los nevos melanocíticos [47].

En ella se definía como nevo clínicamente atípico aquel que cumpliera los siguientes criterios:

- Componente maculoso.
- Tres o más de las siguientes características:
  - o Contorno mal definido.
  - o  $\geq 5$  mm de diámetro.
  - o Color variado.
  - o Contorno irregular.
  - o Eritema.

Si bien esta definición continúa siendo aceptada hoy en día [48], ha habido algunas definiciones que han aportado discretas modificaciones que facilitan su uso en la práctica clínica habitual. Una de ellas, que constituye la definición probablemente más extendida en la actualidad, es la de Tucker *et al*, que considera como nevos clínicamente atípicos aquellos de  $\geq 5$  mm de diámetro, planos (total o parcialmente), y con al menos dos de las siguientes tres características: pigmentación variable, bordes asimétricos e irregulares, y bordes poco definidos [49]. Otra que cabe mencionar es la del grupo de Bergman y colaboradores (anteriormente mencionada), que los define en base al cumplimiento de tres de los siguientes cinco criterios:  $\geq 5$  mm de diámetro, bordes poco claros, morfología asimétrica, pigmentación irregular y eritema [35].

### *I.3.2.iv) Definición de nevo histológicamente “displásico”*

Puede achacarse una cierta inconsistencia al término “displasia” en Anatomía Patológica [50], pero –dejando a un lado la idoneidad del calificativo– la generalización del término “nevo displásico” es un hecho. Esta entidad ha recibido diferentes definiciones, que quedan sistematizadas en la tabla 3.

Tabla 3. Criterios histológicos para la definición de un "nevo displásico"

<b>Clark <i>et al</i></b> [44]	Arquitectura	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Uniones-puentes entre crestas de nidos melanocíticos</li> <li>- Nidos en los laterales de las crestas</li> <li>- Células sueltas entre los nidos, con predominio de nidos</li> <li>- Elongación lentiginosa de las crestas</li> <li>- Fusión de crestas</li> <li>- Extensión pagetoide escasa o ausente</li> </ul>
	Respuesta del huésped	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Infiltrado linfocitario parcheado</li> <li>- Fibroplasia eosinofílica</li> <li>- Fibroplasia lamelar</li> <li>- Vasos prominentes</li> </ul>
	Citología	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Atipia leve a moderada variable</li> <li>- Ninguna (o muy escasas) mitosis</li> <li>- Ocasionales núcleos prominentes ("macronúcleos")</li> <li>- Células névicas epitelioides dispersas</li> <li>- Células con melanina fina granular dispersas</li> </ul>
<b>OMS [51]</b> (Organización Mundial de la Salud)  <i>(diagnóstico en base al cumplimiento de los criterios mayores y <math>\geq 2</math> menores)</i>	Criterios mayores	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Proliferación basal de melanocitos atípicos, extendiéndose al menos en 3 crestas epidérmicas más allá del componente dérmico</li> <li>- Proliferación celular organizada en un patrón lentiginoso o epiteliode</li> </ul>
	Criterios menores	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Fibrosis eosinofílica lamelar o concéntrica</li> <li>- Neovascularización</li> <li>- Respuesta inflamatoria</li> <li>- Fusión de crestas epidérmicas</li> </ul>
<b>EORTC [52]</b>  <i>(European Organisation for Research and Treatment of Cancer Cooperative Group)</i>	Nevo común	<2 características de nevo displásico de las abajo descritas
	Nevo displásico	$\geq 3$ de las siguientes: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Proliferación juntural marcada</li> <li>- Nidos névicos irregulares</li> <li>- Núcleos grandes</li> <li>- Infiltrado linfocitocitario</li> </ul>
	Melanoma <i>in situ</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Crecimiento pagetoide</li> <li>- Proliferación juntural continua</li> </ul>

Gradación de la displasia según la Universidad de Duke [53]	Desorden arquitectural <i>(leve: 0-1 criterios; moderada: 2-3; grave: 4-6)</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Componente juntural asentado en ambos extremos</li> <li>- Simetría global</li> <li>- Nidos cohesivos en &gt;5%</li> <li>- Extensión suprabasal (prominente o en un extremo)</li> <li>- Confluencia de la proliferación en &gt;50%</li> <li>- Proliferación unicelular ausente o focal</li> </ul>
	Atipia citológica <i>(leve: 0-1 criterios; moderada: 2; grave: 3-4)</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Núcleos redondos u ovalados y eucromáticos</li> <li>- Núcleos de mayor tamaño que los de los queratinocitos basales</li> <li>- Nucleolos prominentes</li> <li>- Diámetro de las células de al menos el doble que el de los queratinocitos basales</li> </ul>

### *I.3.2.v) Concordancia diagnóstica en la clasificación de los nevos displásicos*

Los primeros tres conjuntos de criterios reflejados en la tabla 3 son empleados habitualmente por dermatopatólogos. En el Instituto Valenciano de Oncología se emplean los criterios de la EORTC [52]. Aunque su reproducibilidad (intraobservador) es alta, la concordancia interobservador es variable [54], con un estudio que cifró dicha concordancia en un 77% (coeficiente kappa de 0,55-0,84) entre dermatopatólogos expertos [55]. Esta fue más satisfactoria en la publicación del programa de melanoma de la Organización Mundial de la Salud que demostró una concordancia interobservador global del 92% a la hora de distinguir nevos comunes, nevos displásicos y melanomas de extensión superficial siguiendo sus criterios [51].

La gradación de la displasia que se impulsó desde la Universidad de Duke ha sido la que ha generado mayores controversias. Aunque con una razonable reproducibilidad intraobservador, esta gradación presenta una marcada discordancia interobservador, con concordancias del 16-65% entre patólogos menos expertos (kappa 0,05-0,24) y del 35-58% entre dermatopatólogos expertos (kappa 0,38-0,47) [55], que puede mejorar claramente siguiendo un sistema de clasificación más rígido [56]. Asimismo, su fiabilidad se ha puesto en duda por la presencia de variabilidad incluso dentro de una misma pieza histológica [57], lo cual puede generar problemas de clasificación en determinadas lesiones. Los casos

en los que esta limitación cobra mayor importancia son aquellos nevos con “atipia citológica grave” en el componente juntural, pues eleva la dificultad a la hora de distinguirlos de un melanoma *in situ* o con invasión dérmica superficial. Dicho de otra manera, definir un nevo como una lesión “displasia juntural grave” podría considerarse la expresión de una duda diagnóstica más que la de un comportamiento biológico. Esto último quedó patente en sendas publicaciones incluyendo tanto patólogos en general (en un estudio realizado en Bélgica en el que veinte patólogos revisaron 66 lesiones pigmentadas atípicas, un 17,6% de los patólogos clasificaron como melanomas lesiones que habían sido diagnosticadas de nevos displásicos por dermatopatólogos expertos) [58] como dermatopatólogos con experiencia (en una publicación en la que ocho dermatopatólogos expertos de Reino Unido revisaron 95 lesiones pigmentadas, reclasificaron un 17% de casos en lesiones benignas con atipia –habiéndose sido lesiones previamente diagnosticadas de melanomas–, mientras que un 2% fueron reclasificados de manera inversa). Por todo ello, se ha puesto en duda la idoneidad de continuar realizando gradación de la displasia.

## I.4. Vías divergentes en el desarrollo del melanoma cutáneo

Tal y como se ha introducido anteriormente, en el año 1998, el grupo de investigación de David C. Whiteman sugirió la hipótesis de que existen al menos dos vías divergentes para el desarrollo del melanoma cutáneo (figura 6):

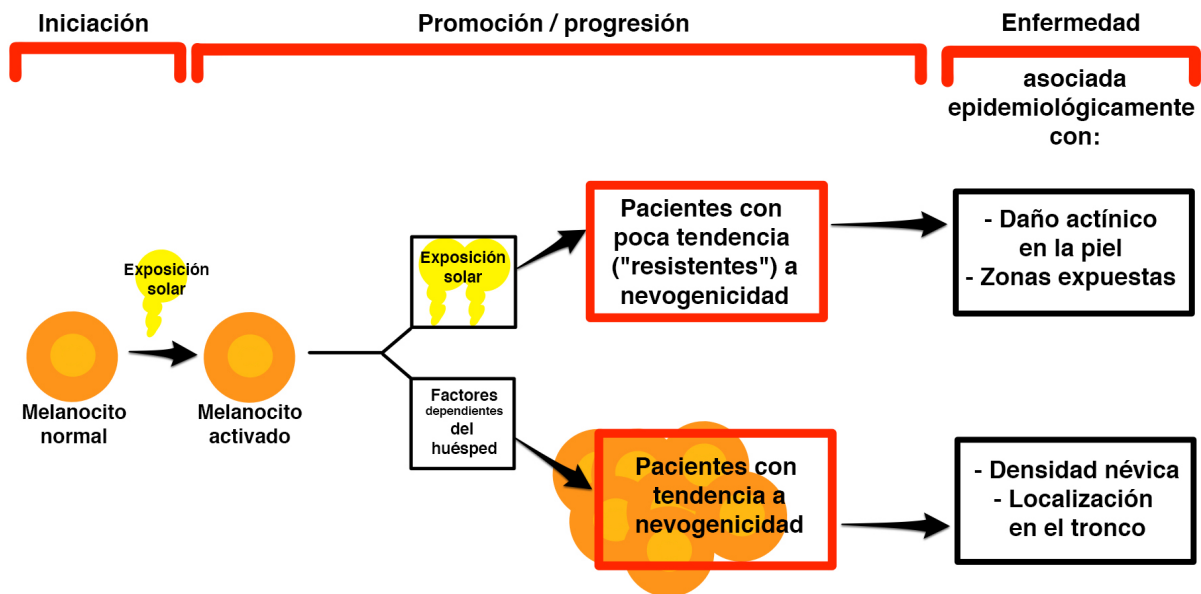


Figura 6. Vías para el desarrollo del melanoma de acuerdo a la exposición y a la predisposición del paciente (figura modificada de Whiteman y colaboradores [59])

- Por un lado, estaría una vía marcada por la fotoexposición crónica (que provocaría una acumulación de mutaciones en las células melanocíticas), característica de pacientes de edad avanzada, con mayor sensibilidad a los efectos nocivos del sol (de fototipo bajo, con marcado daño actínico, y con antecedentes de cáncer cutáneo no-melanoma) que desarrollarían melanomas (característicamente con mutaciones del gen supresor tumoral *p53* o *TP53*) en la cara, el cuello o las extremidades inferiores.
- Por otro lado, estaría la vía "nevogénica" o de inestabilidad de las células pigmentarias, que afectaría a pacientes más jóvenes, con tendencia a la proliferación melanocítica (mayor nevogenicidad y, por tanto, presencia de múltiples nevos) y con capacidad de aparición de efélides, que desarrollarían melanomas (sin

mutaciones en *p53*) en zonas de fotoexposición intermitente como el tronco. En estos casos, la transformación de melanocitos con capacidad proliferativa secundaria a la exposición solar en la infancia –y en menor medida en la edad adulta– sería responsable de su progresión a células tumorales [15, 59].

Con el fin de confirmar esta hipótesis, este grupo de investigación seleccionó una muestra de casos diagnosticados de melanoma en Queensland entre los años 1998 y 1999, que dividió en tres subgrupos: uno correspondiente a los pacientes diagnosticados de melanoma nodular (MN) o de extensión superficial (MES) localizado en el tronco; otro de pacientes MES o un MN en la cabeza o el cuello, y por último uno de pacientes con lentigo maligno (LM) o lentigo maligno melanoma (LMM). El análisis de factores clínico-epidemiológicos en esos tres subgrupos (raza, fototipo, color del cabello y de los ojos, presencia de efélides, antecedentes personales de fotoexposición infantil y laboral, queratosis actínicas, nevos y la distribución anatómica de los dos tipos de lesiones anteriores) permitió observar que los pacientes con menor tendencia a nevogenicidad y mayor presencia de queratosis actínicas tienen con más frecuencia el melanoma en zonas habitualmente fotoexpuestas (cabeza y cuello). Contrariamente, aquellos pacientes con mayor nevogenicidad y menores signos de daño solar crónico tienden a presentar melanomas en áreas de exposición solar intermitente con poblaciones melanocíticas mayores, como la espalda. Así pues, las características propias de cada paciente en cuanto a su capacidad de proliferación de melanocitos condicionan al menos la respuesta a la fotoexposición y por tanto la localización del melanoma [59].

Estudios adicionales más recientes han apoyado la hipótesis de las vías divergentes para el desarrollo de melanoma. Entre ellos, un metaanálisis incluyendo 2406 casos y 3119 controles de sexo femenino mostró que un recuento más elevado de nevos melanocíticos en las extremidades superiores (número que se correlaciona de forma fiable con el total corporal de nevos melanocíticos, y con el riesgo de melanoma [60]) se asocia con un incremento de riesgo de melanoma localizado en tronco y extremidades [61]. Asimismo, otro estudio publicado por el grupo de Whiteman que incluyó 1028 pacientes con melanoma invasivo y 1460 controles, en los cuales se analizaron variantes de los genes *MTAP* (metiladenosina fosforilasa, situado en el locus 9p21, adyacente al de *CDKN2A*),

*PLA2G6* (fosfolipasa A2, grupo VI) e *IRF4* (factor 4 regulador de interferón), previamente asociadas a nevogenicidad [9, 62], permitió confirmar sus asociaciones con nevogenicidad. Además, observó cómo un polimorfismo de nucleótido aislado (SNP) de *MTAP* se relacionaba con los subtipos MES y MN, pero no con el LM/LMM, y cómo otro SNP de *IRF4* se relacionaba con aparición de melanoma en el contexto de mayor nevogenicidad cuando se detectaba en edades más tempranas [63].

## **I.5. Nevogenicidad: factores asociados y su relación con el desarrollo de melanoma**

El desarrollo de un nevo melanocítico constituye un proceso complejo que comprende la interacción de múltiples factores fenotípicos (como el fototipo), genéticos (entre ellos, la presencia de algunos SNP asociados a nevogenicidad) y ambientales (sobre todo el tipo e intensidad de la fotoexposición). Según los hallazgos de estudios realizados sobre gemelos de Reino Unido y Australia, en torno a un 68% de la variación en la densidad névica estaría causada por factores genéticos y un 25% lo sería por factores ambientales [64-66].

### **I.5.1. Número y densidad de nevos melanocíticos. Presencia de nevos clínicamente atípicos. Relación con melanoma**

Se considera que la mayor parte de nevos típicamente involucionan hacia la cuarta década de la vida y son infrecuentes en la tercera edad entre la población caucásica [67]. No obstante, los individuos con mayor susceptibilidad a melanoma tienen con frecuencia múltiples nevos melanocíticos (comunes y/o atípicos) [36]. El número total de nevos melanocíticos comunes y la presencia de nevos clínicamente atípicos suponen marcadores del riesgo de presentar un melanoma cutáneo [68-71], y específicamente MAN [72]. Según las estimaciones de un metaanálisis publicado en 2005, los pacientes con 101-120 nevos melanocíticos presentan un riesgo 6,9 veces mayor de melanoma que aquellos que presentan menos de 15 nevos. Adicionalmente, aquellos con al menos 5 nevos clínicamente atípicos tienen hasta 6 veces más riesgo de melanoma que los que no tienen ninguno [48].

Siguiendo la teoría de Whiteman [15], la presencia de múltiples nevos melanocíticos representaría una característica de los pacientes que desarrollan un melanoma a través de la vía de la inestabilidad de las células pigmentarias, y la distribución de estas lesiones se considera predictora del riesgo de melanoma en el tronco y las extremidades [73]. En la práctica clínica resulta, por tanto, relevante conocer el número total de nevos melanocíticos de los pacientes, que puede llevarse a cabo de forma sistemática con la ayuda de diagramas

como los propuestos por Gallagher y colaboradores, basados en los del grupo de Dublín [74, 75]. También puede hacerse con el recuento de nevos en determinadas áreas anatómicas, y más concretamente en extremidades superiores, que permite la predicción de su número total a nivel corporal [60, 76-78]. Así, nuestro grupo propuso un método sencillo a través del cual el recuento de  $\geq 5$  nevos en el brazo derecho permite predecir la presencia de  $>50$  nevos a nivel corporal (OR 34,4, con intervalo de confianza -IC- del 95% de 13,9-85,0) y de  $\geq 1$  nevo atípico (OR 5,7, IC 95% de 2,4-13,5) [76]. De modo análogo, el grupo de Argenziano y colaboradores propuso la “regla de los veinte nevos en los brazos”, que postula que la presencia de  $\geq 20$  nevos melanocíticos en los brazos de pacientes de  $<50$  años se asocia a un número total corporal de nevos mayor y a un riesgo superior de presentar un melanoma [79]. Además, este recuento podría realizarse tanto en la consulta por el médico como fuera de ella por los propios pacientes: se ha demostrado un alto grado de concordancia entre el recuento de nevos en las extremidades superiores por parte de propios pacientes y el logrado a través de la exploración clínica. En cualquier caso, registrar este número puede facilitar la estratificación del riesgo de cara a la aplicación de determinadas campañas de prevención secundaria [80, 81].

Se podría pensar que el número de nevos se relaciona con su densidad y la superficie corporal del individuo, pero una publicación realizó dos aseveraciones muy relevantes: por una parte, que no existe correlación significativa entre la densidad de nevos en cada individuo y el número total de nevos que presenta, y, por otra, que la densidad névica podría representar un factor más importante que el número de nevos para el desarrollo de melanoma [82]. De acuerdo con estos autores, el número total de nevos melanocíticos no debe ser considerado el único motivo para la realización de revisiones cutáneas o la estimación del riesgo de melanoma [83]. Se ha sugerido que la monitorización de la densidad névica en poblaciones pediátricas podría contribuir a la detección de cambios en el riesgo de melanoma [84], lo cual también se ha estudiado en adultos [85], por lo que se ha propuesto incluir esta medida en modelos de predicción del riesgo de melanoma [86].

En este sentido, cabe profundizar en las variaciones anatómicas de densidad névica y su relación con el melanoma. Una de las primeras publicaciones que relacionó la densidad névica con el melanoma indicaba que la densidad névica es generalmente mayor entre los

pacientes de sexo masculino (contrariamente a lo que apunta un artículo más reciente [87]) y que el tumor tiende a localizarse de forma similar a la distribución névica [88]. Un artículo de 1992 no encontró asociación entre la proporción de MAN y la variación anatómica en densidad névica, hipotetizando que los melanocitos podrían tener comportamientos biológicos diferentes en función de la localización anatómica [89]. Las quemaduras solares en localizaciones anatómicas concretas podrían explicar dichas variaciones en densidad névica de la piel con fotoexposición intermitente, pero no de aquella con fotoexposición crónica [90]. Esto se ha podido también ver en población adolescente, en la cual se ha constatado que las zonas con fotoexposición intermitente se corresponden con las de mayor densidad névica (con excepción de las piernas de pacientes de sexo femenino), además de observar una relación entre la mayor o menor densidad névica en función del área anatómica y la incidencia del melanoma en cuanto a su localización [91]. Adicionalmente, un análisis conjunto de 10 estudios de casos y controles de melanoma en mujeres ha sugerido que una mayor densidad névica se asociaría con la aparición de melanoma en el tronco, pero no en cabeza y cuello [61]. Los melanomas localizados en la cabeza se relacionarían con la presencia de queratosis actínicas y dermatoheliosis (y una menor densidad névica), y solo podría observarse una mayor densidad de nevos melanocíticos en zonas concretas como el área pectoral o los muslos [92]. Un estudio de casos y controles, que no llegó a calcular la densidad relativa de nevos, puso de manifiesto que un recuento de nevos mayor en determinadas localizaciones se podría asociar a la aparición de melanomas [93]. Otras publicaciones han vinculado mayor densidad névica en la zona del melanoma si este se localiza en el tronco [61, 94]. En cualquier caso, con respecto a la densidad névica, su variación anatómica y su relación con la aparición de melanoma, quedan aún múltiples facetas que aclarar [59, 92, 93, 95, 96].

Finalmente, y a pesar de que la presencia de nevos múltiples es relevante a diferentes niveles y representa un factor de riesgo establecido en el desarrollo de melanoma, queda patente que va referido a un subgrupo de pacientes, no a todos. Así, una publicación reciente que analizaba un total de 566 pacientes diagnosticados de melanoma en Estados Unidos encontró que la mayor parte de pacientes que desarrollan melanoma tienen pocos nevos y ningún nevo atípico. También constató que pacientes más jóvenes (menores de 60 años) con más nevos atípicos pero un menor número total de nevos tenderían a tener

melanomas con mayor índice de Breslow (>2,01 mm) [83]. Estos hallazgos concuerdan con un estudio reciente que ha observado un mejor pronóstico del melanoma entre aquellos pacientes con mayor número de nevos melanocíticos [97].

## I.5.2. Características fenotípicas y nevogenicidad

### *I.5.2.i) Fototipo*

Desde hace años, se ha postulado que los niños con fototipos más claros presentan un recuento mayor de nevos melanocíticos que aquellos con fototipos más oscuros [98, 99]. La presencia de efélides a nivel facial, relacionada a su vez con estos fototipos más bajos, también se ha asociado con un mayor número de nevos, e incluso se le ha atribuido mayor importancia como factor independiente que la del propio fenotipo [100].

Sin embargo, existen grupos poblacionales que son excepciones a lo planteado: uno lo constituyen los pacientes pelirrojos, con un menor recuento corporal total de nevos melanocíticos [99, 101]; otro, el de los pacientes con fototipos bajos pero con cabello oscuro, que tendrían un recuento de nevos mayor (en áreas anatómicas de exposición solar intermitente, no así en las zonas de fotoexposición crónica) que aquellos con el mismo fototipo pero cabello claro [102].

### *I.5.2.ii) Sexo*

En términos generales, los hombres presentan un mayor número de nevos melanocíticos y un patrón de distribución diferente al de las mujeres (que, a su vez -independientemente de la edad-, padecen melanomas de mejor pronóstico) [77, 91, 103-105]. Se han atribuido estas diferencias a factores del comportamiento –por ejemplo, hábitos en la vestimenta empleada durante la infancia y la adolescencia entre sexos [106] y actitudes distintas según el sexo tras el diagnóstico de melanoma (las mujeres son más precavidas frente a la exposición solar: aplican de forma más consistente la fotoprotección y evitan viajes a zonas con mayores índices de radiación solar [107])– y biológicos –como la expresión de receptores estrogénicos tipo B en mayor proporción a nivel cutáneo y en las lesiones melanocíticas en mujeres, con efecto antiproliferativo [108] (aunque hay estudios que no

han podido asociar el número de nevos con la multiparidad o la toma de anticonceptivos [104])–.

### I.5.3. Factores ambientales y nevogenicidad

La investigación del papel de los factores ambientales en la nevogénesis ha sido realizada fundamentalmente sobre población pediátrica, al existir probablemente un menor sesgo de memoria y porque se cree que la fotoexposición recibida antes de los 20 años de edad resulta clave en la nevogénesis.

#### *I.5.3.i) Latitud*

Hay varias publicaciones que han abordado la influencia de la latitud y su relación con el desarrollo de nevos melanocíticos y de melanoma. La primera comprendía 1156 niños nacidos en Australia con al menos dos abuelos de origen europeo de entre 6 y 16 años de edad residentes en tres ciudades australianas (Melbourne -38° sur-, Sydney -34° sur- y Townsville -19° sur-). La comparación entre las diferentes poblaciones mostró que el número de nevos aumenta de forma mayor y más precoz conforme disminuye la latitud, con mayor densidad de nevos y aparición más precoz en los habitantes en áreas más cercanas al ecuador (manteniéndose la asociación significativa al ajustar por otras variables como fototipo y ojos claros, sexo y edad) [109]. Otro estudio con niños de 5-6 años de origen caucásico y residentes en la ciudad alemana de Hamburgo (latitud 53° norte) trató de estudiar las consecuencias de las estancias vacacionales en áreas situadas por debajo de la latitud 48°. Su análisis arrojó resultados similares: la permanencia en latitudes más cercanas al ecuador muestra correlación con un mayor número de nevos [110].

Más recientemente, un grupo sueco realizó un estudio incluyendo 26.938 adultos con melanoma y 1360 niños de 7 años con un total de 14.087 nevos de las latitudes del norte (62-69° norte) y sur (55-58° norte) del país escandinavo. Constataron una incidencia de melanoma en adultos de más del doble en el sur (41 casos por 100.000 habitantes) que en el norte (19,8 casos por 100.000 habitantes), y una densidad névica –nevos/m<sup>2</sup> de superficie corporal, calculada en base a la fórmula simplificada de superficie corporal de Mosteller [111] y mediante cuadros de estimación de áreas quemadas modificados para población

pediátrica [112]– significativamente superior en la población pediátrica del sur (niñas: 11,9 nevus/m<sup>2</sup> de media; niños: 13,3) respecto a la del norte (niñas: 7,0; niños: 7,3). Aunque no alcanzó a explicar las diferencias significativas encontradas en la densidad névica de la población pediátrica, este artículo confirmó la influencia de la latitud y la homogeneidad de su efecto (esto es, no hubo diferencias significativas al ajustar los pacientes de ambas áreas geográficas por sexo y localización de los nevus y melanomas, si bien se observó una tendencia estadística que favorecía la localización en el tronco –zona de exposición solar intermitente–) en el desarrollo de nevus en la infancia. Asimismo, subrayó el papel de los nevus múltiples como predictores del riesgo de aparición de melanoma en áreas anatómicas concretas en adultos jóvenes, en línea con la hipótesis de las vías divergentes para el desarrollo del melanoma cutáneo [113].

### *1.5.3.ii) Fotoexposición*

Latitud y exposición solar están íntimamente ligadas, por lo que uno podría inferir que fotoexposición y nevogenidad también lo están. Esto ha sido confirmado en múltiples estudios, que han demostrado que tanto la exposición aguda como la crónica están claramente relacionadas con la aparición de nevus melanocíticos, en diferentes latitudes geográficas [114, 115].

Trabajos previos han confirmado la asociación de la exposición solar tanto con la incidencia [116] como con la prevalencia [117] de nevus melanocíticos adquiridos. Sin embargo, la bibliografía existente apunta a que probablemente sea más importante en la nevogénesis la fotoexposición intermitente (y las quemaduras solares) que la crónica, al haberse observado que esta última puede constituir un factor protector [76, 115, 118]. Una publicación que evaluó específicamente exposición solar y nevogenidad, incluyendo 960 pacientes y 513 controles de origen británico, observó que: existe una mayor nevogenidad en las zonas de exposición solar intermitente frente a las de fotoexposición crónica; una mayor exposición solar estival (expresada en número de horas/año) en latitudes más cercanas al ecuador se asocia a un mayor número de nevus comunes y a la presencia de nevus atípicos, y una mayor exposición solar crónica se relaciona con una menor cantidad de nevus en las zonas expuestas al sol de forma continua [9].

## I.6. Factores genéticos y moleculares en las neoplasias melanocíticas

En los últimos años se han producido importantes avances en el conocimiento de los factores genéticos implicados en la nevogénesis y el desarrollo del melanoma, que han permitido no solo una mejor comprensión de la biología y curso natural de estas lesiones, sino también –y de forma más relevante– la introducción y desarrollo de terapias anti-diana, que han alcanzado respuestas terapéuticas sin precedentes.

### I.6.1. Exposición solar, vías divergentes en el desarrollo del melanoma, y clasificación genética-molecular del melanoma

De acuerdo con el modelo de Whiteman, tal y como se introdujo previamente, los pacientes pertenecientes a la vía de la fotoexposición crónica presentan con frecuencia melanomas con mutaciones en el gen supresor tumoral *TP53*. Contrariamente, los de la vía “nevogénica” o de inestabilidad de células pigmentarias desarrollan melanomas sin mutaciones en dicho gen [15] (además, se ha observado que este subgrupo de pacientes tiene con más frecuencia lesiones con mutaciones en *BRAF* [119]).

Profundizando en ello, el grupo de Curtin y colaboradores [120] afirmó que el perfil mutacional de los melanocitos puede estar determinado por el patrón de fotoexposición, hasta el punto de permitir la clasificación del melanoma en cuatro grupos (en función de la localización del melanoma y el patrón fotoexposición, con mutaciones específicas que los caracterizan). Conforme, pues, a su localización y a la importancia de la radiación ultravioleta en su desarrollo –creciente del primer al cuarto grupo–, se podrían considerar cuatro tipos, con posibilidad de lesiones intermedias o precursoras diferentes:

- Melanoma mucoso: localizado en mucosas, con una exposición solar inexistente.
- Melanoma acral: situado en zonas acras, con una fotoexposición limitada.
- Melanoma de localización en áreas de fotoexposición intermitente: con posibilidad de un tipo especial de melanoma (spitzoide). Se considera que parte de estos

melanomas se podrían desarrollar a partir de lesiones precursoras benignas e intermedias (nevo adquirido – nevo displásico y nevo de Spitz – tumor de Spitz atípico).

- Melanoma de localización en áreas de fotoexposición crónica: con posibilidad de un tipo especial de melanoma (desmoplásico).

(Los dos primeros, al igual que el último, no presentarían lesiones benignas o premalignas previas identificadas.)

### I.6.2. Genética en el desarrollo de las neoplasias melanocíticas

Una neoplasia supone la proliferación descontrolada de células que han acumulado anomalías genéticas de forma secundaria a factores ambientales, mutaciones progresivas que activan oncogenes o inactivan genes supresores tumorales y fallo de los mecanismos de reparación del ADN y de apoptosis. Las neoplasias melanocíticas comprenden anomalías genéticas en forma de eventos oncogénicos primarios (habitualmente activación de protooncogenes en oncogenes) y secundarios (generalmente supresión de la expresión de genes implicados en la pigmentación cutánea y en los procesos de senescencia celular) [13]. Adicionalmente, contribuyen al desarrollo de estas lesiones la interacción constante de los agregados de células melanocíticas con el microambiente epitelial (se ha descrito, por ejemplo, la influencia de fenómenos inflamatorios [121], hipoxia [122] e intercambios paracrinós [123], entre otros, en la progresión del melanoma), además de su modificación debido a otros factores, tales como la exposición solar (incluso por partes del espectro lumínico que hasta hace algo más de dos décadas se consideraban relativamente seguras, como los rayos ultravioleta A de onda larga o UVA1) [124].

Siguiendo la teoría de algunos autores, los nevos melanocíticos provendrían de la expansión clonal de un melanocito -de forma espontánea o secundaria a estímulos externos como la fotoexposición- que daría lugar a la proliferación generalmente uniforme y simétrica histológicamente, con mutaciones genéticas homogéneas en la mayor parte de las células constituyentes [125]. Múltiples estudios apoyan este carácter clonal de los nevocitos [126-128] (aunque otras publicaciones han tenido hallazgos discordantes [129, 130]), y permiten

definir los nevos melanocíticos como clones de melanocitos que han alcanzado la senescencia [128, 131, 132].

Dado que algunas de las mutaciones genéticas que se encuentran en nevos son también consideradas fundamentales en el desarrollo de un melanoma, se ha propuesto que los nevos podrían ser verdaderas lesiones precursoras de melanoma, el cual terminaría por desarrollarse como consecuencia de una acumulación progresiva de mutaciones genéticas adicionales [133]. Bastian y colaboradores, en base al análisis de una serie de 37 casos de melanoma que incluía lesiones melanocíticas adyacentes, observaron un gradiente en la cantidad y tipo de mutaciones encontradas entre las lesiones -microdisecadas- benignas, intermedias pero probablemente benignas, intermedias pero probablemente malignas y malignas [134].

Se podría asumir, pues, que existe un proceso evolutivo por el cual un melanocito sufre una expansión clonal con una ulterior transición a un nevo melanocítico y finalmente a un melanoma. Sin embargo, este modelo melanocito-nevo-melanoma se limitaría a determinados casos de melanoma, puesto que en la práctica habitual los MDN (esto es, melanomas sin lesión precursora o evidente en el análisis histopatológico) son consideradas la norma. De igual modo, este modelo no encaja de forma paradigmática entre los melanomas con subtipo histológico LMM o MLA, y tampoco resulta demostrable en todos los casos en los que clínicamente se podría sospechar un MAN.

### **I.6.3. Polimorfismos de nucleótido aislado (SNP) asociados a nevogenicidad y melanoma**

Los SNP (*single-nucleotide polymorphisms*) se definen como variaciones en una sola base nucleotídica (lo cual explica su definición *sensu stricto* como polimorfismos de nucleótido aislado o único) o bien de un limitado número de estas (se llegan a incluir como SNP también pequeñas inserciones y deleciones) de una secuencia concreta del genoma que se dan en  $\geq 1\%$  de la población general. Se consideran mutaciones puntuales que ponen de manifiesto una localización cromosómica probablemente asociada a un fenotipo, respuesta

o alteración concretos. Son SNP no-sinónimos aquellos que modifican secuencias codificantes, y sinónimos los que no lo hacen, si bien ambos tipos pueden influir en la expresión genética y recibir la denominación de SNP de expresión (SNPe) [135].

Gracias a la realización de estudios genómicos tipo GWAS (*genomic wide association study*) en diferentes poblaciones a lo largo de los últimos años, se han identificado múltiples SNP relacionados con la nevogenicidad y la pigmentación, que pueden a su vez actuar como factores protectores o de riesgo en el desarrollo de melanoma. Con una alta prevalencia, han sido descritas variantes consenso (*wild type*) y variantes no-consenso, tanto en homocigosis como en heterocigosis.

Los *loci* considerados más importantes en el momento actual que contienen SNP relacionados con nevogenicidad incluyen *CDKN2A-MTAP* (metiltioadenosina fosforilasa), *PLA2G6* (fosfolipasa A2) y *TERT*. Entre ellos, destacan –por la magnitud de su efecto–: rs380286 (del gen *TERT/CLPTM1L -cleft lip and palate transmembrane protein 1-like protein-*, situado en la región 5p15.33, que podría llegar a explicar un 58% de la variación en el recuento de nevos,  $p=0,0051$ ), rs2290419 (del gen *TPCN2 -two pore segment channel 2-*, próximo al de *CCND1*, situado en la región 11q13.33, que lo haría en un 57%,  $p=0,0053$ ) y rs2092180 (de gen de la fosfolipasa A2 *PLA2G6*, situado en la región 22q13.1, que llegaría a explicar un 72% de variación en el recuento de nevos,  $p=0,0018$ ) [136-138].

### I.6.4. Mutaciones genéticas en las neoplasias melanocíticas

Aparte de la mutación en *TP53* –gen considerado como el “guardián del genoma”, dado que codifica para una proteína supresora tumoral fundamental en el organismo–, que generaría una resistencia a la apoptosis, en el melanoma se han descrito mutaciones patogénicas consideradas *driver* (mutaciones que confieren una ventaja selectiva para el crecimiento del tumor), que contribuyen a su desarrollo. Las principales vías involucradas en el melanoma incluyen: la vía de vía de señalización de la proteína quinasa activada por mitógenos (*MAPK*) y la vía de fosfatidilinositol-3-kinasa / proteína quinasa B / diana

mecanística de la rapamicina (*PI3K/AKT/mTOR*). Han de destacarse las mutaciones en los genes (que quedan desarrolladas en mayor detalle en los epígrafes siguientes):

- *BRAF* y *NRAS*:

Ambos genes codifican para proteínas activadoras a diferentes niveles de la vía *MAPK*, que regula la transducción de señales desde la superficie melanocítica para la transcripción de factores que median en la proliferación, crecimiento, supervivencia y apoptosis celular [120, 139]. La proporción de mutaciones somáticas activadoras en los genes *BRAF* y *NRAS* en lesiones melanocíticas varía ampliamente entre series.

*BRAF* está mutado con más frecuencia en los pacientes de la vía de inestabilidad de células pigmentarias [119]. Las mutaciones de *BRAF* se han encontrado en más del 80% de los nevos melanocíticos comunes [133, 140-142]. En cuanto a su frecuencia en melanomas, se detectan en cerca del 40-50% de los casos de melanoma primario (más habitualmente de extensión superficial, en áreas de fotoexposición intermitente y en los MAN) [142, 143].

Las mutaciones en *NRAS* son menos frecuentes. Se encuentran hasta en el 56% de los nevos melanocíticos congénitos [142] y de forma mucho menos frecuente (<5%) en nevos adquiridos [142, 144]. No obstante, la dificultades existentes para distinguir entre nevo común adquirido y nevo congénito de pequeño tamaño podría falsear parte de los resultados publicados [145]. Las mutaciones en *NRAS* se observan en un 20-30% de los melanomas (especialmente en melanomas nodulares en zonas de fotoexposición crónica) [143, 146].

Se considera que las mutaciones en *BRAF* y *NRAS* tendrían un papel en la iniciación de la proliferación de los melanocitos constituyentes de las lesiones pigmentadas [131] y en las primeras fases del desarrollo de un melanoma [133], pero no son suficientes para la transformación maligna de un nevo, que requeriría la aparición de mutaciones adicionales [133, 140-142].

- *NF1*:

Gen supresor tumoral codificante de la neurofibromina, que tiene una función reguladora en la vía *MAPK*. La presencia de mutaciones somáticas inactivadoras, que puede verse en diferentes tipos de cánceres, genera la resistencia de *RAS* a ser regulado negativamente, con la activación secundaria de *ERK*. En el melanoma, la mutación en *NF1* se ha involucrado

en el inicio de su desarrollo, pero también en la resistencia a los inhibidores de *RAF* a través del mecanismo descrito [147, 148].

### - *TERT*:

Codificante de la transcriptasa de telomerasa inversa, esencial para evitar el acortamiento de los extremos de los cromosomas tanto en líneas somáticas como germinales. Interviene en fenómenos de senescencia celular y carcinogénesis. La expresión de la telomerasa se encuentra inhibida en la mayor parte de células después del nacimiento, pero no en las células cancerosas, donde la actividad enzimática de la telomerasa aumenta. Se han descrito mutaciones somáticas en el promotor de *TERT*, que tienen habitualmente la firma típica de las causadas por la radiación ultravioleta (generación de dímeros de pirimidina) y que producen un aumento de la expresión de *TERT* y, consiguientemente, de la actividad telomerasa y el alargamiento de los telómeros [149, 150]. Se encuentran en cerca de un 40% de melanomas, más frecuentemente en áreas fotoexpuestas [151]. Implican un peor pronóstico, al tener características más agresivas que condicionan una menor supervivencia tanto libre de enfermedad como específica relacionada con el melanoma [152]. Se han asociado además a una mayor velocidad de crecimiento, sobre todo si coexisten con mutaciones en *BRAF* o *NRAS* [153].

### - *KIT* y *PTEN*:

El oncogén *KIT* codifica para la proteína tirosina-kinasa transmembrana *c-Kit* (que actúa en el crecimiento y la proliferación de los melanoblastos embrionarios [154]), que interviene tanto en la vía *PI3K/AKT* como en la vía *MAPK* [155]. *PI3K* genera fosfatidilinositol-trifosfato (*PIP3*), el cual activa las proteínas *AKT* (que influyen en la regulación del ciclo celular, proliferación, supervivencia y transformación neoplásica) y *mTOR* (que intervienen en la tumorigénesis) [156]. Al abordar la vía *PI3K/AKT/mTOR* hay que mencionar el gen supresor tumoral del homólogo de fosfatasa y tensina (*PTEN*), cuya función fundamental es la de inhibir la activación de *AKT* (degradando *PIP3* a través de su actividad fosfatasa) [157].

Las mutaciones en la vía *PI3K/AKT/mTOR* son heterogéneas, involucran diferentes genes y también pueden coexistir con mutaciones en *BRAF* (17%) y *NRAS* (9%) [158]. Las mutaciones somáticas en *KIT* se detectan globalmente en un 2% de melanomas; parecen

tener relevancia fundamentalmente en melanomas acrales (un 14% de melanomas lentiginosos acrales tienen mutaciones en *KIT*) y mucosos (entre los cuales un 23% tienen el gen *KIT* mutado), así como en LMM [156]. Las mutaciones somáticas de *PTEN* se detectan en hasta un 22% de casos de melanoma [158].

- *CDKN2A*:

Localizado en el brazo corto del cromosoma 9, este gen codifica para dos proteínas supresoras tumorales que tienen un papel fundamental en la proliferación y la senescencia celular. La primera es *p14-ARF*, que controla la proliferación celular mediante la estabilización de *p53*, que a su vez induce la expresión de *p21*, inhibidor de ciclina dependiente de kinasa. La segunda es *p16-INK4A*, que efectúa el mismo papel mediante la inhibición de la asociación de las ciclinas dependientes de kinasas (*CDK4/6*) y la ciclina D1 (*CCND1*) [159-161]. *CDKN2A* es el locus conocido más frecuente en los casos de melanoma familiar. Se han identificado mutaciones en línea germinal en *CDKN2A* que alteran la función de una o dos de las proteínas codificadas. En nuestro medio están presentes en el 15% de los casos de melanoma familiar [162, 163]. Se han descrito diferentes alteraciones somáticas por las cuales su función se ve disminuida o perdida (deleciones homocigotas, mutaciones o silenciamiento epigenético por metilación) en casi un 90% de los melanomas [164]. Su aparición se ha involucrado con la capacidad invasiva del melanoma [133, 148]. Las mutaciones somáticas en *CDKN2A* no están presentes en los nevos melanocíticos comunes y se encuentran en un 10% de los nevos displásicos [164].

Un estudio incluyendo la secuenciación exómica de nevos melanocíticos displásicos y melanoma ha permitido observar que los nevos melanocíticos tienen genomas relativamente estables con menos alteraciones, y que la progresión a melanoma requeriría la aparición de mutaciones en genes supresores tumorales clave [165]. De igual manera, un modelo para lesiones de determinadas localizaciones ha propuesto la existencia de un continuum genético-molecular de las neoplasias melanocíticas a través del cual las lesiones benignas podrían, por la acumulación progresiva de mutaciones en el contexto de factores ambientales (como la exposición solar), evolucionar a lesiones “intermedias”, melanomas *in situ*, melanomas invasores y finalmente melanomas metastásicos [134].

Así pues, existen alteraciones genéticas compartidas entre nevos melanocíticos y melanoma, que se presentan de forma acumulativa desde las lesiones “precursoras” (benignas o de “malignidad intermedia”) hasta las neoplásicas con capacidad metastatizante. En la tabla 4 se resumen las alteraciones genéticas que actualmente son consideradas más importantes en este proceso [148].

Tabla 4. Mutaciones genéticas más frecuentes y su papel en la progresión hacia melanoma

Lesiones en las que pueden verse (fase de la progresión)	Subtipo de melanoma	Vía	Gen	Mutación
<i>Mutaciones involucradas en la iniciación de la tumorigénesis</i>				
Nevos	No-CSD	<i>MAPK</i>	<i>BRAF</i>	<i>V600E</i>
Lesiones intermedias y melanomas <i>in situ</i>	CSD		<i>BRAF</i>	<i>V600K</i> y otras mutaciones no- <i>V600E</i>
Lesiones intermedias y melanomas <i>in situ</i>	CSD		<i>NRAS</i>	<i>Q61R</i> y <i>Q61K</i> (más frecuente), y otras
Melanomas <i>in situ</i>	CSD		<i>NF1</i>	Mutaciones inactivadoras del gen y deleciones
<i>Mutaciones involucradas en la progresión del tumor</i>				
Lesiones intermedias y melanomas <i>in situ</i>	CSD y no-CSD	<i>Telomerasa</i>	<i>TERT</i>	Mutaciones en la región promotora
Melanomas invasores	CSD y no-CSD	<i>Rb</i>	<i>CDKN2A</i>	Deleciones y mutaciones inactivadoras en la porción codificante
Melanomas invasores	CSD y no-CSD	<i>Remodelación de la cromatina</i>	<i>ARID1A</i> , <i>ARID1B</i> y <i>ARID2</i>	Mutaciones inactivadoras y deleciones

Lesiones en las que pueden verse (fase de la progresión)	Subtipo de melanoma	Vía	Gen	Mutación
<i>Mutaciones involucradas en la progresión tardía</i>				
Melanomas invasores de mayor espesor	No-CSD	<i>PI3K</i>	<i>PTEN</i>	Mutaciones inactivadoras y deleciones
Melanomas invasores de mayor espesor	CSD	<i>p53</i>	<i>TP53</i>	Mutaciones inactivadoras del gen

### I.6.5. Mutaciones somáticas fundamentales en las neoplasias melanocíticas

#### *I.6.5.i) Mutaciones somáticas en el protooncogén B-Raf (BRAF)*

Descritas por primera vez en el año 2002 en el melanoma y otros tipos de cáncer, el número de publicaciones investigándolas ha crecido de forma exponencial. Las mutaciones que se han identificado son, fundamentalmente la *V600E* (sustitución de valina por ácido glutámico en el codón 600 del exón 15 del gen), que supone el 92% de todas las mutaciones del gen, seguida a distancia de la *V600K* (sustitución de valina por lisina en el mismo codón) y de otras menos frecuentes como la *V600D*, *V600G* o la *V600R* [166]. El gen mutado genera una activación de *MEK* y *ERK* de la vía de la MAP-kinasa, con aumento de la proliferación celular [167].

Se han generado ciertas incertidumbres acerca de la idoneidad de determinar su presencia de la mutación en el tumor primario o en las metástasis, aunque ha quedado afirmado que lo óptimo sería hacerlo en ambas [168]. También ha sido motivo de controversia la técnica que ha de emplearse para estudiarlas (pirosecuenciación, reacción en cadena de la polimerasa, inmunohistoquímica...) [169]. Dado que existen inhibidores de *BRAF* y *MEK* para el tratamiento del melanoma metastásico, ya nadie duda de la utilidad de su determinación en el melanoma metastásico.

La mutación en *BRAF* puede detectarse en una elevada proporción de lesiones benignas (hasta un 80% de nevos benignos [141]), lo que permite considerarla una mutación iniciadora de tumorigénesis y de progresión a melanoma [170]. El porcentaje mencionado varía entre series, que cifran su presencia en 20-80% de los nevos intradérmicos, compuestos y displásicos; a su vez, se detecta en hasta un 50% de los melanomas. Por otro lado, algunos estudios han relacionado la mutación en *BRAF* con localizaciones anatómicas de fotoexposición intermitente, vinculadas a la vía de la inestabilidad de las células pigmentarias [120, 141, 142, 171]. La mutación *V600E* del gen *BRAF* también se puede ver en nevos congénitos (en mayor proporción en los de pequeño tamaño), en zonas no fotoexpuestas (lo cual queda en parte explicado por que la mutación *V600E* no supone un cambio de citosina por timina -alteración clásicamente vinculada a la exposición solar-, sino un cambio de timina por adenina [129]), y en otros tipos de cáncer (como los de sistema nervioso central o de tiroides [172, 173]).

Por último, de forma reciente se ha observado en un modelo murino el papel potencial que puede tener, en melanocitos con la mutación *V600E* en *BRAF*, la exposición solar y su inducción de mutaciones en *TP53* (gen diana de la radiación ultravioleta) en el desarrollo de melanoma. Según este experimento, el desarrollo de melanoma a partir de melanocitos *BRAF*-mutados se vería favorecida por el daño solar, que induciría mutaciones en *TP53*, gen cooperador con *BRAF*, aceleradoras del desarrollo de melanoma [174].

### *I.6.5.ii) Mutaciones somáticas en el protooncogén N-ras (NRAS)*

El protooncogén *N-ras* fue el primero en ser identificado en el melanoma [175]. Su mutación, que origina un estímulo descontrolado de la proliferación celular con inhibición de la apoptosis, se ubica en el 90% de los casos en el codón 61 del gen (*Q61R* y *Q61K*) [176].

Las mutaciones de *NRAS* se pueden observar en un 15-20% de los melanomas [120], además de en otras lesiones como nevos congénitos (con mayor frecuencia cuanto mayor es su tamaño) [129, 177]. El grupo de Bastian ha postulado que su aparición en lesiones melanocíticas “intermedias” (nevos melanocíticos con ganancia progresiva de mutaciones

somáticas) podría constituir un paso para el desarrollo de melanoma [134]. Una publicación –en la que se analizó mediante PCR la presencia de 46 melanomas sobre nevos frente a 25 nevos control de los mismos pacientes que analizó específicamente las mutaciones en *BRAF* y *NRAS*– no encontró *asociación* estadísticamente significativa entre la presencia de mutaciones en *BRAF* y *NRAS* y un mayor riesgo de transformación en melanoma de los nevos [178]. No obstante, se ha observado que podrían influir otros factores (como el tamaño de las lesiones en el caso de los nevos congénitos) en su capacidad proliferativa y el consecuente riesgo de desarrollo de melanoma [179]. De acuerdo con el modelo evolutivo propuesto por el grupo de Bastian, los nevos entrarían en un equilibrio entre la proliferación y la senescencia celular condicionado por múltiples factores (acortamiento de los telómeros, actuación de las proteínas como *p16* y *p21*, fenómenos inmunológicos como los observados en los halo-nevos de Sutton...) que contribuirían a su mantenimiento en tamaño o bien a su involución en la edad adulta. Así, si un nevo no sufriera los fenómenos de senescencia (por sobrevenir de forma más tardía o por fallo de estos), podría alcanzar un diámetro mayor de 5 mm o convertirse en un nevo clínicamente atípico [125].

Además, la aparición progresiva de mutaciones genéticas en células névicas con mutaciones en los genes *BRAF* y *NRAS*, fundamentalmente, se ha relacionado con la expansión clonal de los melanocitos que origina un MAN [180] (aunque otros trabajos no han logrado confirmar esta relación [166]). En cualquier caso, nos encontramos ante un fenómeno más complejo que involucra otros muchos factores y alteraciones genéticas, aparte de las mutaciones en *BRAF* y *NRAS*, que pueden influir en el número de nevos, el desarrollo de un melanoma y específicamente el de un MAN.

#### *I.6.5.iii) Mutaciones somáticas en el gen supresor tumoral NF-1*

Las mutaciones del gen supresor tumoral codificante de la neurofibromina generalmente dan lugar a su inactivación. Esta mutación puede verse en diferentes tipos de cánceres y, como ha sido discutido previamente, genera la resistencia de *RAS* a ser regulado negativamente, lo cual conduce a la activación secundaria de *ERK*. La mutación somática

en *NF1* se ha implicado en melanoma en el inicio de su desarrollo, pero también en la resistencia a los inhibidores de *RAF* [147, 148].

Esta mutación no es tan frecuente como las dos anteriores, y parte de sus implicaciones están aún por dilucidar. Los melanomas con mutaciones en este gen aparecerían típicamente en zonas fotoexpuestas, en individuos mayores, y sin coexistencia con mutaciones en *BRAF* o *NRAS* [181]. Esta mutación es, además, especialmente frecuente en algunos subtipos de melanoma como los desmoplásicos, entre los que parece ser una mutación *driver* de especial importancia [182, 183]. Algunos hallazgos apuntan a que los melanomas *NF1*-mutados supondrían un peor pronóstico en términos de supervivencia específica de melanoma y global, incluso al ajustar por edad, sexo y tipo de lesión [184].

### *I.6.5.iv) Mutaciones somáticas en el oncogén KIT*

Las mutaciones en el gen codificante de la proteína c-Kit activan la vía *PI3K/AKT/mTOR* [185], y se encuentran tan solo en un 2% de los melanomas cutáneos, siendo más frecuentes en los mucosos (18%) y acrales (20%) [186].

### *I.6.5.v) Alteraciones en el oncogén CCND1*

La presencia de alteraciones en forma de amplificación del gen que codifica la ciclina D1 condicionan una sobreexpresión de dicha proteína, con efecto en la progresión del melanoma [187].

### *I.6.5.vi) Mutaciones en el gen promotor TERT*

El gen promotor de *TERT*, codificante de enzimas telomerasa, se ha identificado como mutado en un 40% de los melanomas. Estas mutaciones tienen la firma típica de las causadas por la radiación ultravioleta (generación de dímeros de timina), lo cual permite entender por qué se ven más frecuentemente en melanomas en áreas fotoexpuestas. La telomerasa humana es una enzima constituida por las subunidades *hTR*, *hTERT* y *hTEP1*. Es esencial para evitar el acortamiento de los extremos de los cromosomas (fenómeno que

sucede en cada replicación del ADN, secundario a la incapacidad de las ADN-polimerasas de replicar el material genético de los telómeros) tanto en líneas somáticas como germinales. Interviene en fenómenos de senescencia celular y carcinogénesis. La expresión de la telomerasa se encuentra inhibida en la mayor parte de células después del nacimiento, pero no en las células cancerosas, donde la actividad enzimática de la telomerasa aumenta [188].

#### I.6.6. Mutaciones germinales en los genes *CDKN2A* y *CDK4*

El gen *CDKN2A*, localizado en el brazo corto del cromosoma 9 (en la región 9p21), fue el primer locus cuya mutación se vinculó con casos de melanoma familiar. *CDKN2A* codifica dos proteínas supresoras tumorales, *p14-ARF* –que controla la proliferación celular mediante la estabilización de p53, que a su vez induce la expresión de p21, un inhibidor de ciclina dependiente de kinasa– y *p16-INK4A* –que efectúa el mismo papel mediante la inhibición de la asociación de las ciclinas dependientes de kinasas *CDK4/6* y *CCND1*–, con un papel fundamental en la proliferación y senescencia celular. La mutación de *CDKN2A* y *CDK4* –este último localizado en el brazo largo del cromosoma 12– suponen la alteración de dos vías: la del *TP53* (en el caso de la proteína *p14* codificada por *CDKN2A*) y la del Rb (en el caso de *p16* del *CDKN2A* y de *CDK4*). Son consideradas eventos oncogénicos secundarios que se han asociado clínicamente con un mayor riesgo de melanoma familiar (hasta tal punto que estas mutaciones se llegan a observar en 20-40% de los familiares de pacientes afectos de melanoma), cáncer de páncreas, melanoma en edades más jóvenes, y desarrollo de melanomas primarios múltiples [159-161].

La penetrancia de las mutaciones en *CDKN2A*, que son habitualmente de tipo autosómico dominante, es generalmente baja. No obstante, varía de forma importante en función del área geográfica y la edad (a los 50 años: de un 13% en Europa, 50% en Estados Unidos y 32% en Australia; a los 80 años: de un 32% en Europa, un 76% en Estados Unidos y un 91% en Australia), además de poderse incrementar, entre otros factores, por la presencia de: variantes del gen del receptor de la melanocortina 1 (*MC1R*), polimorfismos de

nucleótido único (SNP) asociados a nevogenicidad, antecedentes de quemaduras solares, múltiples nevos y nevos displásicos [189, 190].

### I.6.7. Polimorfismos en el gen del receptor de la melanocortina 1 (*MC1R*)

El gen del receptor de la melanocortina 1 (*MC1R*), localizado en el brazo largo del cromosoma 16, es codificante de una proteína que comprende un receptor extracelular de la hormona estimulante de los melanocitos alfa y una proteína transmembrana, que interviene en que se estimule la transcripción y traducción de enzimas tirosinasa (*TRP-1* y *TRP-2*), que a su vez inducen la proliferación de melanocitos y la producción por parte de estos de feomelanina (pigmento de color rojo-amarillo) o de eumelanina (marrón-negro) [191].

Se trata de un gen del que se han descrito cerca de un centenar de variantes, con cambio de aminoácido (variantes no-sinónimas) o sin él (variantes sinónimas). La presencia de estas variantes en la población general es relativamente común, aunque se considera que tiene una expresividad clínica limitada. Entre las variantes no-sinónimas se consideran las variantes RHC, *red hair color* (*p.R160W*, *p.D294H*, *p.R151C*, *p.R142H* y *p.D84E*), que condicionan una mayor alteración de la melanogénesis con mayor producción de feomelanina (pigmento con menor capacidad protectora frente a la radiación ultravioleta y facilitadora de producción radicales libres, que potenciarían el daño por esta radiación y condicionarían de forma consecuente mayor nevogénesis y riesgo de melanoma), clínicamente asociadas al cabello pelirrojo y a la piel más clara (unida a la incapacidad para el bronceado y un mayor número de efélides y lentigos solares). Son estas variantes RHC las que más riesgo comportan para el desarrollo de melanoma (a través de la vía de la pigmentación, y por mecanismos como el aumento de penetrancia de mutaciones en el gen *CDKN2A*) y otros tipos de cáncer cutáneo, además del aumento de nevogénesis, especialmente en presencia de factores ambientales como la fotoexposición en latitudes más bajas. No obstante, las variantes no-RHC (*V60L*, *V92M*, *I155T*, *V156L* y *R163Q*), que también predisponen al melanoma (probablemente a través de una vía diferente a la de la pigmentación), tienen una mayor prevalencia e importancia, sobre todo entre poblaciones de fototipo más oscuro [192, 193].

En la población española, se ha postulado que las variantes del gen *MC1R* podrían tener más importancia en el riesgo de melanoma que otros factores genéticos en comparación con otras poblaciones europeas. Algunos autores han constatado que su presencia predispone a las quemaduras solares y al melanoma en áreas de fotoexposición intermitente independientemente del fototipo [194].

#### I.6.8. Otras alteraciones genéticas. Epigenética en el desarrollo de las neoplasias melanocíticas

Aparte de las variaciones y alteraciones genéticas expuestas, existen otras muchas que están siendo descritas en diferentes vías (supresión tumoral –genes *PTEN*, *CDKN2A*, *APAF1*– y regulación de la apoptosis –genes *Bcl-2*, *MITF*–, entre otras) [195], y conviene considerar también la importancia que los fenómenos epigenéticos pueden tener en el desarrollo del melanoma. En este sentido, la metilación de los genes, el micro-ARN, el ARN no-codificante y otros fenómenos pueden alterar la expresión y la regulación genética, el funcionamiento de vías de señalización y su interrelación, con la consecuente influencia en la patogenia molecular del melanoma [196].

#### I.6.9. Resumen de las alteraciones genéticas y del modelo evolutivo de progresión del melanoma

Tras haber abordado algunas de las múltiples alteraciones genéticas que pueden verse en lesiones melanocíticas, se puede establecer que los fenómenos genéticos, epigenéticos y moleculares que se producen en su desarrollo son sumamente complejos.

Parte de este continuum genético-molecular en el desarrollo de las lesiones melanocíticas podría resumirse en un modelo propuesto recientemente para lesiones de determinadas localizaciones. Este modelo (resumido en la figura 7) postula que las lesiones melanocíticas benignas podrían, a través de la acumulación progresiva de mutaciones [197] en el contexto

de factores ambientales (como la fotoexposición), evolucionar en lesiones “intermedias”, y progresar a melanomas *in situ*, invasores y metastásicos [134].

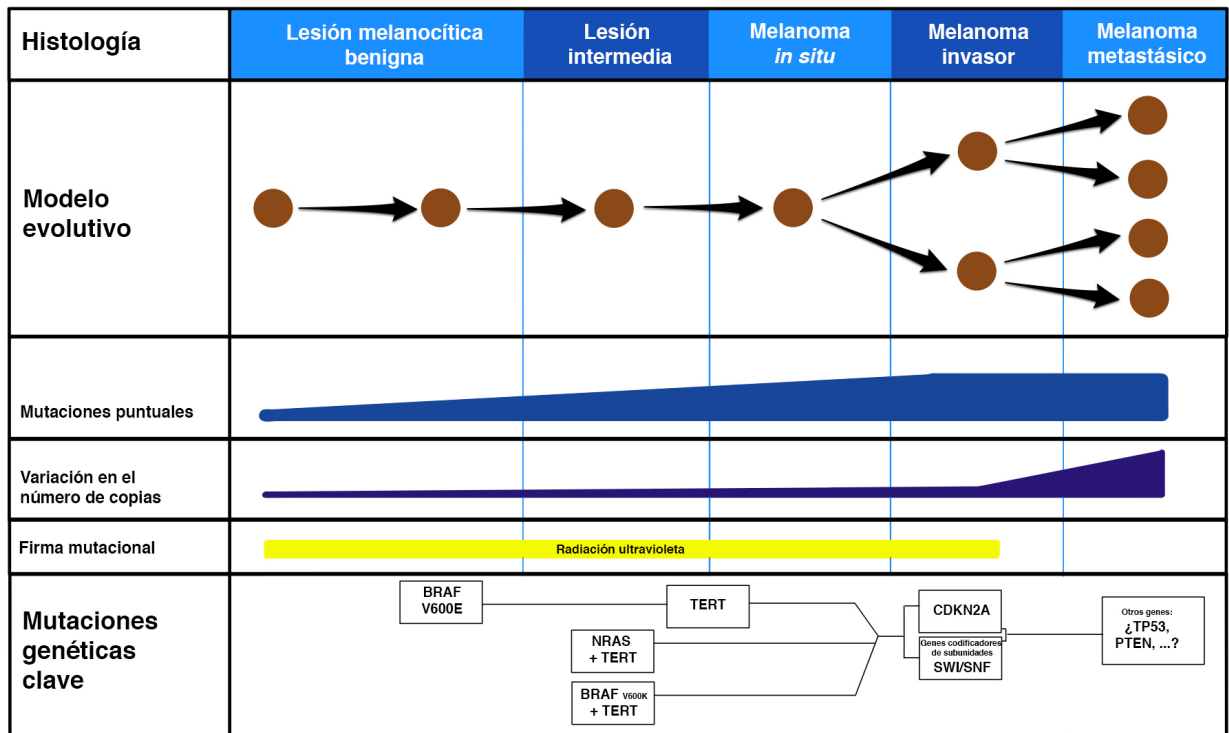


Figura 7. Resumen de las alteraciones genéticas presentes en la evolución de una lesión melanocítica benigna a un melanoma en su evolución (figura modificada de Shain et al. [133])

## I.7. Melanoma asociado a nevo

A pesar de la creciente aceptación de un modelo evolutivo dinámico de las neoplasias melanocíticas, la aproximación histopatológica actual al diagnóstico del melanoma considera que la mayoría aparecen *de novo* (MDN), aunque hay un porcentaje significativo -pero variable- de melanomas histológicamente asociados a un nevo melanocítico (MAN).

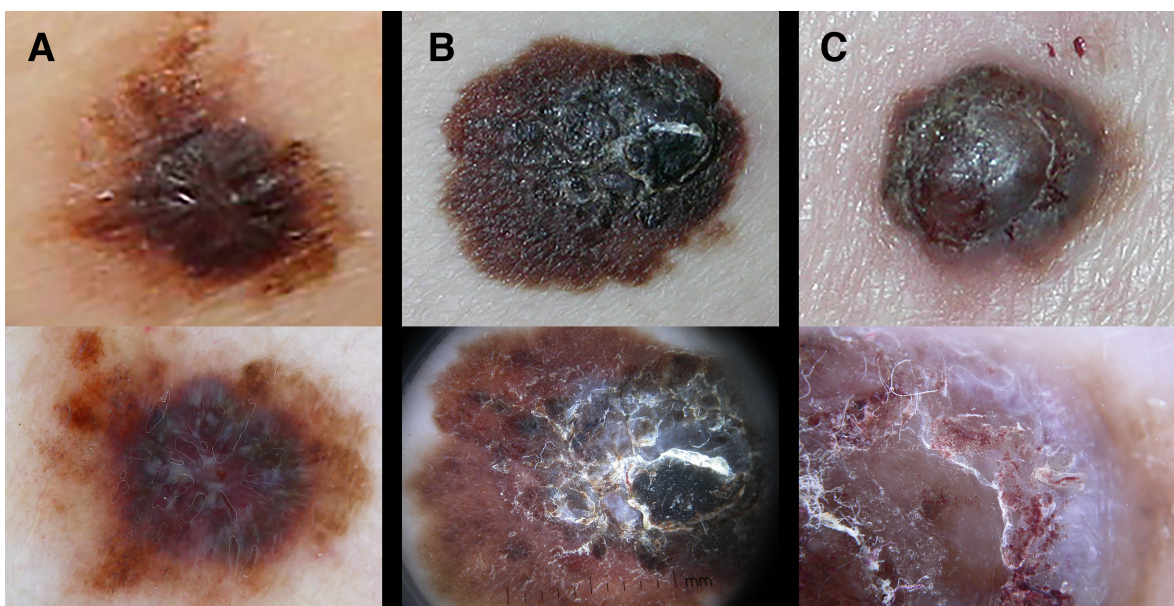


Figura 8. Ejemplos de la práctica clínica habitual. Imágenes clínica (superior) y dermatoscópica (inferior). A: MES asociado a nevo displásico. B: MES asociado a nevo común. C: MN asociado a nevo común.

En 1967, Mishima predijo que se hablaría de dos tipos diferenciados de melanoma, los llamados “melanocitomas malignos” y “nevocitomas malignos” en función de su desarrollo a partir de un lentigo senil o de un nevo melanocítico, respectivamente [198]. Si bien esta teoría no ha podido ser refutada, da una idea de la importancia que se ha dado a los nevos como lesiones potencialmente precursoras de melanoma.

### I.7.1. Diferenciación de nevo y melanoma

La diferenciación clínica e histológica de un melanoma frente a un nevo melanocítico continúa siendo un reto en una proporción nada desdeñable de casos.

En relación con el diagnóstico clínico, se ha confirmado la utilidad del uso sistemático de la dermatoscopia. En la experiencia de un grupo italiano, considerando un total de 4884 casos de dos períodos de 8 años, se constató una disminución del índice de exéresis de lesiones benignas/malignas de 27,3 en el período 1986-1996 a un 4,71 obtenido entre los años 2004-2012 [199]. Una publicación reciente ha puesto de relieve la importancia de hacer una evaluación sistemática clínica y dermatoscópica de todas las lesiones cutáneas en la exploración clínica, dada la dificultad planteada para su correcta distinción [200]. Otra ha subrayado que, a pesar de las múltiples herramientas de ayuda al diagnóstico existentes (dermatoscopia manual, dermatoscopia digital, fotografía corporal total, análisis digital multiespectral guiado por ordenador, espectroscopía eléctrica de impedancia, espectroscopía de Raman, microscopía confocal de reflectancia, tomografía multifotónica, microscopía de excitación de dos fotones, imagen infrarroja cuantitativa dinámica...), no existe ninguna que supere al análisis histopatológico en la consecución del diagnóstico final de melanoma [201].

El estudio histológico con inmunohistoquímica continúa siendo el *gold standard* en el diagnóstico y diferenciación entre melanoma y nevo. Existen cada vez más herramientas que permiten esclarecer aquellos casos en los que el análisis histopatológico resulta insuficiente. Una de las más recientes es la detección de una pérdida pronunciada de 5-hidroximetilcitosina en el melanoma para diferenciarlo de un nevo mediante inmunohistoquímica, que se postula como un marcador de gran utilidad en este sentido [202, 203]. A pesar de ello, continúa habiendo lesiones – entre las que se cuentan, de forma paradigmática, las neoplasias spitzoides– cuyo diagnóstico diferencial es problemático [204, 205]. En cualquier caso, resulta fundamental contar con la evaluación por parte de un dermatopatólogo experto para obtener un óptimo abordaje diagnóstico.

### I.7.2. Proporción de melanomas asociados a nevo. Análisis agregado de la literatura publicada

El riesgo de transformación de un nevo cualquiera en melanoma se considera generalmente limitado. Aunque muchos pacientes, espontáneamente, suelen aplicar selectivamente la crema fotoprotectora sobre las áreas con nevos [206], se ha estimado que el riesgo de desarrollo de melanoma sobre cualquier nevo individual acumulado hasta los 80 años es limitado: del 0,03% (1 de cada 3.164 nevos) en hombres y del 0,009% (1 de cada 10.800) en mujeres [207].

Entre 5-85% de los melanomas cutáneos en la población caucásica están asociados clínica o histológicamente con un nevo melanocítico preexistente. Estas cifras son generalmente menores cuando se tienen en cuenta los restos histológicos (4-72%) [2, 72, 208-235], y mayores si lo que se consideran son aquellos casos en los que el paciente recuerda una lesión clínicamente evidente (42-85%) [236-239]. En la revisión que se hará a continuación únicamente se tendrá en cuenta la asociación histológica objetiva.

En 1988 Ackerman afirmó que el MDN es más frecuente. Lo hizo en base a la experiencia acumulada en su serie de más de 75.000 melanomas en pacientes de raza caucásica, de los que solo el 20% eran MAN [50]. Este hallazgo no era aplicable a los melanomas en raza negra y asiática, donde aparece mayoritariamente como MDN en las palmas, las plantas y el aparato ungueal [50]. Posteriormente, se han publicado una amplia variedad de estudios que, por una parte, han elevado en su mayoría la proporción estimada de MAN y, por otra parte, han puesto en evidencia que los MAN también pueden aparecer en raza no-caucásica [240]. Es relevante tener en cuenta que tanto el conocimiento de la biología de las neoplasias melanocíticas como la evolución de los criterios diagnósticos, especialmente de las lesiones “límitrofes”, han podido justificar una parte de las diferencias encontradas entre trabajos. Adicionalmente, existen diferencias metodológicas entre estudios, con la posibilidad de sesgos de clasificación. Dada la baja concordancia diagnóstica interobservador en el análisis histopatológico cuando se evalúan las lesiones pigmentadas clínicamente atípicas [58] o los melanomas *in situ*, algunos dermatopatólogos expertos recomiendan considerar solo los casos de MAN invasor [241].

Una revisión de 2015 [233] cifró la proporción de MAN en un 36% incluyendo un total de 10.102 pacientes. Cabe, no obstante, hacer mención a sus limitaciones: incluía en él dos referencias que, por una parte, no iban dirigidas a estudiar dicha proporción y que no establecían claramente en el texto el número de pacientes con melanoma estudiados y la proporción de los cuales tenían un MAN [242, 243], y por otra parte dejaba de incluir un número no desdeñable de referencias previas y –obviamente– las posteriores. En la tabla 5 queda sistematizada la proporción de MAN en la literatura publicada hasta la fecha.

Las notables diferencias en la proporción de melanomas clasificados como MAN entre las distintas series publicadas se explicaría por diferentes factores, entre los que se podría considerar:

- El hecho de que las primeras publicaciones consideraran “proliferación melanocítica atípica” a los márgenes del melanoma, lo que explicaría que la proporción de MAN sea relativamente mayor en series más recientes.
- La posibilidad de que no se encuentre el resto histológico de nevo al no ser frecuente que se realice de rutina un análisis sistemático del 100% de la pieza histológica, lo cual podría causar un infradiagnóstico de MAN.
- Los criterios de inclusión heterogéneos entre series: algunas incluyen melanomas *in situ*, otras melanomas invasores hasta un determinado Breslow, etc. Ello además puede implicar un sesgo de selección.
- La hipótesis que postula que algunos melanomas, en su crecimiento, obliterarían y reemplazarían de forma completa los restos névicos, sobre todo aquellos con factores pronósticos (específicamente, índice de Breslow) más desfavorables, lo que implicaría que aquellas series que incluyen melanomas de menor espesor tendrían una proporción mayor de MAN.

Tabla 5. Revisión de la proporción de MAN en la literatura. Cálculo del porcentaje global de MAN en base a los 16162 pacientes incluidos en estudios previos

Referencia	Año <sup>(1)</sup>	n <sup>(2)</sup>	MAN (%)	Subtipo de MM <sup>(3)</sup>
1) Ackerman [208]	1948	75	4%	
2) Couperus [209]	1954	141	72%	
3) Cochran [210]	1969	165	22%	
4) Clark [211]	1969	209	9,6%	MES, MN, LMM
5) McGovern [2]	1970	202	26,7%	MES
6) Rippey [212]	1977	54	22,2%	MES, MN, otros no especificados
7) Larsen [213]	1978	60	18,3%	MES, MN, otros no especificados
8) Cruciolli [214]	1982	129	10,9%	
9) Rhodes [215]	1982	234	27,4%	
10) Friedman [216]	1983	557	23,3%	
11) Søndergaard [217]	1983	1916	9%	
12) Clark [218]	1984	241	30,7%	
13) Kopf [219]	1987	679	31%	
14) Black [220]	1988	500	42,2% (32,4% MAN sobre nevo con displasia, 9,8% MANcom)	MES
15) Stolz [221]	1989	150	22%	
16) Gruber [222]	1989	197	32,5	
17) Marks [223]	1990	1101	23,3%	MES, MN
18) Urso [224]	1991	233	22,7%	
19) Sagebiel [225]	1993	1954	57,6% (41% MANcom, 38% MAN congénito, y 21% MANdis)	MES, MN
20) Skender-Kalnenas [226]	1995	289	51% (56% MANdis, 41% MANcom, 3% MAN congénito)	
21) Harley [227]	1996	124	23% (55% MANcom/MANdis, 28% MAN congénitos -pequeños-)	
22) Carli [228] y Massi [229]	1999	131	20,6% (51,8% MANcom/MANdis, 44,5% MAN congénitos, 3,7% MAN indiferenciable de adquirido/congénito)	
23) Bevona [230]	2003	1606	26%	
24) Purdue [72]	2005	932	36%	
25) Echeverría [231]	2010	981	30,3%	
26) Longo [232]	2011	113	29,2%	
27) Lin [233]	2015	850	28%	
28) Haenssle [234]	2016	190	54,2%	
29) Cymerman [235]	2016	2149	25,5%	
<b>Análisis agregado</b>		<b>16162</b>	<b>29,8%</b>	

<sup>(1)</sup> Año: Año de publicación.

<sup>(2)</sup> n: Número de pacientes incluidos.

<sup>(3)</sup> Incluidos todos los subtipos histológicos e melanoma (celdas sombreadas), salvo que se especifique lo contrario. MES: Melanoma de extensión superficial. MN: Melanoma nodular. LMM: Lentigo maligno melanoma.

### I.7.3. Características asociadas a los MAN

La evidencia actual indica que los MAN, independientemente del tipo de lesión melanocítica benigna sobre los que asienten, se asocian:

- positivamente con:

- Edad más joven [220, 230, 231, 233].
- Riesgo bajo de melanoma [234].
- Localización predominantemente en el tronco [212, 222, 226, 228-231, 233].
- Antecedentes personales de quemaduras solares frecuentes [228].
- Número elevado de nevos melanocíticos [228, 234] o mayor densidad névica [72].
- Subtipo histológico MES [72, 223, 225, 226, 230, 231].
- Menor índice de Breslow [72, 216, 220, 225, 234].
- Mayor supervivencia libre de enfermedad [216].

- negativamente con:

- Mayor edad [235].
- Antecedentes personales o familiares de melanoma y antecedentes familiares de síndrome del nevo displásico o de melanoma múltiple [234].
- Elevado fotodaño acumulado a nivel clínico [72] o histológico [220].
- Estadio TNM >I y menor supervivencia global [235], además de presencia de metástasis, y muerte por melanoma [244]. No obstante, otros estudios no han encontrado diferencias en cuanto al estado del ganglio centinela y la supervivencia global [233].
- Subtipos histológicos MN [222, 223, 235, 244] (aunque una publicación sí que encontró asociación positiva [225]) y LMM [72, 222, 226].
- Índice de Breslow >1,0 mm [235] o >2,25 mm [244]. Mayor espesor de Breslow o Clark [223, 224].
- Presencia de ulceración [233, 235] (no obstante, otros estudios no han encontrado diferencias en la presencia de ulceración [216]).

## *II. Hipótesis*

*Melanoma asociado a nevo melanocítico: Análisis de factores clínicos, epidemiológicos, histopatológicos y de biología molecular*



Se ha comprobado que los MAN difieren de los melanomas *de novo* (MDN), pero no se han analizado específicamente las diferencias entre los MAN comunes y los MAN displásicos. Tampoco ha sido estudiada la concordancia entre el diagnóstico de melanoma asociado a nevo histológico (más objetivo, al constatar la presencia histológica de nevo adyacente al melanoma) y clínico (defendida por otros autores, por existir posibilidad de que el melanoma oblitere el componente névico en su avance, con la consecuente infraestimación diagnóstica).

Las hipótesis de las que partimos pueden formularse como:

- Dado que existen diferencias en la etiopatogenia y genética de los nevos melanocíticos comunes y los displásicos, las características clínicas, epidemiológicas y biológicas de los melanomas que presentan un nevo asociado histológicamente son diferentes tanto según el tipo de nevo (común -MANcom- o displásico -MANDis-) como en relación con los melanomas que no presentan restos de nevo asociado -MDN-.
- Las discrepancias existentes en la literatura publicada en cuanto a la proporción de melanomas asociados a nevo según el antecedente clínico o los hallazgos histológicos sugieren que hay una baja concordancia entre ambas aproximaciones al diagnóstico.



### *III. Objetivos*

*Melanoma asociado a nevo melanocítico: Análisis de factores clínicos, epidemiológicos, histopatológicos y de biología molecular*



Los objetivos de la presente tesis doctoral son los siguientes:

1. Caracterizar y comparar las características clínicas, epidemiológicas, histopatológicas y genéticas-moleculares del melanoma asociado a nevo melanocítico (MAN) frente al melanoma *de novo* (MDN).
2. Identificar las diferencias existentes entre los pacientes con MAN displásico y MAN común a nivel clínico, epidemiológico, histológico y molecular.
3. Examinar si existen diferencias entre los tres grupos de pacientes en términos de supervivencia libre de enfermedad, supervivencia específica relacionada con el melanoma y supervivencia global.
4. Estimar la proporción relativa de melanomas asociados a nevo –y, específicamente, la proporción de melanomas asociados a nevo común o displásico– en los pacientes con diagnóstico de melanoma cutáneo primario.
5. Estudiar el grado de concordancia entre las aproximaciones histológica y clínica al diagnóstico de MAN.



## *IV. Material y métodos*

*Melanoma asociado a nevo melanocítico: Análisis de factores clínicos, epidemiológicos, histopatológicos y de biología molecular*



La presente tesis doctoral contiene el desarrollo de un estudio epidemiológico, observacional, retrospectivo y comparativo de series de casos. En él se emplearon los datos de pacientes diagnosticados de melanoma en la Unidad de Melanoma del Servicio de Dermatología del Instituto Valenciano de Oncología (IVO) desde el año 2000 recogidos de forma prospectiva, y actualizados de forma continuada.

## IV.1. Sujetos de estudio

Se incluyeron datos de pacientes atendidos durante el período comprendido desde enero del 2000 hasta septiembre de 2015. Los datos crudos de la población están sistematizados en el **anexo I**. Los **anexos II y III** incluyen los consentimientos informados administrados a -y firmados por- los pacientes.

### IV.1.1. Criterios de inclusión

Quedaron incluidos en el estudio aquellos pacientes con diagnóstico de melanoma cutáneo invasivo que habían recibido tratamiento definitivo en el IVO.

### IV.1.2. Criterios de exclusión

Los criterios de exclusión comprendieron el diagnóstico de melanomas:

- *in situ*,
- mucoso,
- de coroides,
- de origen primario desconocido,
- asociados con otras proliferaciones melanocíticas (nevus congénitos, nevus azules, nevus spilus, etc.),
- primarios múltiples o
- con ausencia de información disponible sobre la presencia de nevo melanocítico previo.

#### IV.1.3. Grupos de estudio

Los pacientes quedaron clasificados en tres grupos: melanomas *de novo* (MDN), melanomas asociados a nevo displásico (MANdis) y melanomas asociados a nevo común (MANcom), atendiendo a los hallazgos histopatológicos del examen sistemático de las muestras histológicas de los pacientes incluidos en la base de datos. Todas las muestras fueron evaluadas sistemáticamente al menos por un dermatopatólogo experto (Dr. Víctor Traves), incluyendo las de los casos remitidos desde otros centros para tratamiento y/o seguimiento, de los que se solicitó un bloque consulta de la lesión y se repitió estudio histológico en el propio IVO.

Los MDN se definieron como aquellos en los que no se observaba ningún tipo de resto histológico de una lesión melanocítica preexistente.

Los MAN, como aquellos melanomas con la presencia asociada de nidos, hileras o cordones de células névicas citológicamente benignas, a su vez subdivididos en:

- MANdis en caso de que la proliferación asociada cumpliera con los criterios de nevo displásico de la OMS, y en
- MANcom en caso de no cumplirlos y ser proliferaciones de tipo nevos junturales, compuestos o intradérmicos.

## IV.2. Datos analizados en el estudio

Antes de la realización de los análisis, se llevó a cabo la selección de las variables incluidas en el estudio en base a estudios previos sobre MAN (los cuales han sido revisados en la sección de introducción) y a metaanálisis que analizaron los factores asociados al melanoma cutáneo [48, 115, 245].

La categorización de todas las variables contenidas en la base de datos se encuentra resumida en el **anexo IV**. En la siguiente tabla 6 quedan sistematizadas las variables consideradas en el estudio.

Tabla 6. Variables consideradas en el estudio

Variables	
Demográficas y clínicas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sexo</li> <li>• Edad en que se extirpó el melanoma</li> <li>• Fototipo de Fitzpatrick</li> <li>• Color de los ojos</li> <li>• Color del cabello</li> <li>• Índice de masa corporal</li> <li>• Localización del melanoma</li> <li>• Localización descubierta u oculta del melanoma</li> <li>• “Fotolocalización” del melanoma</li> <li>• Hábito tabáquico</li> <li>• Antecedentes de exposición solar laboral</li> <li>• Antecedentes de quemaduras solares intensas</li> <li>• Antecedentes de quemaduras solares en el área del melanoma</li> <li>• Número de nevos en el tegumento</li> <li>• Número de nevos histológicamente displásicos extirpados</li> <li>• Presencia de nevos congénitos</li> <li>• Patrón de nevos predominante</li> <li>• Número de nevos en el área del melanoma</li> <li>• Presencia de lentigos solares en el área del melanoma</li> <li>• Presencia de efélides en la infancia</li> <li>• Presencia de lentigos solares en el tegumento</li> <li>• Número de queratosis seborreicas</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Número de angiomas seniles</li> <li>• Antecedentes o presencia de queratosis actínicas</li> <li>• Antecedentes personales (previos y tras el diagnóstico de melanoma) de carcinoma basocelular</li> <li>• Antecedentes personales (previos y tras el diagnóstico de melanoma) de carcinoma espinocelular</li> <li>• Antecedentes de otros tipos de neoplasias</li> <li>• Antecedentes familiares de melanoma</li> <li>• Antecedentes familiares de cáncer de páncreas</li> <li>• Antecedentes familiares de otras neoplasias</li> <li>• Resultado del ganglio centinela</li> <li>• Estadificación del melanoma</li> <li>• Tiempo de evolución del melanoma desde su detección hasta su exéresis</li> <li>• Tiempo transcurrido desde la detección de cambios hasta la exéresis del melanoma</li> <li>• Tiempo transcurrido desde la aparición de crecimiento en volumen del melanoma hasta su exéresis</li> <li>• Tiempo libre de enfermedad – supervivencia libre de enfermedad</li> <li>• Tiempo de supervivencia – supervivencia global</li> </ul>
Histopatológicas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Subtipo histológico de melanoma</li> <li>• Índice de Breslow</li> <li>• Presencia y número de mitosis</li> <li>• Presencia de ulceración histológica</li> <li>• Presencia de daño solar crónico y elastosis a nivel histológico</li> </ul>
Genéticas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Presencia de mutaciones en <i>BRAF</i> (<i>V600E</i>, <i>V600K</i> o <i>V600D</i>)</li> <li>• Presencia de variantes no-sinónimas en <i>MC1R</i> <i>p.D84E</i>, <i>p.D294H</i>, <i>p.R142H</i>, <i>p.R151C</i> y <i>p.R160W</i>)</li> <li>• Presencia de mutaciones en <i>NRAS</i></li> <li>• Presencia de mutaciones en <i>KIT</i></li> <li>• Presencia de mutaciones en <i>TERT</i></li> </ul>

A continuación queda especificada la categorización de las variables consideradas en el estudio, todas las cuales (y de forma más destacada aquellas –como el número o patrón de nevos– que requieren de conocimientos previos para su correcta determinación y

clasificación) fueron recogidas siempre por parte de un médico especialista en Dermatología Médico-Quirúrgica y Venereología.

#### IV.2.1. Variables demográficas y clínicas

##### **Sexo:**

El sexo se categorizó en hombre y mujer.

##### **Edad (en que se extirpó el melanoma):**

La edad se clasificó en 3 categorías: menores de 45 años, entre 45 y 64 años y con edad mayor o igual a 65 años. Esto se hizo en base a categorías empleadas en estudios previos, incluyendo el estudio piloto.

La aplicación de la metodología CRT (*Classification and regression trees*, que queda explicada en el epígrafe de análisis estadístico) para la reclasificación de las variables fijó el punto de corte:

- en torno a los 50 años (52,5) teniendo en cuenta los tres subgrupos, así como las parejas de subgrupos de MDN y MANdis -52,5- y de MDN y MANcom -55,5- (figura 9), y
- en 37,5 años teniendo en cuenta los dos subgrupos de MAN (figura 10).

Por este motivo, también se agrupó la variable edad en  $\leq 50$  *versus*  $> 50$  y en  $\leq 37,5$  *versus*  $> 37,5$  años de edad.

##### **Fototipo de Fitzpatrick:**

El fototipo según la clasificación de Fitzpatrick fue analizado siguiendo categorización en cinco subgrupos, y también en fototipos I-II frente a  $\geq$ III.

##### **Color de los ojos:**

El color de ojos quedó clasificado en cuatro categorías: negros, marrones, azules y verdes. Adicionalmente, se agruparon en claros (verdes o azules) frente a oscuros (marrones o negros).

**Color del cabello (a los 18 años de edad):**

El color del cabello a los 18 años de edad se clasificó en pelirrojo, rubio, castaño claro, castaño oscuro y moreno. También se agrupó en colores pelirrojo, rubio/castaño claro, y moreno/castaño oscuro.

La categorización en subgrupos de estas últimas tres variables (fototipo, color de ojos y del cabello) se hizo en línea con una publicación previa de nuestro grupo [246].

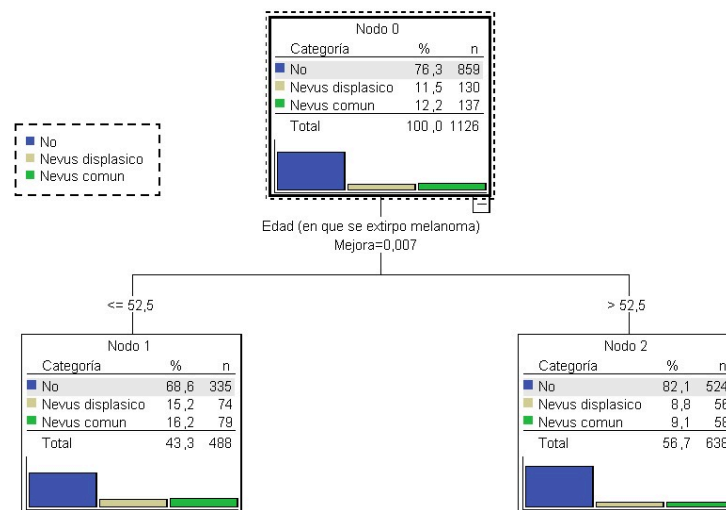


Figura 9. Árbol de decisiones clasificatorio (metodología CRT) para la variable de edad

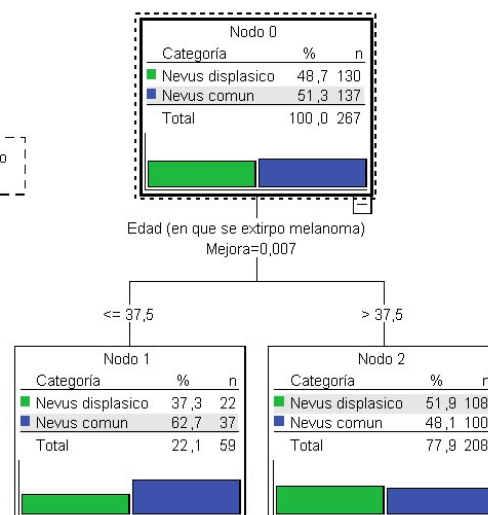


Figura 10. Árbol de decisiones clasificatorio (metodología CRT) para la variable de edad considerando solo los subgrupos de MAN

**Índice de masa corporal (IMC):**

Calculado en base a la fórmula peso/talla (en metros)<sup>2</sup>, se categorizó en: delgadez (IMC por debajo de 18,5), normopeso (18,5-24,9), sobrepeso (25,0-29,9), obesidad (30,0-39,9) y obesidad mórbida (>40).

**Localización del melanoma:**

A efectos de su análisis, se clasificó en 5 categorías (las cinco localizaciones empleadas habitualmente en la mayoría de estudios epidemiológicos): cabeza y cuello, extremidades superiores, tronco, extremidades inferiores y acral. Si bien se optó por mantener dicha clasificación, también se analizó la variable reclasificada en 2 categorías tras observar una distribución más homogénea de la variable: tronco y extremidades superiores *versus* cabeza y cuello, acral y extremidades inferiores (figura 11).

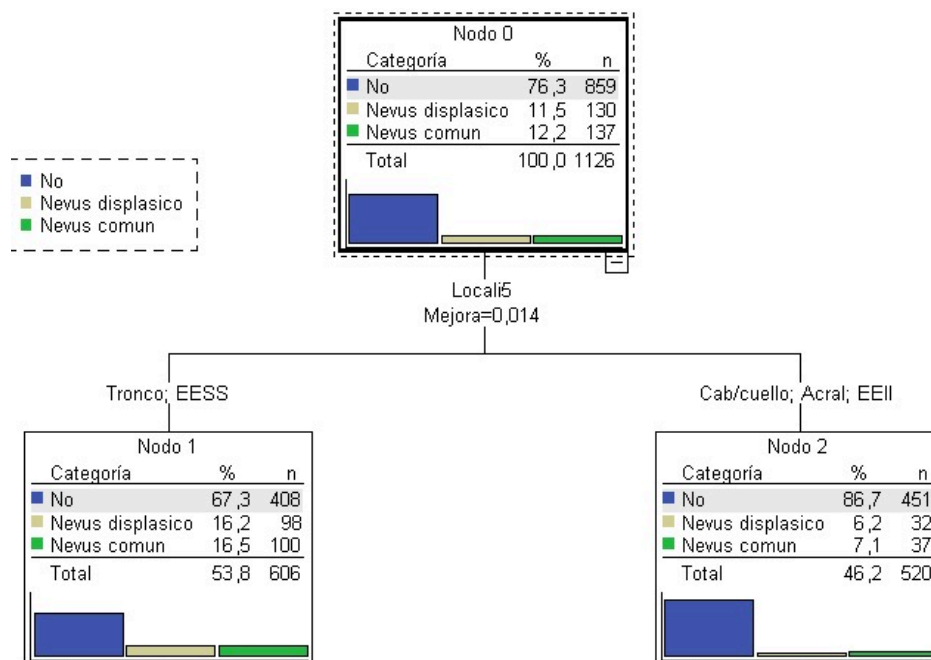


Figura 11. Árbol de decisiones clasificatorio (metodología CRT) para la variable de localización del melanoma

**Localización descubierta u oculta del melanoma:**

Quedó categorizada en 3 categorías: visible para el paciente, visible para un conviviente íntimo u oculta para ambos.

**“Fotolocalización” del melanoma:**

Recogida a partir de la localización específica del melanoma junto a la anamnesis del paciente (considerando el tipo de vestimenta que lleva habitualmente y sus hábitos de exposición solar), se analizó en base a 3 categorías: área oculta al sol siempre (nunca fotoexpuesta), expuesta solo en verano (fotoexposición intermitente), o expuesta todo el año (fotoexposición crónica). Esta variable quedó también reclasificada en dos categorías: melanomas CSD (*chronic sun damaged*) versus no-CSD (esto es, en función de su localización en áreas con daño solar crónico frente a zonas sin él), en concordancia con investigaciones previas [247].

**Hábito tabáquico:**

El dato de “años/paquete” (que representa una estimación acumulativa de consumo de tabaco que se obtiene empleando la fórmula: número de cigarrillos fumados al día multiplicado por el número de años de fumador dividido entre 20) fue recogido para los pacientes. La metodología CRT aplicada sobre esta variable no permitió definir un claro punto de corte, por lo que se optó por categorizarla de acuerdo con una publicación previa de un grupo de investigación valenciano [248] en: no fumador, <20 años/paquete, y  $\geq 20$  años/paquete.

**Antecedentes de exposición solar laboral:**

Los pacientes fueron clasificados según la exposición solar requerida en su profesión en: profesión con fotoexposición habitual frente a profesión no expuesta al sol. Este dato también fue recogido de forma cuantitativa como número de años de exposición solar laboral. El análisis CRT permitió encontrar un primer punto de corte en 31 o menos años frente a más de 31 años, por lo que se redondeó dicha cifra y se dividió la variable continua en una categórica incluyendo dos grupos: pacientes con antecedentes de  $\leq 30$  años frente a  $>30$  años de exposición solar laboral (figura 12).

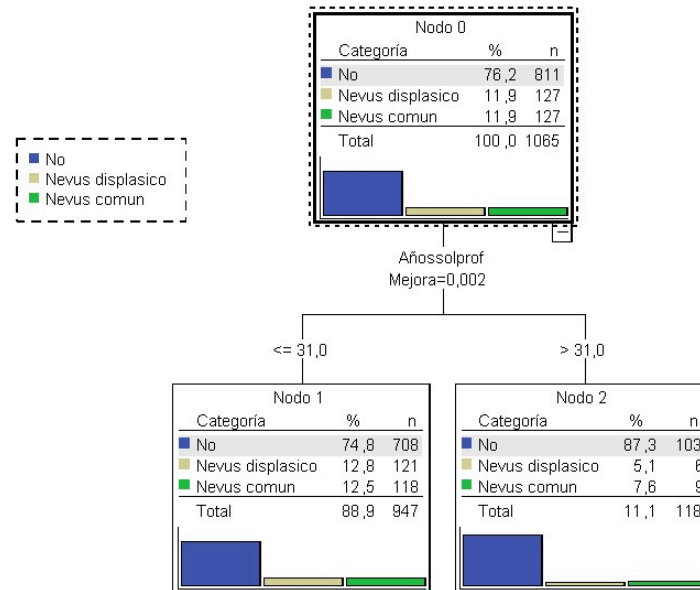


Figura 12. Árbol de decisiones clasificatorio (metodología CRT) para la variable de fotoexposición laboral

#### Antecedentes de quemaduras solares intensas:

Los pacientes fueron clasificados según la presencia o ausencia de antecedentes de una o más quemaduras solares intensas (definidas como aquellas que dan lugar a la aparición de ampollas, o bien de eritema y dolor durante 48 o más horas).

#### Antecedentes de quemaduras solares en el área del melanoma:

Además de los antecedentes de quemaduras solares en cualquier parte del tegumento, se recogió el dato de aquellas que se dieron en el área donde se localizaba el melanoma. Recogida y analizada en base a 3 categorías (no, leves o intensas), también se hizo empleando 2 categorías (ausencia *versus* presencia de antecedentes de quemaduras solares en el área del melanoma) definidas tras la aplicación de la metodología CRT (figura 13).

#### Número de nevos melanocíticos en el tegumento:

El número de nevos melanocíticos de cada paciente incluyó tanto los de zonas visibles (brazos, cara) como los localizados en zonas habitualmente cubiertas (zona mamaria y nalgas). Los nevos melanocíticos se definieron como aquellas lesiones maculares o papulares pigmentadas melanocíticas de más de 2 mm de diámetro. No se consideraron como nevos las lesiones maculares localizadas en zonas fotoexpuestas con tendencia a

confluir y desaparecer en invierno (efélides) ni los lentigos solares, en línea con estudios previos [3]. Se realizó el recuento completo por parte de un mismo dermatólogo del 70% de los pacientes, y una estimación del número total de nevos de la práctica totalidad de ellos. Esta variable se dividió en cuatro categorías (presencia de <20, 21-50, 51-100 o >100 nevos melanocíticos en el tegumento del paciente), de acuerdo con otros estudios realizados en nuestro centro. También se hizo en 3 categorías (presencia de <20, 21-50 o >50 nevos melanocíticos), como en nuestro estudio piloto. Adicionalmente, la aplicación de la metodología CRT permitió fijar el punto de corte de la variable del recuento total de nevos en igual o menor a 21,5 frente a mayor de 21,5, por lo que se procedió también a su categorización en 21 o menos nevos frente a más de 21 nevos. Para el presente estudio no se subdividieron los nevos melanocíticos según su tamaño (figura 14).

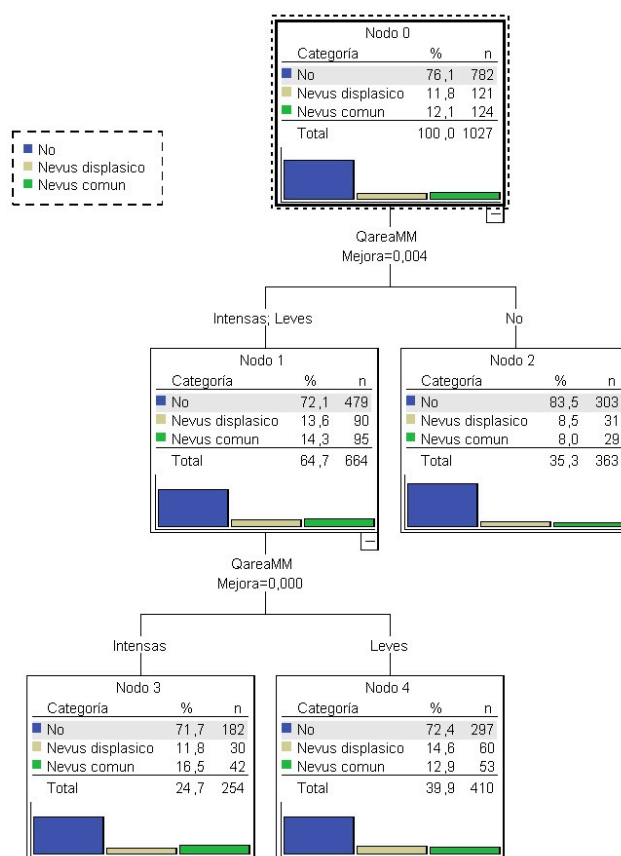


Figura 13. Árbol de decisiones clasificatorio (metodología CRT) para la variable de antecedentes de quemaduras solares en el área del melanoma

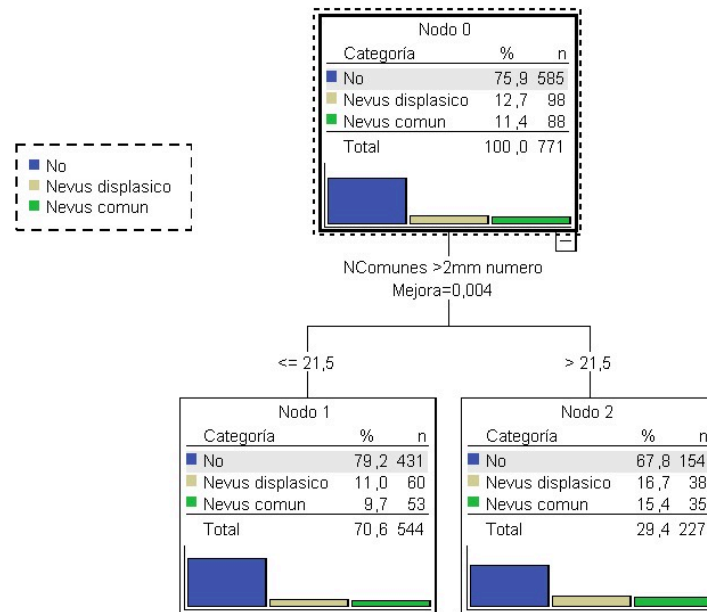


Figura 14. Árbol de decisiones clasificatorio (metodología CRT) para la variable de número de nevos melanocíticos

#### Número de nevos melanocíticos histológicamente displásicos extirpados:

La definición de nevo histológicamente displásico se hizo en base a los criterios de la EORTC. No se valoró el grado de displasia según la escala de Duke. Si bien esta variable se recogió de forma cuantitativa, el empleo de la metodología CRT no permitió encontrar un punto de corte numérico, por lo que esta variable se caracterizó en base a la presencia o ausencia de extirpación previa de al menos una de estas lesiones.

#### Presencia de nevos melanocíticos congénitos:

La presencia de nevos melanocíticos congénitos quedó recogida y clasificada en cuatro categorías: ninguno (ausencia de nevos melanocíticos congénitos), pequeño (presencia de un nevo melanocítico congénito de <1,5 cm de diámetro), mediano (de 1,6-19,9 cm de diámetro) o grande/gigante (de >20 cm / >50 cm de diámetro).

#### Patrón de nevos predominante:

Cada paciente quedó clasificado en función de su patrón de nevos predominante en cuatro categorías: ausencia de nevos, predominio de nevos con patrón lentiginoso o juntural,

predominio nevos con patrón intradérmico o común, patrón mixto. El uso del árbol de decisiones CRT no mostró que reagrupar esta variable supusiera ventajas significativas.

**Número de nevos en el área del melanoma:**

Se recogió este dato como el número de nevos situados en el área anatómica en la que se encontraba el melanoma (zona definida en base a la regla de los 9 de Wallace [249]). La metodología CRT definió como punto de corte de 2,5 nevos en el área del melanoma, por lo que se clasificó esta variable continua en categórica atendiendo a la presencia de  $\leq 3$  *versus*  $>3$  nevos en el área del melanoma (figura 15).

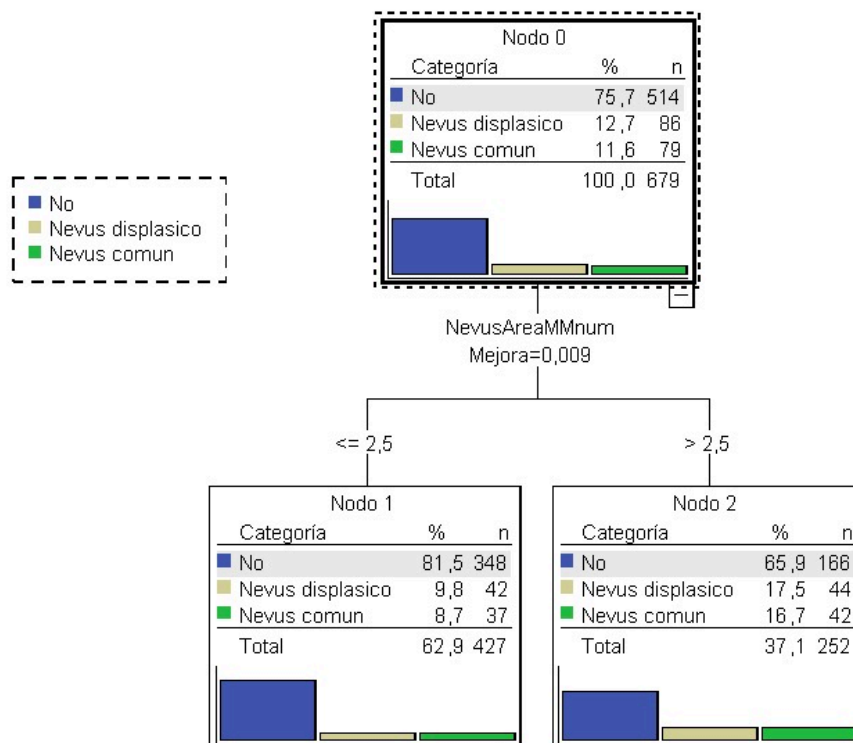


Figura 15. Árbol de decisiones clasificatorio (metodología CRT) para la variable del número de nevos melanocíticos en el área del melanoma

**Presencia de lentigos solares en el área del melanoma:**

Considerando como lentigos solares aquellas lesiones pigmentadas maculares, con tendencia a confluir, que no desaparecen fuera del período estival, esta variable quedó recogida y analizada en base a dos categorías: ausencia frente a presencia de lentigos solares en el área del melanoma.

**Presencia de efélides en la infancia:**

La presencia o ausencia de efélides (lesiones maculares, habitualmente de menos de 2 mm de diámetro, localizadas en zonas fotoexpuestas con tendencia a confluir y desaparecer en invierno) quedó determinada en consulta siguiendo los esquemas de Gallagher [75].

**Presencia de lentigos solares en el tegumento:**

Esta variable quedó recogida en tres categorías: ausencia de lentigos solares, presencia de escasos y presencia de abundantes lentigos solares. A efectos de los análisis, y en línea con los resultados del análisis CRT, se consideró únicamente la presencia *versus* ausencia de lentigos solares en el tegumento (figura 16).

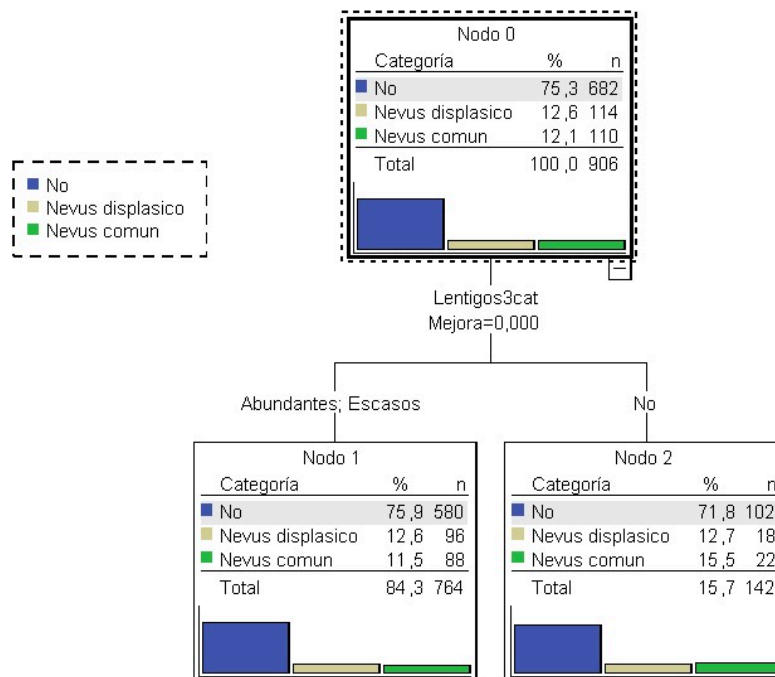


Figura 16. Árbol de decisiones clasificatorio (metodología CRT) para la variable del número de lentigos solares

**Número de angiomas seniles y de queratosis seborreicas en el tegumento:**

Se recogieron dos variables diferentes incluyendo los datos del número de angiomas seniles y del número de queratosis seborreicas en la superficie cutánea. Ambas variables fueron categorizadas en: ausencia,  $\leq 10$ , 11-20, 21-50, 51-100,  $>100$  angiomas seniles o queratosis seborreicas. El árbol CRT de clasificación no dio un punto crítico concluyente. Así,

atendiendo a las medianas de las variables, se optó por fijar dos categorías:  $\leq 20$  *versus*  $> 20$  en la variable del número angiomas seniles, y  $\leq 10$  *versus*  $> 10$  en la variable del número de queratosis seborreicas.

**Antecedentes personales (previos y tras el diagnóstico de melanoma) de queratosis actínicas, de carcinoma basocelular y de carcinoma espinocelular:**

Recogidas como tres variables diferentes (antecedentes de queratosis actínicas, antecedentes de carcinoma basocelular y antecedentes de carcinoma espinocelular valorados o tratados -previamente o con posterioridad al diagnóstico de melanoma- por un dermatólogo), se categorizaron en presencia frente a ausencia de dichos antecedentes.

**Antecedentes personales de otros tipos de neoplasias:**

Analizados en función de su presencia frente a su ausencia, esta variable también quedó recogida incluyendo los detalles –en caso de que así fuera– sobre qué otras neoplasias sólidas o hematológicas padecieron.

**Antecedentes familiares de melanoma, de cáncer de páncreas o de otras neoplasias:**

En tres variables distintas quedó registrada la presencia o ausencia de antecedentes de al menos un familiar de primer o segundo grado con diagnóstico de melanoma, cáncer de páncreas o de otras neoplasias (para lo cual el paciente había de aportar un informe -clínico o anatomopatológico- atestiguando el diagnóstico de su familiar).

**Resultado del ganglio centinela:**

Se recogió el resultado del ganglio centinela de aquellos casos en los que se realizó, el cual quedó codificado en tres categorías: negativo, positivo y no identificado.

**Estadificación del melanoma:**

Los casos fueron analizados según su estadio: localizado, con metástasis ganglionares, o con metástasis sistémicas.

**Recaída primaria tras diagnóstico inicial y muerte por melanoma:**

Se registró la presencia o ausencia de recaída del melanoma tras el diagnóstico inicial, así como la presencia o ausencia de muerte específica por el melanoma.

**Tiempo libre de enfermedad – supervivencia libre de enfermedad:**

Se calculó la supervivencia libre de enfermedad expresada en meses sin que se produjera una recaída del melanoma.

**Tiempo libre de enfermedad – supervivencia específica relacionada con el melanoma:**

Se calculó la supervivencia específica relacionada con el melanoma expresada en meses sin que se produjera una la muerte específicamente por el melanoma.

**Tiempo de supervivencia – supervivencia global:**

Se calculó la supervivencia global expresada en meses sin que se produjese el éxitus del paciente.

**Clasificación de los pacientes según el antecedente clínico de nevo asociado a melanoma (McAN):**

Se generaron dos variables secundarias a partir de la combinación de las variables de tiempos -de evolución, de detección de cambios y de detección de cambios en volumen-, que se detallan a continuación:

**Tiempos:**

Se consideraron los tiempos:

- De evolución del melanoma desde su detección hasta su exéresis.
- Transcurrido desde la detección de cambios hasta la exéresis del melanoma.
- Transcurrido desde la aparición de crecimiento en volumen del melanoma hasta su exéresis.

Las tres variables fueron recogidas cuantitativamente en número de meses.

De acuerdo con esos tiempos se definieron los tipos de melanoma:

- En 6 categorías:
  - a) MDN sin detección de cambios o crecimiento: lesiones únicamente con constancia de presencia desde un tiempo determinado, sin cambios evidentes constatados.
  - b) MDN MES sin percepción de cambio en el volumen: lesiones con tiempo de evolución y cambios similares, sin percepción de cambios en volumen.
  - c) MAN MES sin percepción de cambio en el volumen: lesiones con tiempo de evolución mayor de 10 años, con aparición posterior de cambios, sin percepción de cambios en volumen.
  - d) MDN MN: lesiones con tiempos de evolución y cambios en volumen similares.
  - e) MAN MN: lesiones con tiempo de evolución mayor de 10 años, con aparición de cambios directamente en el volumen.
  - f) MDN MES con percepción de cambio en el volumen: lesiones con tiempo de evolución y cambios similares, con percepción de cambios en volumen posteriores.
  - g) MAN MES sin percepción de cambio en el volumen: lesiones con tiempo de evolución mayor de 10 años, con aparición posterior de cambios, con percepción posterior de cambios en volumen.
  
- En dos categorías:
  - a) Lesiones clínicamente compatibles con MDN: aquellas lesiones únicamente con tiempo de evolución, sin que el paciente constata cambios evidentes, o bien aquellas lesiones con tiempo de evolución similar al de los cambios percibidos por el paciente.
  - b) Lesiones clínicamente compatibles con MAN: aquellas cuyo tiempo de evolución conocido por parte del paciente fuera de más de 10 años, con aparición posterior a de cambios evidentes por parte del paciente.

#### IV.2.2. Variables histopatológicas

##### **Subtipo histológico de melanoma:**

Los pacientes fueron clasificados en función del subtipo histológico de melanoma en: lentigo maligno melanoma (LMM), melanoma de extensión superficial (MES), melanoma nodular (MN), melanoma lentiginoso acral (MLA) y otros (melanoma amelanótico, melanoma desmoplásico...). Como ya se ha indicado, los melanomas mucosos, de coroides y de origen primario desconocido fueron excluidos del estudio.

##### **Índice de Breslow:**

El valor cuantitativo del índice de Breslow quedó recogido, y a efectos de análisis se categorizó en los cuatro niveles establecidos por la AJCC (*American Joint Committee on Cancer*) para la estadificación del melanoma ( $\leq 1$  mm, 1,01-2 mm, 2,01-4 mm, y  $\geq 4,01$  mm de espesor) [250], empleados en publicaciones previas incluyendo nuestro estudio piloto. El árbol CRT definió como punto de corte en el primer nodo un Breslow de 1,865 mm por lo que se analizó también la variable en dos categorías:  $\leq 1,865$  y  $> 1,865$  mm de espesor del melanoma (figura 17).

##### **Presencia de ulceración histológica:**

La ulceración (definida de acuerdo con una publicación previa, como la pérdida completa de la epidermis sin algún traumatismo o procedimiento quirúrgico reciente [251]) quedó recogida y analizada en función de su ausencia o de su presencia en el estudio histopatológico.

##### **Presencia y número de mitosis:**

El número de mitosis por  $\text{mm}^2$  se analizó considerando 0 *versus*  $\geq 1$  mitosis/ $\text{mm}^2$ , definida por la mediana de la variable y de forma análoga al estudio piloto. También se analizó subdividiéndola en tres categorías: 0 mitosis/ $\text{mm}^2$ , 1-5 mitosis/ $\text{mm}^2$  y  $> 5$  mitosis/ $\text{mm}^2$ .

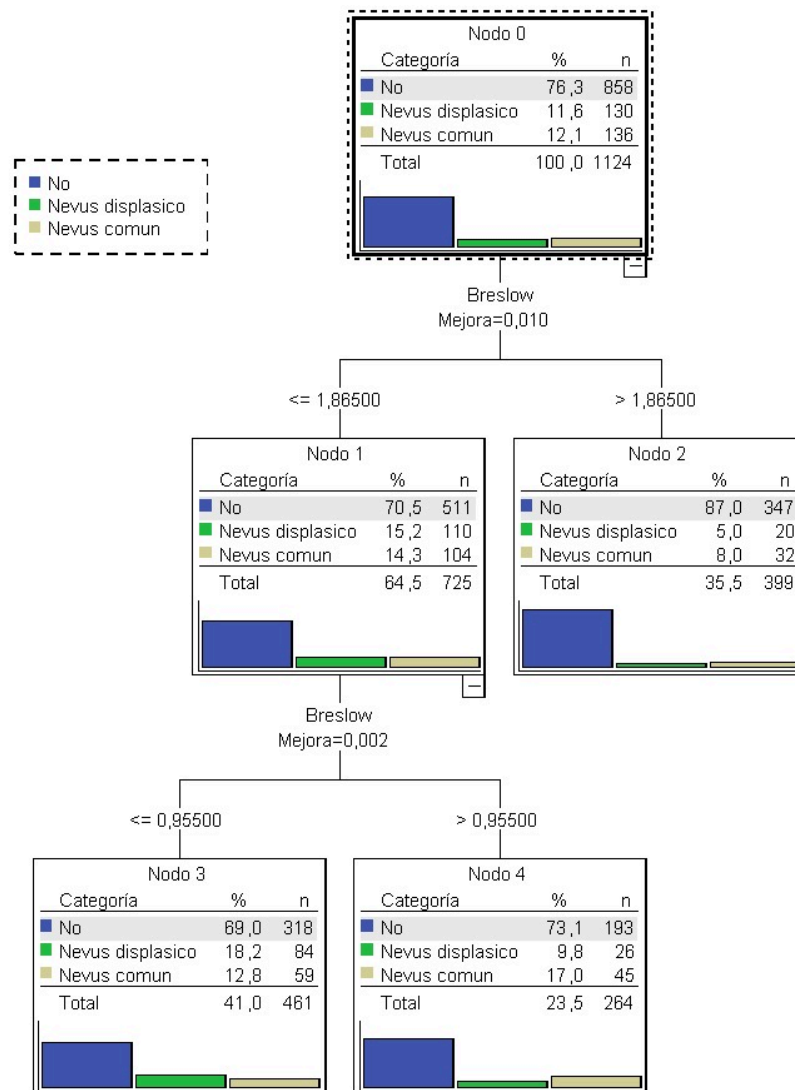


Figura 17. Árbol de decisiones clasificatorio (metodología CRT) para la variable del índice de Breslow

**Clasificación de los pacientes mediante la combinación de variables histológicas:**

Se generó una variable adicional de clasificación de los pacientes combinando los datos de subtipo histológico de melanoma, presencia histológica de nevo previo e índice de Breslow, en 7 categorías.

Con estas categorías se trató de definir lo que histológicamente se correspondería con los siguientes grupos, de cara a realizar una comparación con los grupos de melanoma clínicamente asociado a nevo (McAN):

a) *MDN sin detección de cambios o crecimiento:*

Pacientes con melanomas de subtipo histológico MN, sin evidencia histológica de nevo previo, con Breslow  $\leq 1$  mm.

b) *MAN tipo MES sin percepción de cambio en volumen:*

Pacientes con melanomas de subtipo histológico MES, sin evidencia histológica de nevo previo, con Breslow  $\leq 1$  mm.

c) *MAN tipo MES sin percepción de cambio en volumen:*

Pacientes con subtipo histológico MES, con evidencia de nevo previo, con Breslow  $\leq 1$  mm.

d) *MDN tipo MN (con crecimiento en volumen primario):*

Pacientes con subtipo histológico MN, sin evidencia de nevo previo, con Breslow  $> 1$  mm.

e) *MAN tipo MN (con crecimiento en volumen primario):*

Pacientes con subtipo histológico MN, con evidencia de nevo previo, con Breslow  $> 1$  mm.

f) *MDN tipo MES con percepción de cambio en volumen:*

Pacientes con melanomas de subtipo histológico MES, sin evidencia histológica de nevo previo, con Breslow  $> 1$  mm.

g) *MAN tipo MES con percepción de cambio en volumen:*

Pacientes con melanomas de subtipo histológico MES, con evidencia histológica de nevo previo, con Breslow  $> 1$  mm.

También se clasificó en 6 categorías, sin considerar la primera de las anteriores (al no incluir ningún paciente), poniendo como punto de corte un Breslow de  $\leq 2$  y  $> 2$  mm.

### IV.2.3. Variables genéticas

El estudio genético se realizó sobre muestras obtenidas tras consentimiento informado por escrito de los pacientes (el documento empleado se encuentra en el **Anexo III**), bien de la pieza tumoral (en el caso de las mutaciones somáticas) o de muestras de sangre obtenidas *ad hoc* (para la determinación de mutaciones germinales), almacenadas en el Biobanco del IVO. La metodología de laboratorio seguida puede consultarse en el **Anexo V**.

#### **Presencia de mutaciones en los genes *BRAF*, *NRAS*, *KIT* y región promotora del gen *TERT*:**

Determinadas sobre las muestras de tejido tumoral, se analizaron en función de su presencia o ausencia. En el caso del gen *BRAF*, la mayor parte de piezas con la mutación presentaron la variante *V600E*, aunque también se vieron *V600K* y (en menor medida) *V600D* y *V600R*. También se caracterizaron las alteraciones genéticas presentes en el gen *NRAS*, *KIT* y región promotora del gen *TERT*.

#### **Presencia de variantes no-sinónimas en *MC1R*:**

Se tuvo en consideración la presencia de variantes no sinónimas RHC (*red hair color*) *p.D294H* y *p.R160W* (asociadas a piel clara y cabello pelirrojo), además de las variantes *p.D84E*, *p.R142H* y *p.R151C* (asociadas únicamente al cabello pelirrojo), así como de las variantes no-RHC *p.V60L*, *p.V92M*, *p.I155T*, *p.V156L* y *p.R163Q* del gen del receptor de la melanocortina 1 determinada sobre muestras sanguíneas de los pacientes [192]. Si bien se registró el número de dichas variantes presentes en los pacientes y su caracterización, esta variable se analizó en función de la presencia o ausencia de una o más variantes RHC o no-RHC.

### IV.3. Análisis estadístico

La categorización de las variables y la jerarquización de las que fueron significativas en el modelo univariado se realizó según se ha indicado, bien siguiendo publicaciones previas, o bien aplicando la metodología CRT de árbol de decisiones (*Classification and regression trees*). El método CRT consiste en un algoritmo de árbol binario que, a partir de particiones de los datos, permite generar subconjuntos precisos y homogéneos (en otras palabras, divide los datos en segmentos lo más homogéneos posible respecto a la variable dependiente).

Tras la recodificación de las variables, se llevó a cabo un estudio descriptivo seguido de análisis exploratorios para conocer las diferencias en las distribuciones de cada una de las variables demográficas, clínicas, histopatológicas y de biología molecular mediante pruebas de Chi-cuadrado. Estos primeros estudios analíticos se realizaron sobre los tres subgrupos, y después emparejados por separado (esto es, comparando MDN con MANdis, MDN con MANcom y MANdis con MANcom).

A continuación, se analizaron las diferencias en la distribución de las variables analizando las tres parejas de subgrupos por separado mediante *odds ratios* (OR) con regresión logística binaria univariada de las variables encontradas como significativas en los análisis exploratorios. Se seleccionó la categorización que mejor discriminaba las diferencias entre los grupos y esa fue la que se utilizó para los modelos de regresión logística. Los análisis de regresión logística multivariada se realizaron tomando en consideración aquellas variables significativas en los análisis de regresión univariados. Para la realización de los análisis multivariados, los valores perdidos fueron imputados utilizando un modelo de imputación múltiple de todos los casos [237], para el cual se realizaron cinco iteraciones y se combinaron estimaciones y errores estándar utilizando las reglas de Rubin. Antes de desarrollar dicho modelo, se comprobó que los valores estaban aleatoriamente perdidos mediante el uso del módulo añadido de SPSS de valores ausentes.

Se analizó la supervivencia de los diferentes subgrupos mediante curvas Kaplan-Meier, y se evaluó la presencia de diferencias mediante el test *log-rank*. Se completó el análisis de supervivencia mediante pruebas multivariadas de regresión de Cox.

Para el estudio de las diferencias entre los pacientes con asociación clínica frente a histológica de nevo con melanoma, se realizó el cálculo de variables secundarias, a partir de las cuales se procedió a un estudio descriptivo, pruebas de Chi-cuadrado de las variables referidas a la asociación clínica frente a la histológica, y tests de correlación de Pearson y Rho de Spearman para conocer su concordancia diagnóstica.

El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el uso del *software* SPSS 20.0 para Windows (IBM, s.a.; Illinois, EEUU). Los valores de  $P < 0,05$  fueron considerados estadísticamente significativos y los intervalos de confianza del 95% fueron evaluados en cada estimación.

## *V. Resultados*

*Melanoma asociado a nevo melanocítico: Análisis de factores clínicos, epidemiológicos, histopatológicos y de biología molecular*



## V.1. Estudio descriptivo de la población. Estudios analíticos exploratorios

La base de datos a fecha de 30 de septiembre de 2015 incluía 1614 pacientes tratados de forma definitiva en nuestro centro, de los cuales un total de 1126 (859 pacientes con MDN, 130 pacientes con MANdis y 137 pacientes con MANcom) fueron finalmente incluidos en el estudio (figura 18).

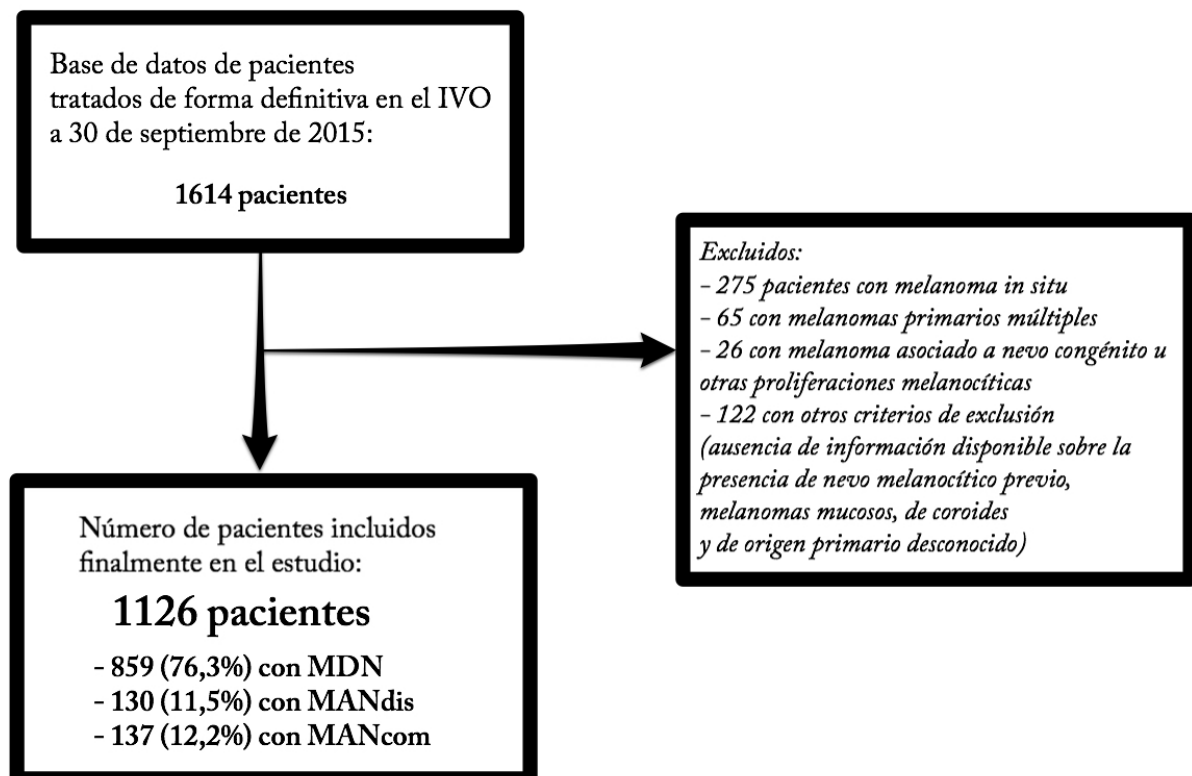


Figura 18. Diagrama de flujo del proceso de selección de los pacientes incluidos en el estudio

### V.1.1. Variables demográficas y clínicas

#### V.1.1.i) Sexo

Se incluyó a 567 mujeres (50,4%) y 559 hombres (49,6%). Se pudo observar una mayor proporción de mujeres en el grupo de pacientes con diagnóstico de MANdis. La aplicación de la prueba de Chi-cuadrado mostró diferencias significativas únicamente al comparar este último grupo con el de MDN.

Tabla 7. Distribución de los pacientes según el sexo

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Hombre	436	50,8	52	40	71	51,8	559	49,6	Global: 0,063 [a-b]: <b>0,022</b> [a-c]: 0,816 [b-c]: 0,053
Mujer	423	49,2	78	60	66	48,2	567	50,4	
<i>[valores perdidos: 0]</i>									

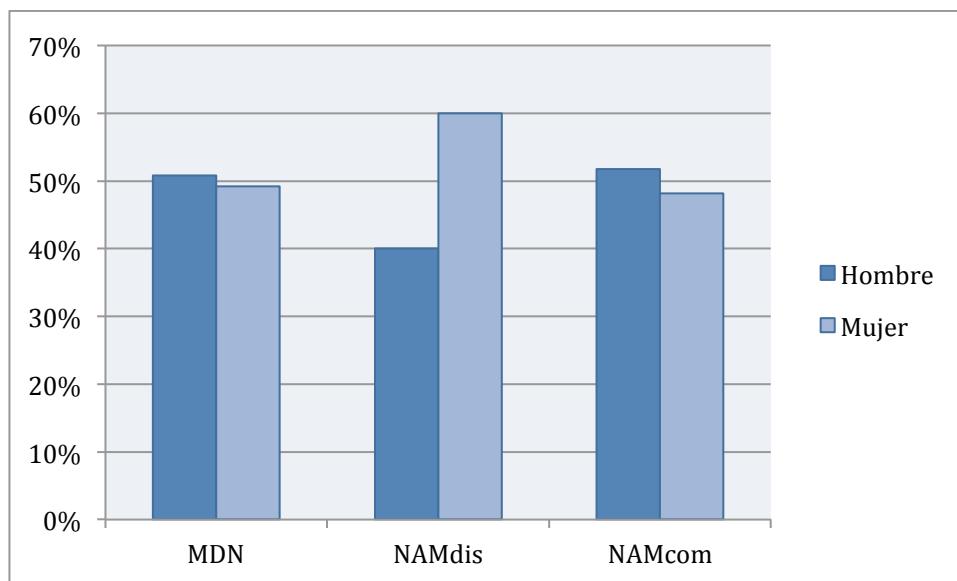


Figura 19. Distribución de los pacientes según el sexo

### V.1.1.ii) Edad

La población estudiada tenía una edad media de exéresis del melanoma de 55,47 años ( $\pm 16,74$  de desviación típica), una mediana de 56 años, y un rango intercuartílico de 43 ( $Q_{25}$ ) a 69 años ( $Q_{75}$ ). Subdividida en rangos de edad según ha quedado explicado en el apartado de material y métodos, se pudo poner de relieve la edad más joven de los pacientes con MAN.

Tabla 8. Distribución de los pacientes según la edad

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
<45 años	208	24,2	50	38,5	54	39,4	312	27,7	Global: <0,001 [a-b]: 0,001 [a-c]: <0,001 [b-c]: 0,928
45-64 años	331	38,5	47	36,2	51	37,2	429	38,1	
$\geq 65$ años	320	37,3	33	25,4	32	23,4	385	34,2	
$\leq 50$ años	302	35,2	66	50,8	72	52,6	440	39,1	Global: <0,001 [a-b]: 0,001 [a-c]: <0,001 [b-c]: 0,770
>50 años	557	64,8	64	49,2	65	47,4	686	60,9	
$\leq 37,5$ años	128	14,9	22	16,9	37	27,0	187	16,6	Global: 0,002 [a-b]: 0,549 [a-c]: <0,001 [b-c]: 0,047
>37,5 años	731	85,1	108	83,1	100	73,0	939	83,4	
<i>[valores perdidos: 0]</i>									

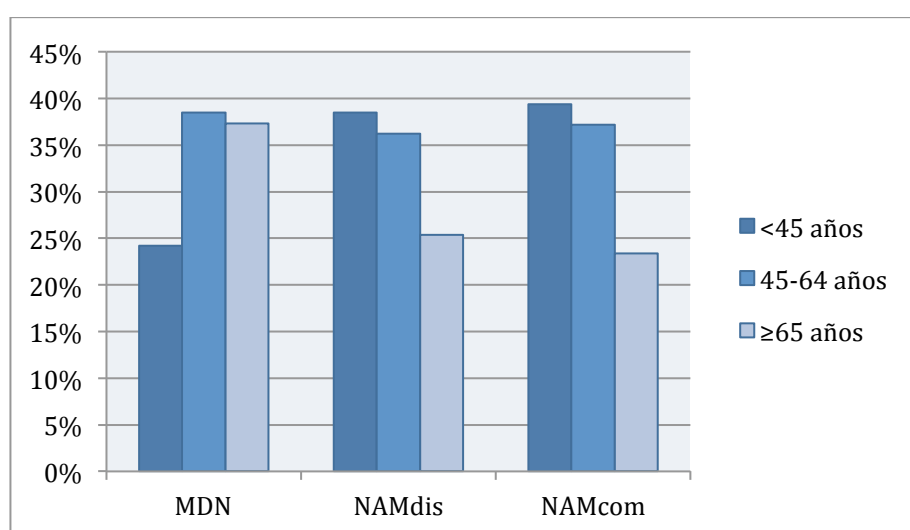


Figura 20. Distribución de los pacientes según la edad

V.1.1.iii) *Fototipo de Fitzpatrick*

En la población predominaban los fototipos más oscuros. No se hallaron diferencias significativas en cuanto al fototipo entre subgrupos.

Tabla 9. Distribución de los pacientes según el fototipo

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Fototipos I y II	291	34,7	45	34,6	52	38,0	388	35,1	Global: 0,753 [a-b]: 0,988 [a-c]: 0,457 [b-c]: 0,570
Fototipo III o mayor	548	65,3	85	65,4	85	62,0	718	64,9	
<i>[valores perdidos: 20]</i>									

V.1.1.iv) *Color de los ojos*

En la población predominaban los ojos de color marrón. No se observaron diferencias significativas en la distribución del color de los ojos entre los diferentes subgrupos.

Tabla 10. Distribución de los pacientes según el color de los ojos

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Negros	16	2,0	3	2,4	1	0,8	20	1,9	Global: 0,174 [a-b]: 0,292 [a-c]: 0,124 [b-c]: 0,581
Marrones	459	56,9	75	59,1	84	65,6	618	58,2	
Azules	163	20,2	17	13,4	16	12,5	196	18,5	
Verdes	169	20,9	32	25,2	27	21,1	228	21,5	
Oscuros	475	58,9	78	61,4	85	66,4	638	60,1	Global: 0,255 [a-b]: 0,586 [a-c]: 0,374 [b-c]: 0,407
Claros	332	41,1	49	38,6	43	33,6	424	39,9	
<i>[valores perdidos: 64]</i>									

V.1.1.v) *Color del cabello (a los 20 años de edad)*

Con un predominio de cabellos de tonalidades oscuras en la población, no se identificaron diferencias significativas entre subgrupos.

Tabla 11. Distribución de los pacientes según el color del cabello

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Negro/castaño	660	78,7	97	75,2	103	75,2	860	77,8	Global: 0,358 [a-b]: 0,671 [a-c]: 0,152 [b-c]: 0,560
Rubio	152	18,1	27	20,9	25	18,2	204	18,5	
Pelirrojo	27	3,2	5	3,9	9	6,6	41	3,7	
Negro	134	17,0	23	18,9	16	12,4	173	16,6	Global: 0,593 [a-b]: 0,842 [a-c]: 0,285 [b-c]: 0,510
Castaño oscuro	269	34,1	39	32,0	45	34,9	353	33,9	
Castaño claro	208	26,3	28	23,0	34	26,4	270	25,9	
Rubio	152	19,2	27	22,1	25	19,4	204	19,6	
Pelirrojo	27	3,4	5	4,1	9	7,0	41	3,9	
<i>[valores perdidos: 21 -clasificación en 3 categorías- / 85 -clasificación en 5 categorías-]</i>									

V.1.1.vi) *Índice de masa corporal*

No se observaron diferencias significativas entre subgrupos al analizar el índice de masa corporal de los pacientes.

Tabla 12. Distribución de los pacientes según el índice de masa corporal (IMC)

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Delgadez	7	1,2	1	1,0	0	0,0	8	1,0	Global: 0,501 [a-b]: 0,767 [a-c]: 0,256 [b-c]: 0,310
Normopeso	216	35,9	39	40,2	31	33,7	286	36,2	
Sobrepeso	273	45,4	42	43,3	37	40,2	352	44,6	
Obesidad	97	16,1	15	15,5	23	25,0	135	17,1	
Obesidad mórbida	8	1,3	0	0	1	1,1	9	1,1	
<i>[valores perdidos: 336]</i>									

### V.1.1.vii) Localización anatómica del melanoma

Se identificó un predominio claro de los MAN en tronco. Aunque se observó cierta preeminencia de la localización en extremidades superiores entre los pacientes con MANdis, no se llegó a la significación estadística al comparar entre subgrupos de MAN.

Tabla 13. Distribución de los pacientes según la localización anatómica del melanoma

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Cabeza/cuello	169	19,7	9	6,9	16	11,7	194	17,2	Global: <0,001 [a-b]: <0,001 [a-c]: <0,001 [b-c]: 0,110
EESS	117	13,6	27	20,8	20	14,6	164	14,6	
Tronco	291	33,9	71	54,6	80	58,4	442	39,3	
EEII	193	22,5	21	16,2	14	10,2	228	20,2	
Acral	89	10,4	2	1,5	7	5,1	98	8,7	
Tronco y EESS	408	47,5	98	75,4	100	73,0	606	53,8	Global: <0,001 [a-b]: <0,001 [a-c]: <0,001 [b-c]: 0,655
Cabeza/cuello, EEII y acral	451	52,5	32	24,6	37	27,0	520	46,2	
<i>[valores perdidos: 0]</i>									

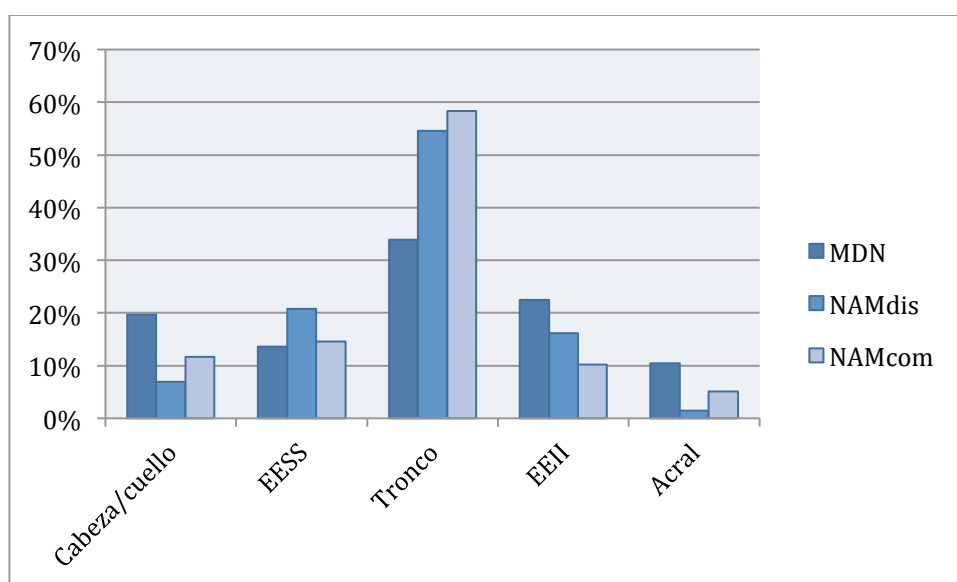


Figura 21. Distribución de los pacientes según la localización del melanoma

V.1.1.viii) *Localización descubierta u oculta del melanoma*

Se encontraron diferencias significativas en cuanto a la localización descubierta u oculta del melanoma, con una mayor proporción de MDN en localizaciones visibles para el paciente, y mayor tendencia de los MAN a localizarse en áreas visibles para un conviviente íntimo.

Tabla 14. Distribución de los pacientes según la localización descubierta u oculta del melanoma

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Localización visible para el paciente	447	59,0	63	52,1	54	45,8	564	56,6	Global: <b>0,003</b> [a-b]: <b>0,010</b> [a-c]: <b>0,011</b> [b-c]: 0,187
Visible para un conviviente íntimo	270	35,6	57	47,1	59	50,0	386	38,7	
Oculto para ambos	41	5,4	1	0,8	5	4,2	47	4,7	

*[valores perdidos: 129]*

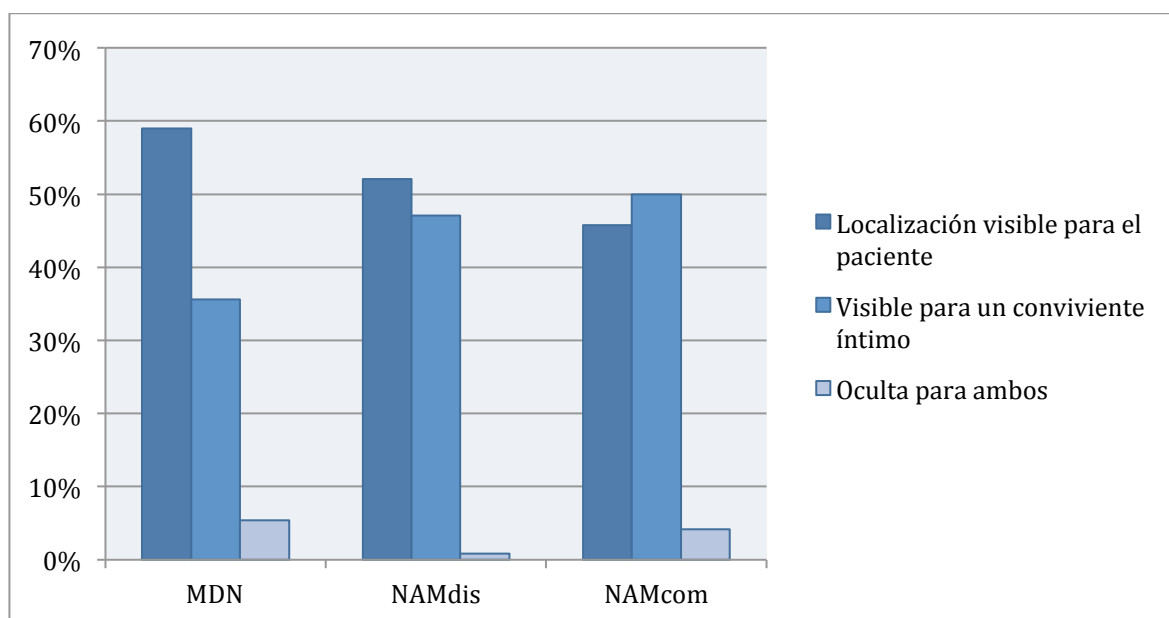


Figura 22. Distribución de los pacientes según la localización descubierta u oculta del melanoma

V.1.1.ix) "Fotolocalización" del melanoma y localización CSD

La localización del melanoma en función del patrón de exposición solar puso en relieve el predominio de MDN en zonas de exposición solar crónica, así como un cierto "gradiente": los MDN con mayor frecuencia se localizaban en áreas de fotoexposición crónica, seguidos de los MANcom y los MANdis, si bien no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los subgrupos de MAN.

Tabla 15. Distribución de los pacientes según la "fotolocalización" del melanoma

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Área oculta al sol siempre	104	12,1	6	4,6	15	10,9	125	11,1	Global: <0,001 [a-b]: <0,001 [a-c]: 0,013 [b-c]: 0,062
Área expuesta solo en verano	565	65,8	110	84,6	106	77,4	781	69,4	
Área expuesta todo el año	190	22,1	14	10,8	16	11,7	220	19,5	
Área no-CSD	496	81,2	85	93,4	59	84,3	640	82,9	Global: 0,015 [a-b]: 0,004 [a-c]: 0,526 [b-c]: 0,143
Área CSD	115	18,8	6	6,6	11	15,7	132	17,1	

*[valores perdidos: 0 -en la primera clasificación- / 354 -en la clasificación CSD-]*

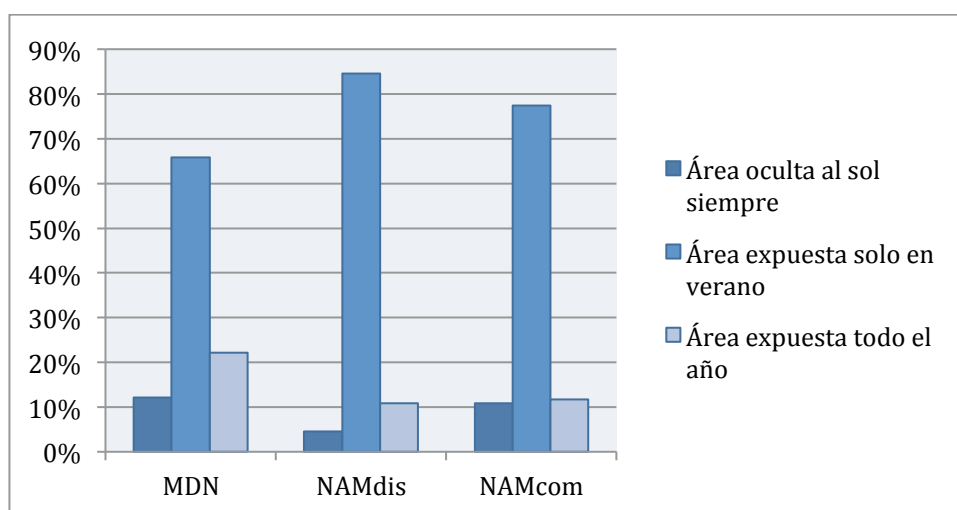


Figura 23. Distribución de los pacientes en función de la "fotolocalización" del melanoma

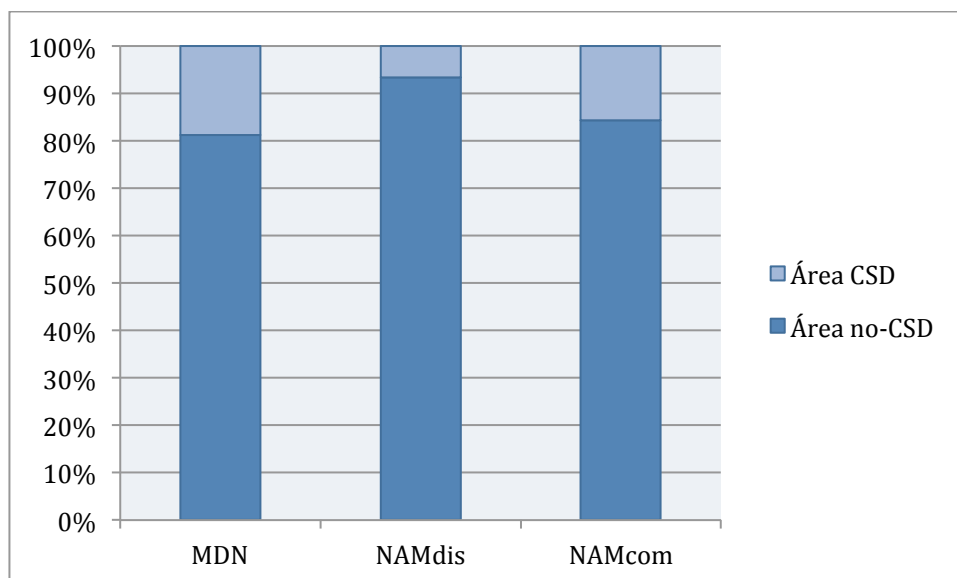


Figura 24. Distribución de los pacientes según la localización del melanoma en áreas CSD frente a no-CSD

#### V.1.1.x) Hábito tabáquico

Aunque se observó una discreta tendencia a un mayor hábito tabáquico entre los pacientes afectados de MANcom, no alcanzó la significación estadística.

Tabla 16. Distribución de los pacientes según el hábito tabáquico

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
No fumador	426	49,6	70	53,8	67	48,9	563	50,0	Global: 0,240 [a-b]: 0,102 [a-c]: 0,792 [b-c]: 0,091
<20 años/paquete	179	20,8	33	25,4	26	19,0	238	21,1	
≥20 años/paquete	254	29,6	27	20,8	44	32,1	325	28,9	

*[valores perdidos: 0]*

V.1.1.xi) *Antecedentes de exposición solar laboral*

La distribución de esta variable favorecía los antecedentes de fotoexposición laboral entre los pacientes con MDN. Esto era más patente si había tenido una duración mayor de 30 años, con diferencias significativas al comparar MDN con MANdis. Los pacientes con MANdis tenían con menor frecuencia antecedentes de fotoexposición laboral, sobre todo si había sido de larga duración.

Tabla 17. Distribución de los pacientes según los antecedentes de exposición solar laboral

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Profesión no expuesta al sol	593	72,7	105	81,4	96	75,6	794	74,1	Global: 0,101 [a-b]: <b>0,036</b> [a-c]: 0,490 [b-c]: 0,258
Profesión con fotoexposición habitual	223	27,3	24	18,6	31	24,4	278	25,9	
≤30 años de fotoexposición laboral	708	87,3	121	95,3	118	92,9	947	88,9	Global: <b>0,009</b> [a-b]: <b>0,009</b> [a-c]: 0,070 [b-c]: 0,425
>30 años de fotoexposición laboral	103	12,7	6	4,7	9	7,1	118	11,1	

*[valores perdidos: 54]*

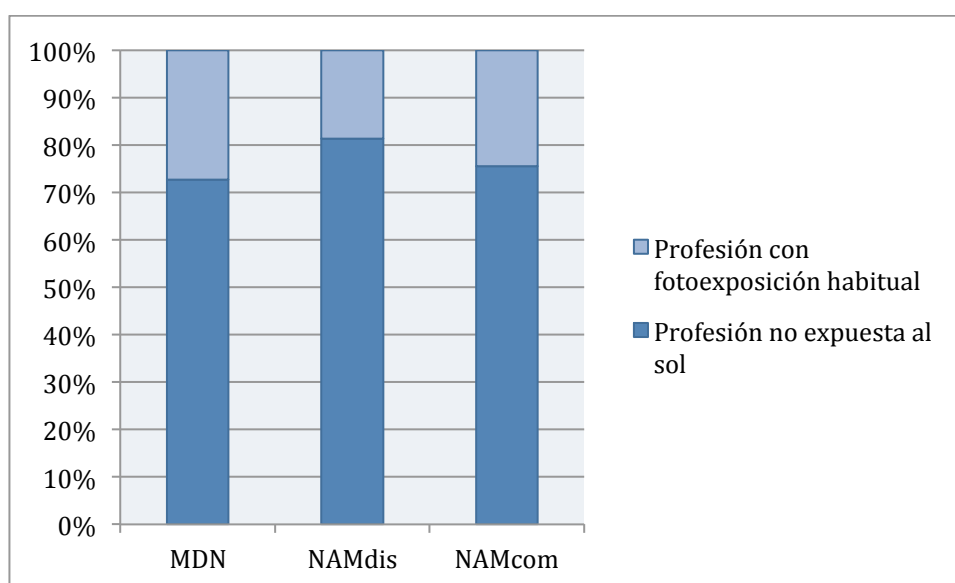


Figura 25. Distribución de los pacientes según los antecedentes de exposición solar laboral

V.1.1.xii) *Antecedentes de quemaduras solares intensas*

Los pacientes con MANcom tuvieron con mayor frecuencia que los MDN, de forma estadísticamente significativa, antecedentes de quemaduras solares intensas. Aunque el subgrupo de MANDis presentaba mayor frecuencia de estas que el de MDN, no se encontraron diferencias significativas.

Tabla 18. Distribución de los pacientes según los antecedentes de quemaduras solares intensas

	a) MDN		b) MANDis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Sin antecedentes de quemaduras solares intensas	430	51,4	59	45,7	53	38,7	542	49,1	Global: <b>0,016</b> [a-b]: 0,233 [a-c]: <b>0,006</b> [b-c]: 0,244
Con antecedentes de quemaduras solares intensas	407	48,6	70	54,3	84	61,3	561	50,9	
<i>[valores perdidos: 23]</i>									

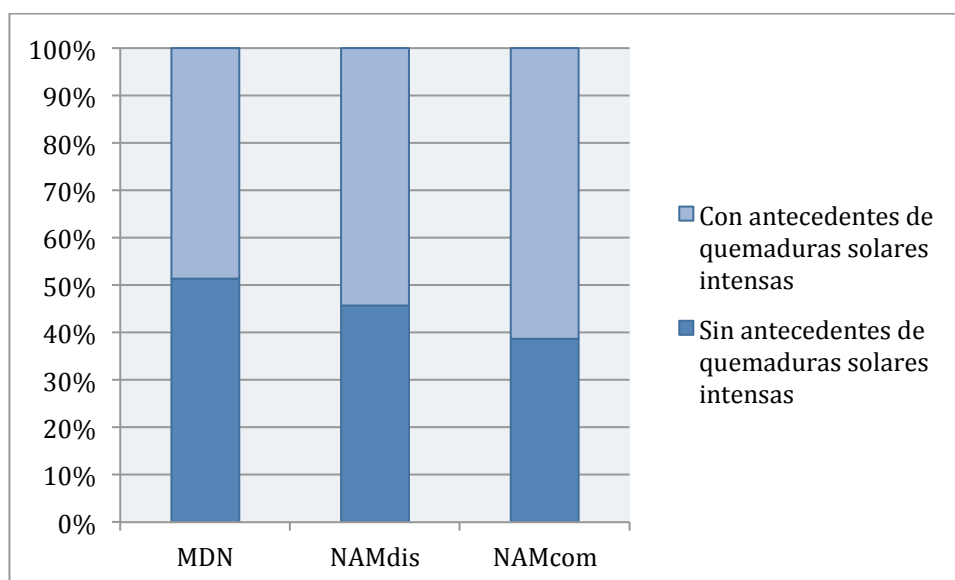


Figura 26. Distribución de los pacientes según los antecedentes de quemaduras solares intensas en cualquier parte de la superficie corporal

V.1.1.xiii) *Antecedentes de quemaduras solares en el área del melanoma*

La presencia de antecedentes de quemaduras solares en el área del melanoma (leves o intensas) se pudo comprobar en mayor medida en los pacientes con MAN. El antecedente de quemaduras solares leves se podía ver en mayor proporción entre los pacientes con MANdis y el de intensas entre aquellos con MANcom (figura 27), pero no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre subgrupos de MAN.

Tabla 19. Distribución de los pacientes según los antecedentes de quemaduras solares en el área del melanoma

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Ausencia	303	38,7	31	25,6	29	23,4	363	35,3	Global: <b>0,001</b> [a-b]: <b>0,014</b> [a-c]: <b>0,002</b> [b-c]: 0,292
Leves	297	38,0	60	49,6	53	42,7	410	39,9	
Intensas	182	23,3	30	24,8	42	33,9	254	24,7	
Ausencia de antecedentes	303	38,7	31	25,6	29	23,4	363	35,3	Global: <b>&lt;0,001</b> [a-b]: <b>0,005</b> [a-c]: <b>0,001</b> [b-c]: 0,685
Presencia de antecedentes	479	61,3	90	74,4	95	76,6	664	64,7	

*[valores perdidos: 99]*

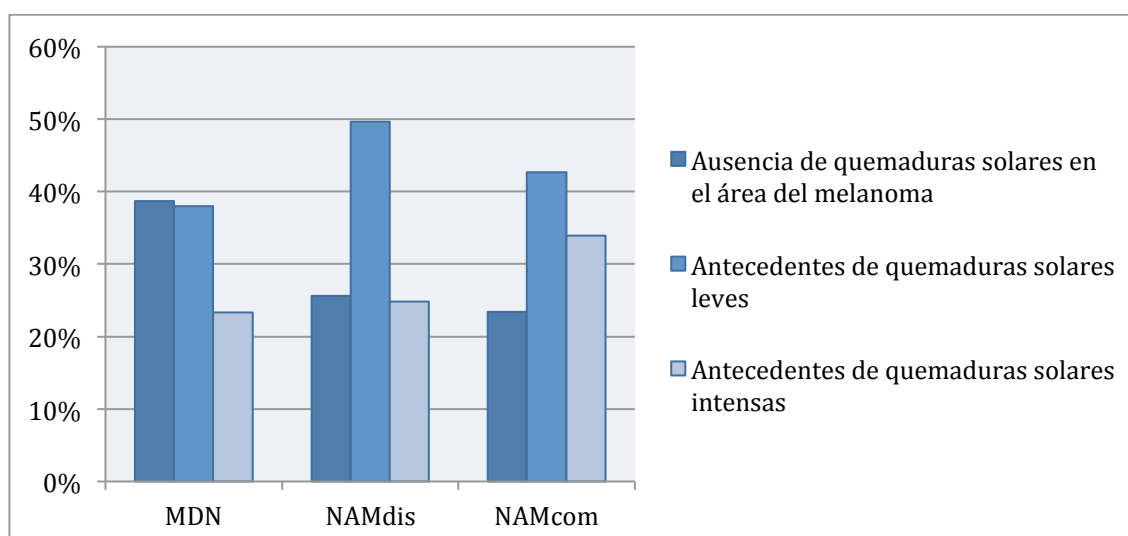


Figura 27. Distribución de los pacientes en función de los antecedentes de quemaduras solares en el área del melanoma y su intensidad

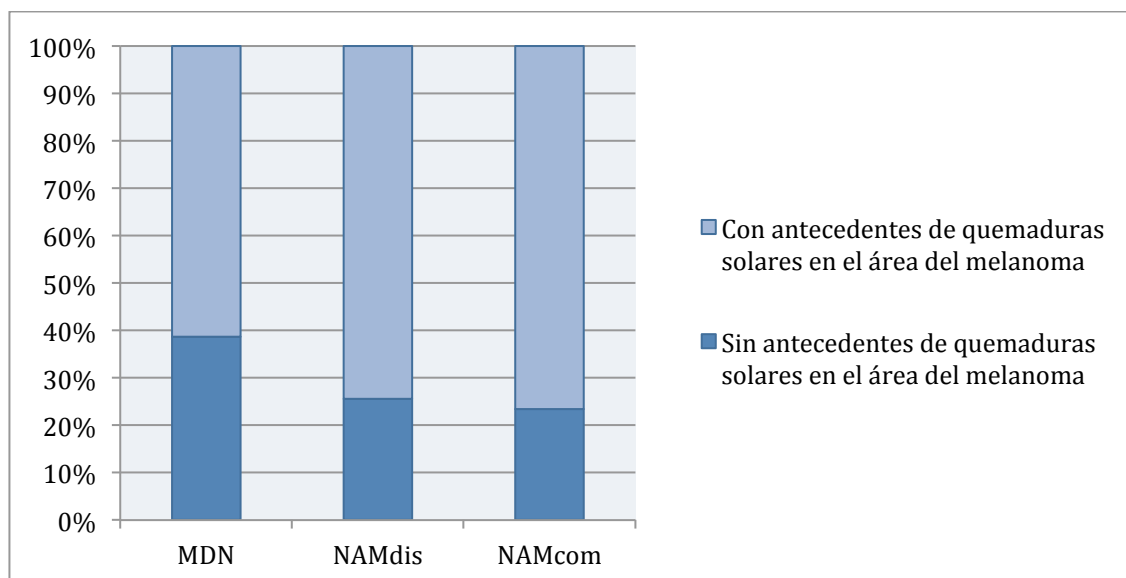


Figura 28. Distribución de los pacientes en función de los antecedentes de quemaduras solares en el área del melanoma

#### V.1.1.xiv) Número de nevos melanocíticos en el tegumento

El número total de nevos melanocíticos en el tegumento era mayor entre los pacientes con MAN, de forma más significativa entre aquellos con MANcom al compararlos con los MDN. Aunque la proporción de pacientes con >100 nevos melanocíticos era relativamente pequeña, era superior en los pacientes con MANdis, si bien no se encontraron diferencias significativas al comparar subgrupos de MAN.

Tabla 20. Distribución de los pacientes según el número de nevos melanocíticos en el tegumento

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
≤20 nevos	577	73,6	84	67,7	78	60,5	739	71,3	Global: <b>0,019</b> [a-b]: 0,413 [a-c]: <b>0,004</b> [b-c]: 0,414
21-50 nevos	122	15,6	21	16,9	24	18,6	167	16,1	
51-100 nevos	59	7,5	12	9,7	21	16,3	92	8,9	
>100 nevos	26	3,3	7	5,6	6	4,7	39	3,8	

≤20 nevos	577	73,6	84	67,7	78	60,5	739	71,3	Global: <b>0,010</b> [a-b]: 0,285 [a-c]: <b>0,002</b> [b-c]: 0,424
21-50 nevos	122	15,6	21	16,9	24	18,6	167	16,1	
>50 nevos	85	10,8	19	15,3	27	20,9	131	12,6	
≤21 nevos	431	73,7	60	61,2	53	60,2	544	70,6	Global: <b>0,003</b> [a-b]: <b>0,011</b> [a-c]: <b>0,009</b> [b-c]: 0,889
>21 nevos	154	26,3	38	38,8	35	39,8	227	29,4	
<i>[valores perdidos: 89 -4 y 3 categorías- / 355 -2 categorías, basadas en el recuento exacto del número total de nevos comunes-]</i>									

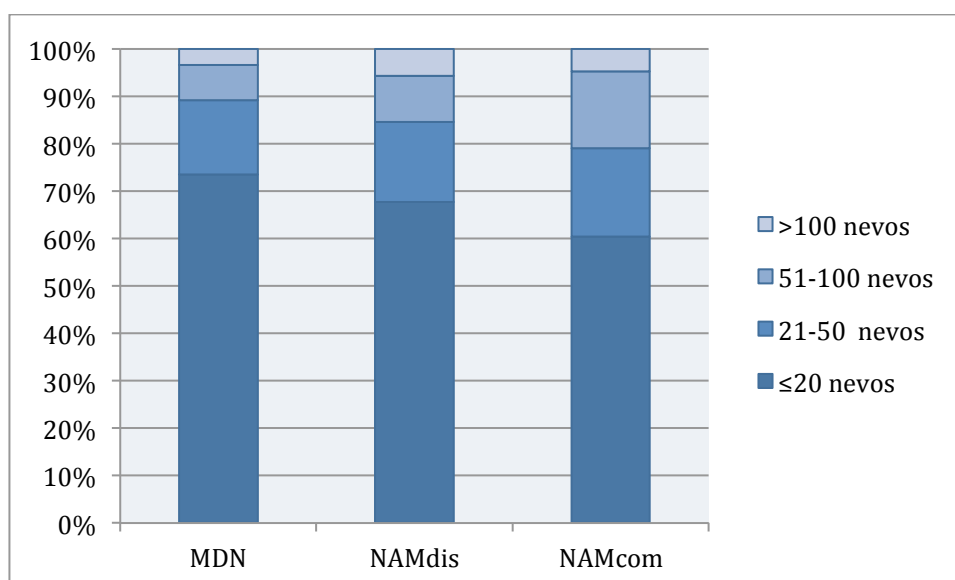


Figura 29. Distribución de los pacientes en función del número total de nevos melanocíticos en la superficie corporal

#### V.1.1.xv) Número de nevos histológicamente displásicos extirpados

La presencia de antecedentes de exéresis de al menos un nevo histológicamente displásico fue significativamente más frecuente entre los pacientes con MAN, sin diferencias entre los subgrupos de MANdis y MANcom.

Tabla 21. Distribución de los pacientes según la presencia de nevos histológicamente displásicos extirpados

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Sin nevos displásicos	700	84,5	94	74,0	100	74,1	894	82,0	Global: <b>0,001</b> [a-b]: <b>0,003</b> [a-c]: <b>0,003</b> [b-c]: <b>0,991</b>
Con al menos un nevo displásico	128	15,5	33	26,0	35	25,9	196	18,0	
<i>[valores perdidos: 36]</i>									

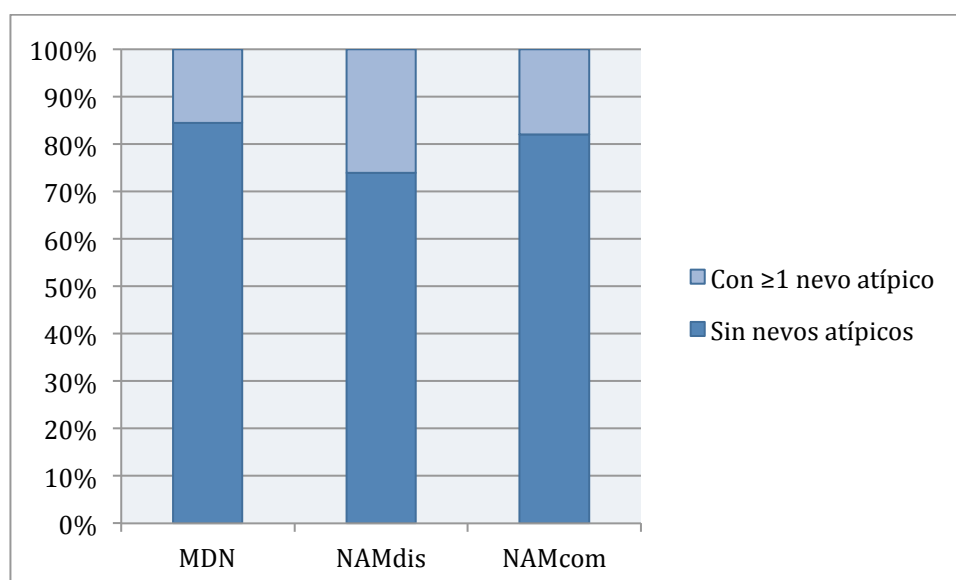


Figura 30. Distribución de los pacientes según la presencia de NCA

#### V.1.1.xvi) Presencia de nevos melanocíticos congénitos

No se encontraron diferencias significativas al analizar la presencia de al menos un nevo melanocítico congénito entre los diferentes subgrupos de pacientes.

Tabla 22. Distribución de los pacientes según la presencia de al menos un nevo melanocítico congénito

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Ninguno	612	89,6	97	86,6	92	87,6	801	89,0	Global: 0,869 [a-b]: 0,608 [a-c]: 0,820 [b-c]: 0,928
Pequeño	59	8,6	12	10,7	11	10,5	82	9,1	
Mediano	12	1,8	3	2,7	2	1,9	17	1,9	
Grande/gigante	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>[valores perdidos: 226]</i>									

### V.1.1.xvii) Patrón de nevos predominante

Respecto al patrón de nevos, se encontraron diferencias significativas entre MDN y MAN, favoreciendo la presencia de nevos entre estos últimos. Aunque se observó una tendencia al patrón lentiginoso o juntural en los pacientes con MANdis y el patrón común o intradérmico en los pacientes con MANcom, las diferencias no fueron estadísticamente significativas al comparar entre subgrupos de MAN.

Tabla 23. Distribución de los pacientes según el patrón de nevos predominante

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Sin nevos	98	19,0	7	8,2	6	7,5	111	16,3	Global: <b>0,001</b> [a-b]: <b>0,006</b> [a-c]: <b>0,004</b> [b-c]: 0,729
Lentiginoso / juntural	166	32,1	23	27,1	18	22,5	207	30,4	
Común / intradérmico	185	35,8	34	40,0	39	48,8	258	37,8	
Mixto	68	13,2	21	24,7	17	21,2	106	15,5	
<i>[valores perdidos: 444]</i>									

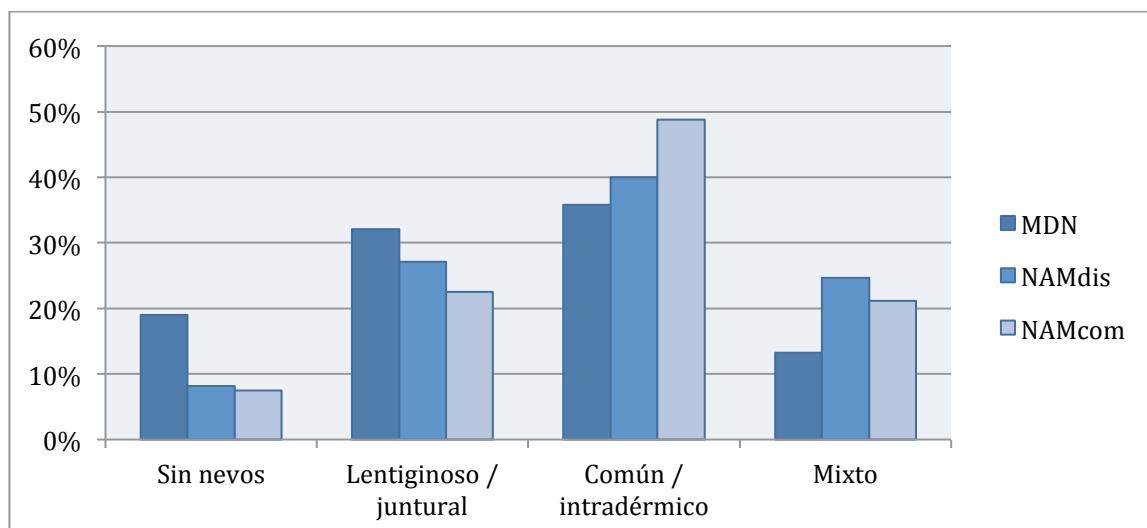


Figura 31. Distribución de los pacientes según el patrón de nevos

#### V.1.1.xviii) Número de nevos en el área del melanoma

Se observaron diferencias significativas entre MDN y MAN atendiendo al número de nevos situados en el área anatómica en la que se encontraba el melanoma, con una proporción mayor de nevos en el caso de los MANdis, pero sin diferencias significativas respecto a los MANcom.

Tabla 24. Distribución de los pacientes según el número de nevos en el área del melanoma

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
≤3 nevos	367	71,4	50	58,1	43	54,4	460	67,7	<b>Global: 0,001</b> [a-b]: 0,013 [a-c]: 0,002 [b-c]: 0,631
>3 nevos	147	28,6	36	41,9	36	45,6	219	32,3	
<i>[valores perdidos: 447]</i>									

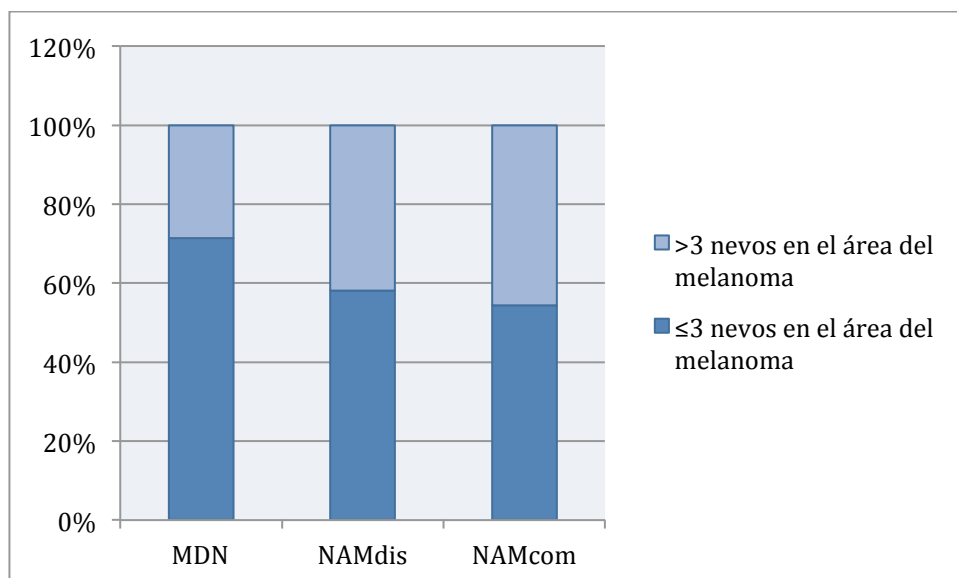


Figura 32. Distribución de los pacientes en función del número de nevos en el área del melanoma

*V.1.1.xix) Presencia de lentigos solares en el área del melanoma*

No se hallaron diferencias significativas entre subgrupos al analizar la presencia de lentigos solares en el área del melanoma.

Tabla 25. Distribución de los pacientes según la presencia de lentigos solares en el área del melanoma

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Ausencia	432	53,0	64	49,6	73	55,3	569	52,9	Global: 0,648 [a-b]: 0,473 [a-c]: 0,624 [b-c]: 0,357
Presencia	383	47,0	65	50,4	59	44,7	507	47,1	
<i>[valores perdidos: 50]</i>									

*V.1.1.xx) Presencia de efélides en la infancia*

No se encontraron diferencias significativas en cuanto a la presencia o ausencia de efélides en la infancia entre los subgrupos.

Tabla 26. Distribución de los pacientes según la presencia de efélides en la infancia

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Ausencia	477	70,1	71	63,4	71	63,4	619	68,5	Global: 0,169 [a-b]: 0,151 [a-c]: 0,151 [b-c]: 1,000
Presencia	203	29,9	41	36,6	41	36,6	285	31,5	
<i>[valores perdidos: 222]</i>									

*V.1.1.xxi) Presencia de lentigos solares en el tegumento*

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la presencia de lentigos solares entre los diferentes subgrupos.

Tabla 27. Distribución de los pacientes según la presencia de lentigos solares en el tegumento

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Ausencia de lentigos solares	102	15,0	18	15,8	22	20,0	142	15,7	Global: 0,734 [a-b]: 0,970 [a-c]: 0,367 [b-c]: 0,688
Escasos lentigos solares	269	39,4	45	39,5	43	39,1	357	39,4	
Abundantes lentigos solares	311	45,6	51	44,7	45	40,9	407	44,9	
<i>[valores perdidos: 220]</i>									

*V.1.1.xxii) Número de angiomas seniles y de queratosis seborreicas en el tegumento*

No se identificaron diferencias estadísticamente significativas a la hora de comparar el número de angiomas seniles (tabla 28) y queratosis seborreicas (tabla 29) entre los diferentes subgrupos.

Tabla 28. Distribución de los pacientes según el número de angiomas seniles en el tegumento

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
≤20	350	73,5	81	74,4	52	73,2	463	73,6	Global: 0,984 [a-b]: 0,870 [a-c]: 0,959 [b-c]: 0,872
>20	126	26,5	21	25,6	19	26,8	166	26,4	
<i>[valores perdidos: 497]</i>									

Tabla 29. Distribución de los pacientes según el número de queratosis seborreicas en el tegumento

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
≤10	666	84,8	114	90,5	117	91,4	897	86,3	Global: 0,721 [a-b]: 0,419 [a-c]: 0,904 [b-c]: 0,623
>10	119	15,2	12	9,5	11	8,6	142	13,7	
<i>[valores perdidos: 495]</i>									

*V.1.1.xxiii) Antecedentes de queratosis actínicas, de carcinoma basocelular y de carcinoma espinocelular*

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a los antecedentes de queratosis actínicas (tabla 30), carcinoma basocelular (tabla 31) y carcinoma espinocelular (tabla 32) entre los diferentes subgrupos de pacientes.

Tabla 30. Distribución de los pacientes según los antecedentes de queratosis actínicas

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
No	666	84,8	114	90,5	117	91,4	897	86,3	Global: 0,047 [a-b]: 0,094 [a-c]: 0,049 [b-c]: 0,796
Sí	119	15,2	12	9,5	11	8,6	142	13,7	
<i>[valores perdidos: 87]</i>									

Tabla 31. Distribución de los pacientes según los antecedentes de carcinoma basocelular

	a) MDN		b) MANDis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
No	890	94,2	118	90,8	129	94,2	1056	93,8	Global: 0,318 [a-b]: 0,135 [a-c]: 0,993 [b-c]: 0,293
Sí	50	5,8	12	9,2	8	5,8	70	6,2	
<i>[valores perdidos: 0]</i>									

Tabla 32. Distribución de los pacientes según los antecedentes de carcinoma espinocelular

	a) MDN		b) MANDis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
No	843	98,1	129	99,2	135	98,5	1107	98,3	Global: 0,650 [a-b]: 0,371 [a-c]: 0,742 [b-c]: 0,593
Sí	16	1,9	1	0,8	2	1,5	19	1,7	
<i>[valores perdidos: 0]</i>									

#### V.1.1.xxiv) Antecedentes personales de otros tipos de neoplasias

La presencia de antecedentes de otras neoplasias era menos frecuente en los pacientes con MANcom en comparación con los pacientes con MDN y con MANDis. Los siete tipos de cáncer encontrados en los pacientes con MANcom correspondían a: (1) tumor carcinoide de pulmón a los 44 años, (2) adenocarcinoma de colon a los 52 años, (3) adenocarcinoma renal a los 63 años, (4) tumor GIST a los 74 años, (5) cáncer de mama a los 67 años, (6) adenocarcinoma de células claras de riñón a los 67 años y (7) leiomioma cutáneo a los 46 años. Entre los 16 segundos tumores encontrados en los pacientes con MANDis predominaban los casos de cáncer de mama (6 casos).

Tabla 33. Distribución de los pacientes según los antecedentes de otros tipos de neoplasias

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Ausencia	759	88,5	114	87,7	130	94,9	1003	89,2	Global: 0,68 [a-b]: 0,799 [a-c]: <b>0,024</b> [b-c]: <b>0,036</b>
Presencia	99	11,5	16	12,3	7	5,1	122	10,8	
<i>[valores perdidos: 1]</i>									

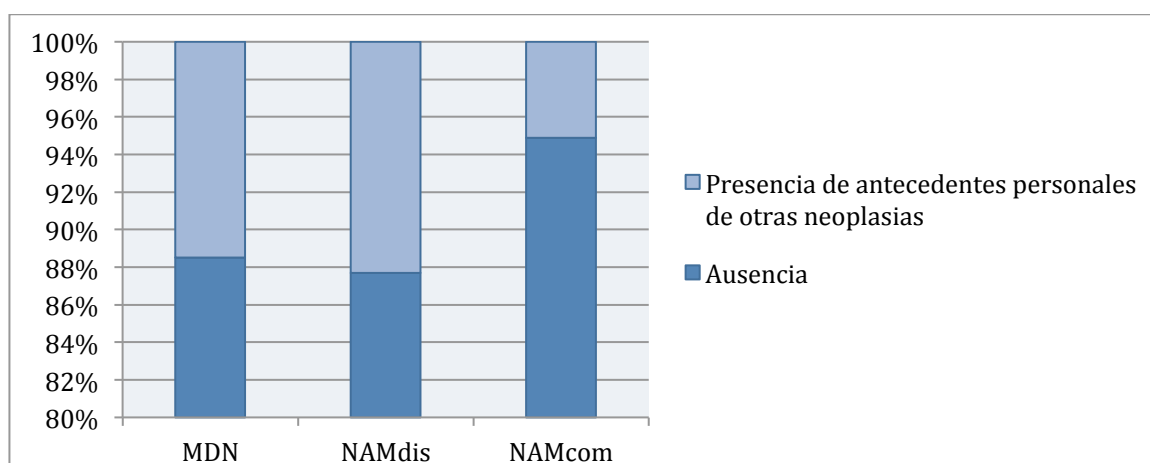


Figura 33. Distribución de los pacientes en función de los antecedentes personales de otras neoplasias

### V.1.1.xxv) Antecedentes familiares de melanoma, de cáncer de páncreas o de otras neoplasias

La presencia de antecedentes familiares de melanoma fue significativamente mayor entre los pacientes con MANdis al compararlos con los pacientes con MDN, pero no se encontraron diferencias significativas entre subgrupos de MAN (tabla 34). Tampoco hubo diferencias significativas al analizar los antecedentes familiares de cáncer de páncreas y de otras neoplasias entre los tres subgrupos de pacientes.

Tabla 34. Distribución de los pacientes según la presencia o ausencia de antecedentes familiares de melanoma

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Ausencia	802	94,9	114	89,1	130	94,9	1046	94,2	Global: <b>0,028</b> [a-b]: <b>0,009</b> [a-c]: 0,992 [b-c]: 0,079
Presencia	43	5,1	14	10,9	7	5,1	64	5,8	
<i>[valores perdidos: 16]</i>									

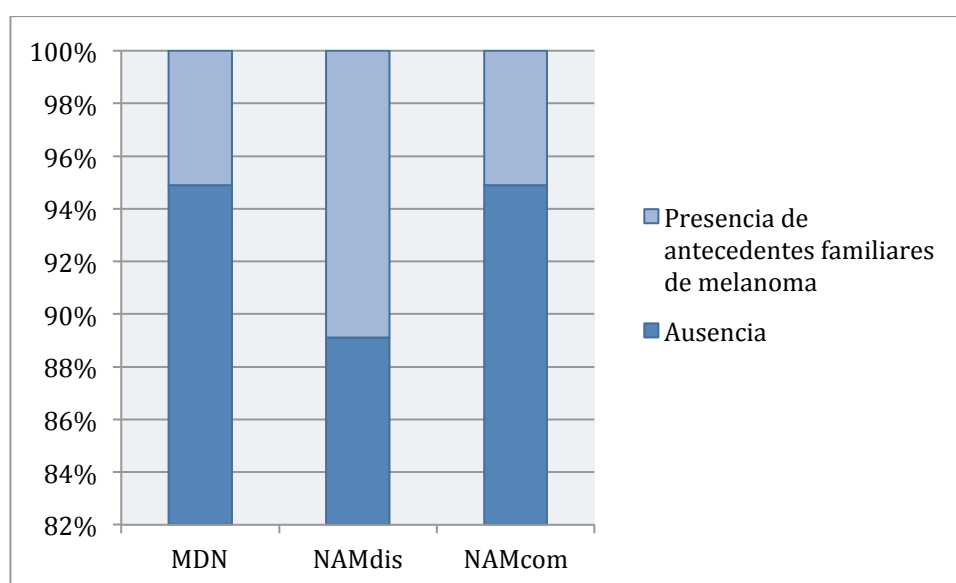


Figura 34. Distribución de los pacientes en función de los antecedentes familiares de melanoma

Tabla 35. Distribución de los pacientes según los antecedentes familiares de cáncer de páncreas

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Ausencia	815	97,4	121	94,5	132	97,1	1068	97,0	Global: 0,214 [a-b]: 0,080 [a-c]: 0,834 [b-c]: 0,304
Presencia	22	2,6	7	5,5	4	2,9	33	3,0	
<i>[valores perdidos: 25]</i>									

Tabla 36. Distribución de los pacientes según los antecedentes familiares de otras neoplasias

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
No	463	55,1	72	56,2	76	55,9	611	55,3	Global: 0,911 [a-b]: 0,780 [a-c]: 0,778 [b-c]: 0,952
Sí (en familiares 1º o 2º grado)	374	44,5	56	43,8	60	44,1	490	44,4	
Desconocido (paciente adoptado)	3	0,4	0	0	0	0	0	0,3	
<i>[valores perdidos: 22]</i>									

### V.1.1.xxvi) Estadificación del melanoma

Los pacientes con MANdis fueron diagnosticados de melanoma en estadio localizado con mayor frecuencia que los pacientes con MDN –de forma estadísticamente significativa– y MANcom –sin llegar a la significación estadística–. Cabe considerar que la proporción global de melanomas al diagnóstico en estadio localizado de la población total atendida por nuestro centro está modificada en el estudio al haber excluido, siguiendo los criterios de exclusión sistematizados en el apartado de *Material y métodos*, los pacientes con melanoma *in situ*, entre otros.

Tabla 37. Clasificación de los pacientes en función del estadio del melanoma

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Localizado	678	78,9	115	88,5	109	79,6	902	80,1	Global: 0,107 [a-b]: <b>0,034</b> [a-c]: 0,615 [b-c]: 0,141
Metástasis ganglionares	175	20,4	14	10,8	26	19,0	215	19,1	
Metástasis sistémicas	6	0,7	1	0,8	2	1,5	9	0,8	
<i>[valores perdidos: 0]</i>									

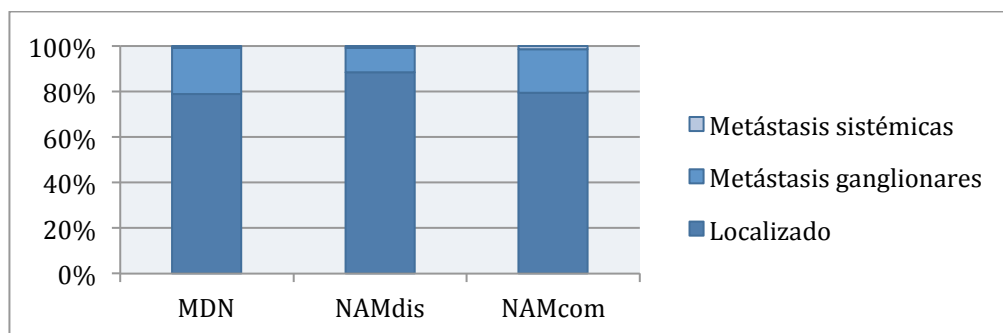


Figura 35. Clasificación de los pacientes en función del estadio del melanoma

### V.1.1.xxvii) Resultado del ganglio centinela

Aunque se podía ver una tendencia estadística que favorecía una mayor proporción de MANcom y MDN con ganglio centinela positivo, esta no fue significativa.

Tabla 38. Distribución de los pacientes en función de la presencia o ausencia de una primera recaída del melanoma tras el diagnóstico inicial

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Negativo	378	72,6	51	82,3	64	73,6	493	73,6	Global: 0,246 [a-b]: 0,245 [a-c]: 0,270 [b-c]: 0,344
Positivo	109	20,9	9	14,5	21	24,1	139	20,7	
No identificable	34	6,5	2	3,2	2	2,3	38	5,7	

*[valores perdidos: 456]*

### V.1.1.xxviii) Recaída de la enfermedad tras el diagnóstico inicial de melanoma y muerte por melanoma

El hecho de darse una recaída del melanoma a lo largo del seguimiento tras el diagnóstico inicial se dio con más frecuencia entre los pacientes con MDN y MANcom, de forma estadísticamente significativa. Esta variable se encuentra analizada con más detalle en los análisis de supervivencia libre de enfermedad descritos más adelante.

Tabla 39. Distribución de los pacientes en función de la presencia o ausencia de una primera recaída del melanoma tras el diagnóstico inicial

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
No	661	76,9	120	92,3	114	83,2	895	79,5	Global: <0,001 [a-b]: <0,001 [a-c]: 0,101 [b-c]: 0,024
Sí	198	23,1	10	7,7	23	16,8	231	20,5	
<i>[valores perdidos: 0]</i>									

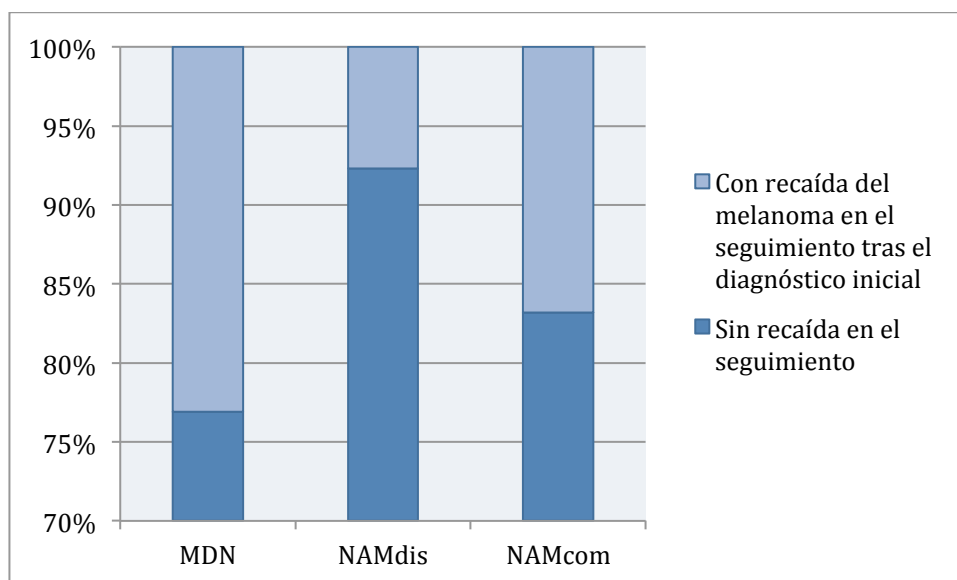


Figura 36. Distribución de los pacientes en función de la presencia o ausencia de recaída tras el diagnóstico inicial del melanoma

Respecto a la ocurrencia de muerte específica por melanoma, esta se vio de forma significativamente más frecuente entre los pacientes con MDN. Aunque con una distribución parecida a la anterior variable (esto es, mayor frecuencia en MDN, seguido de MANcom, a distancia de MANdis), solo se encontraron diferencias significativas al comparar los pacientes con MANdis y MDN.

Tabla 40. Distribución de los pacientes en función de si dio lugar o no el éxito debido al melanoma en el seguimiento

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
No	730	85,0	123	94,6	121	88,3	974	86,5	<b>Global: 0,009</b> <b>[a-b]: 0,003</b> [a-c]: 0,303 [b-c]: 0,067
Sí	129	15,0	7	5,4	16	11,7	152	13,5	
<i>[valores perdidos: 0]</i>									

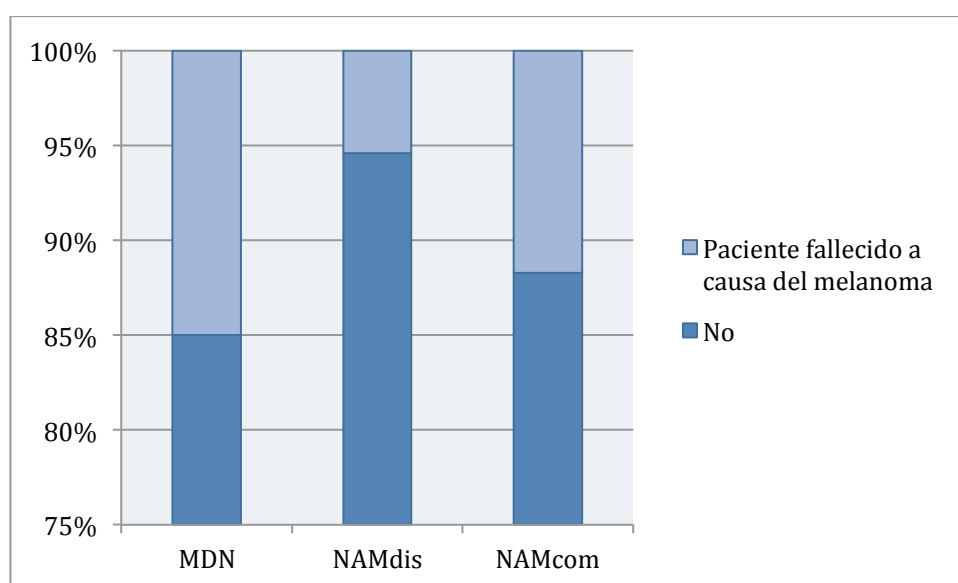


Figura 37. Distribución de los pacientes en función de la ocurrencia de muerte específica por melanoma

## V.1.2. Variables histopatológicas

### V.1.2.i) Subtipo histológico de melanoma:

Al analizar el subtipo histológico de melanoma, se pudo observar que los MAN fueron predominantemente del tipo extensión superficial (MES), sin diferencias entre subtipos de MAN.

Tabla 41. Distribución de los pacientes en función del tipo histológico de melanoma

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
LMM	67	7,8	0	0	2	1,5	69	6,1	Global: <0,001 [a-b]: <0,001 [a-c]: <0,001 [b-c]: 0,207
MES	478	55,6	109	83,8	113	82,5	700	62,2	
MN	201	23,4	18	13,8	18	13,1	237	21,0	
MLA	51	5,9	0	0	3	2,2	54	4,8	
Otros / sin especificar	62	7,2	3	2,3	1	0,7	66	5,9	

*[valores perdidos: 0]*

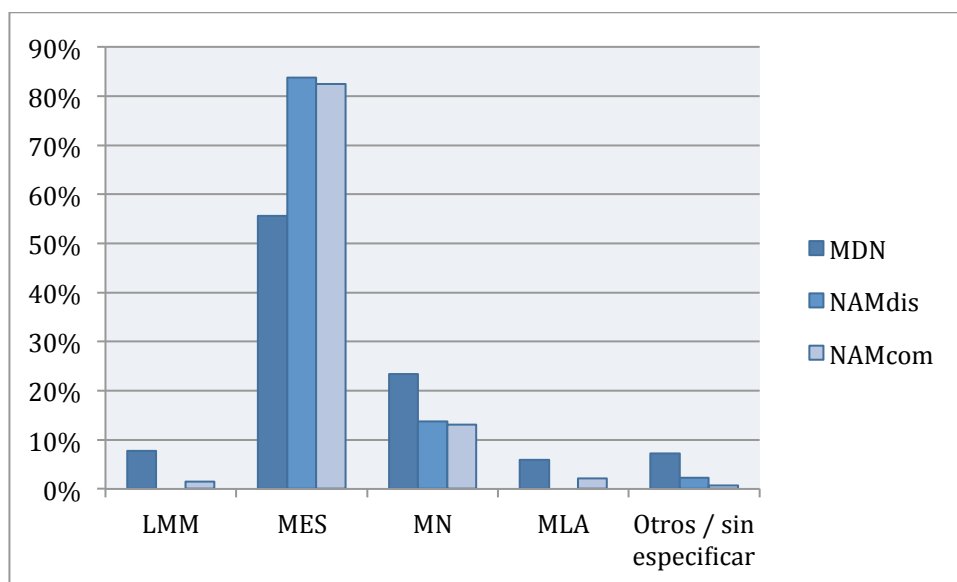


Figura 38. Distribución de los pacientes atendiendo al tipo histológico de melanoma

V.1.2.ii) Índice de Breslow

Se observó un cierto “gradiente” significativo mostrando un mayor espesor de Breslow entre los MDN, seguido de los MANcom y finalmente de los MANdis. La distribución de esta variable atendiendo al punto de corte de 1,865 mm fijado por la metodología CRT no mostró diferencias significativas al comparar subgrupos de MAN.

Tabla 42. Distribución de los pacientes en función del espesor de Breslow

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
≤1 mm	351	40,9	86	66,2	68	49,6	505	44,9	Global: <0,001 [a-b]: <0,001 [a-c]: 0,005 [b-c]: 0,045
1,01-2,0	192	22,4	26	20,0	40	29,2	258	22,9	
2,01-4,0	174	20,3	12	9,2	16	11,7	202	18,0	
>4,0	141	16,4	6	4,6	13	9,5	160	14,2	
≤1,865 mm	511	59,6	110	84,6	104	76,5	725	64,5	Global: <0,001 [a-b]: <0,001 [a-c]: <0,001 [b-c]: 0,094
>1,865 mm	347	40,4	20	15,4	32	23,5	399	35,5	

[valores perdidos: 1 –en categorización siguiendo guías de la AJCC– / 2 –siguiendo dos categorías–]

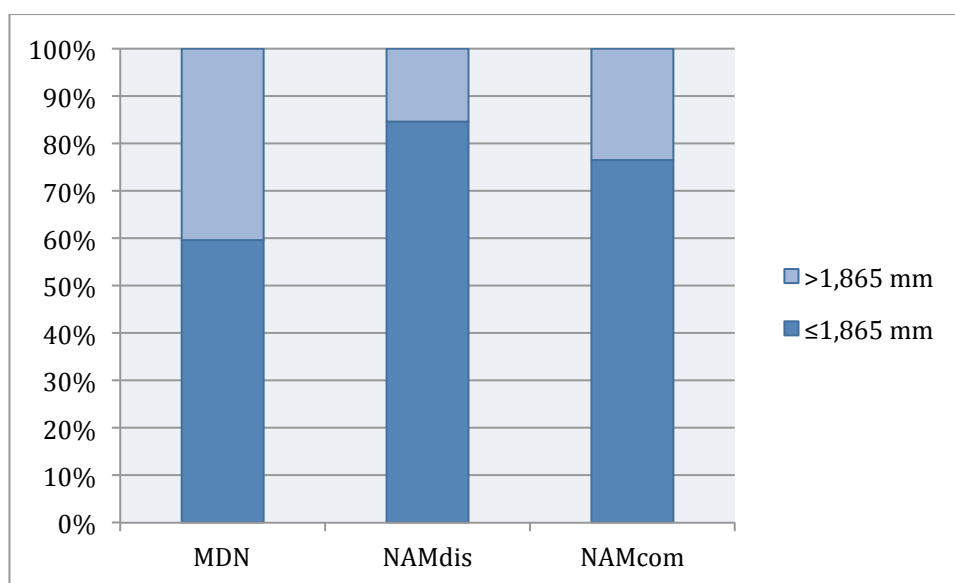


Figura 39. Distribución de los pacientes en función del índice de Breslow

V.1.2.iii) *Presencia de ulceración histológica*

Se observó significativamente mayor presencia de ulceración entre MDN, seguido de MANcom y finalmente de MANdis. No se observaron diferencias significativas al comparar subgrupos de MAN.

Tabla 43. Distribución de los pacientes en función de la ulceración histológica

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Ausencia	621	72,8	113	87,6	113	83,1	847	75,8	<b>Global: &lt;0,001</b> [a-b]: <0,001 [a-c]: <b>0,011</b> [b-c]: 0,300
Presencia	232	27,2	16	12,4	23	16,9	271	24,2	

*[valores perdidos: 2]*

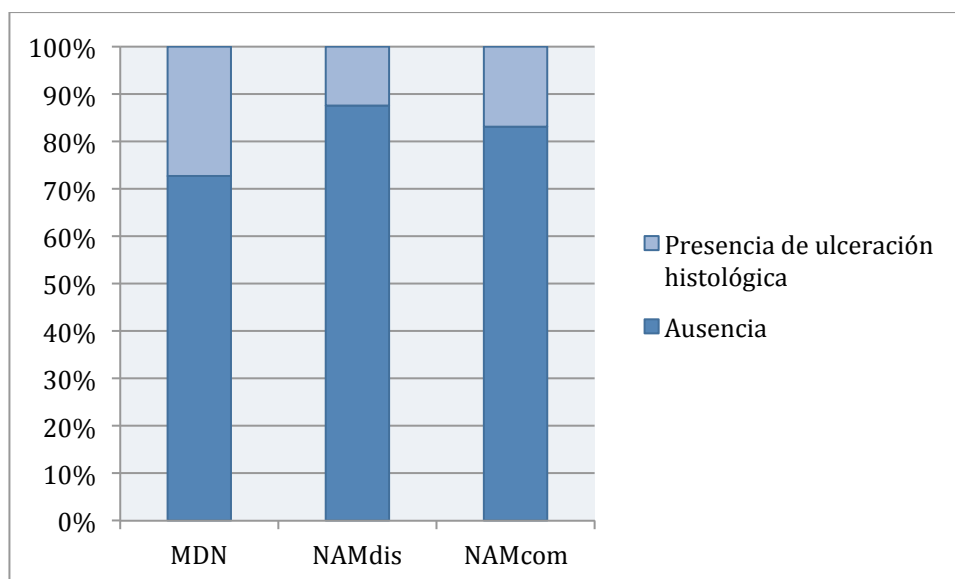


Figura 40. Distribución de los pacientes en función de la ulceración histológica

V.1.2.iv) *Presencia y número de mitosis*

El análisis del número de mitosis por mm<sup>2</sup> en la pieza histológica mostró una mayor presencia de mitosis entre los MDN, seguido de los MANcom y por último de los

MANdis. Hubo diferencias significativas al observar mayor presencia de mitosis en los pacientes con MANcom respecto a los pacientes con MANdis.

Tabla 44. Distribución de los pacientes en función del número de mitosis

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
0 mitosis/mm <sup>2</sup>	203	28,1	40	36,0	22	21,6	265	28,3	Global: <b>0,009</b> [a-b]: 0,064 [a-c]: <b>0,019</b> [b-c]: 0,059
1-5 mitosis/mm <sup>2</sup>	393	54,4	60	54,1	70	68,6	523	55,9	
>5 mitosis/mm <sup>2</sup>	127	17,6	11	9,9	10	9,8	148	15,8	
0 mitosis/mm <sup>2</sup>	203	28,1	40	36,0	22	21,6	265	28,3	Global: 0,062 [a-b]: 0,086 [a-c]: 0,167 [b-c]: <b>0,020</b>
≥1 mitosis/mm <sup>2</sup>	520	71,9	71	64,0	80	78,4	671	71,7	

*[valores perdidos: 54]*

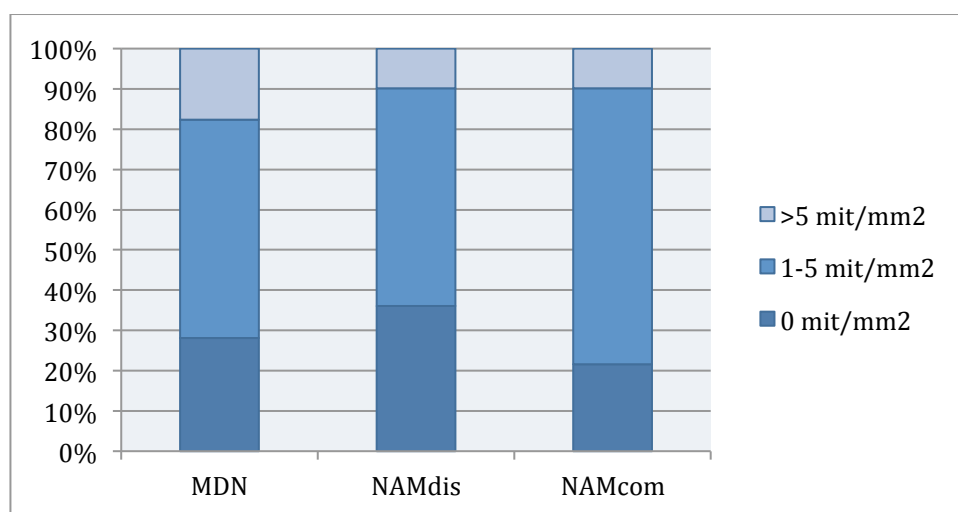


Figura 41. Distribución de los pacientes en función del número de mitosis

#### V.1.2.v) Presencia de daño solar crónico y elastosis a nivel histológico

Se pudo apreciar una mayor presencia de elastosis a nivel histológico en los pacientes con MDN, si bien esta no se alcanzó la significación estadística. Pudo observarse mayor

tendencia a elastosis histológica leve entre los pacientes con MANdis, y una distribución de dicha elastosis similar (si bien con algo menos de frecuencia) entre MANcom y MDN.

Tabla 45. Distribución de los pacientes en función de la elastosis a nivel histológico en la pieza del melanoma

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Ausente	408	66,1	67	72,8	53	75,7	528	67,8	Global: 0,145 [a-b]: 0,202 [a-c]: 0,106 [b-c]: 0,678
Presente	209	33,9	25	27,2	17	24,3	251	32,2	
Ausente	408	66,8	67	73,6	54	77,1	529	68,5	Global: 0,055 [a-b]: <b>0,026</b> [a-c]: 0,369 [b-c]: 0,185
Leve	68	11,1	15	16,5	5	7,1	88	11,4	
Moderada	57	9,3	6	6,6	5	7,1	68	8,8	
Intensa	78	12,8	3	3,3	6	8,6	87	11,3	

*[valores perdidos: 347 –clasificación en función de presencia o ausencia– / 354 –clasificación en categorías–]*

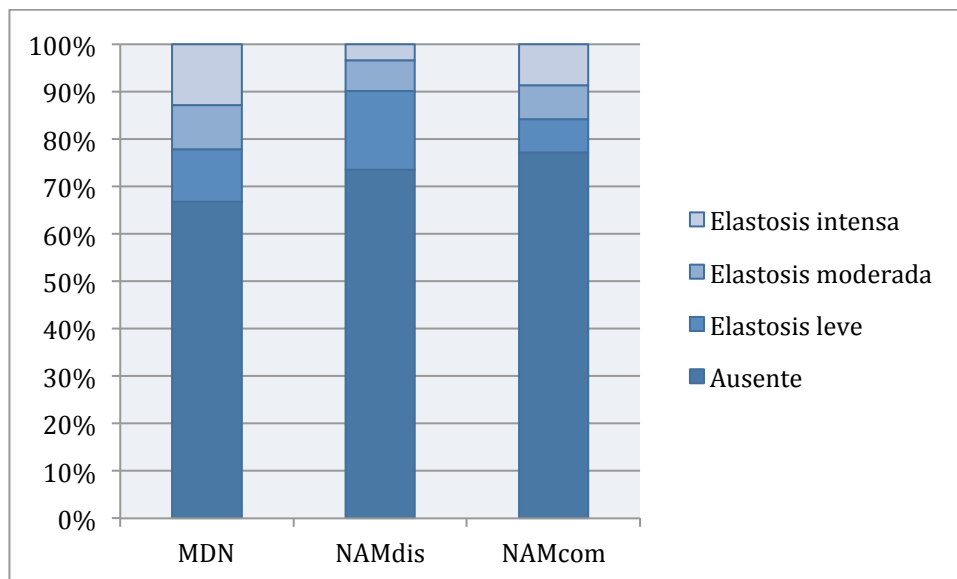


Figura 42. Distribución de los pacientes en función del grado de elastosis histológica en la pieza del melanoma

### V.1.3. Variables genéticas

#### V.1.3.i) Presencia de mutaciones en los genes *BRAF*, *NRAS*, *KIT* y región promotora del gen *TERT*

No se encontraron diferencias significativas entre subgrupos a la hora de analizar la presencia de mutaciones en los genes *BRAF*, *NRAS*, *KIT* y región promotora del gen *TERT*, aunque podía verse una tendencia (no significativa) favoreciendo una mayor presencia de mutaciones en *BRAF* entre los pacientes con MANcom.

Tabla 46. Distribución de los pacientes en función de la presencia o ausencia de mutaciones conocidas en los genes *BRAF*, *NRAS*, *KIT* y *TERT*

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Ausencia de mutación en <i>BRAF</i>	311	64,1	41	59,4	31	51,7	383	62,4	Global: 0,148 [a-b]: 0,448 [a-c]: 0,060 [b-c]: 0,376
<i>BRAF</i> mutado	174	35,9	28	40,6	29	48,3	231	37,6	
Ausencia de mutación en <i>NRAS</i>	425	88,2	62	92,5	53	88,3	540	88,7	Global: 0,571 [a-b]: 0,290 [a-c]: 0,971 [b-c]: 0,419
<i>NRAS</i> mutado	57	11,8	5	7,5	7	11,7	69	11,3	
Ausencia de mutación en <i>KIT</i>	295	95,5	37	100	34	100	366	96,3	Global: 0,188 [a-b]: 0,186 [a-c]: 0,205 [b-c]: 1
<i>KIT</i> mutado	14	4,5	0	0	0	0	14	3,7	
Ausencia de mutación en <i>TERT</i>	172	57,3	33	67,3	19	57,6	224	58,6	Global: 0,415 [a-b]: 0,187 [a-c]: 0,979 [b-c]: 368
<i>TERT</i> mutado	128	42,7	16	32,7	14	42,4	158	41,4	
[valores perdidos: 512 - <i>BRAF</i> - / 517 - <i>NRAS</i> - / 746 - <i>KIT</i> - / 744 - <i>TERT</i> -]									

*V.1.3.ii) Presencia de variantes no-sinónimas en MC1R*

La presencia de variantes no-sinónimas se encontró significativamente de forma más frecuente entre los pacientes con MANdis al compararlos con los pacientes con MDN, concretamente las de tipo no-RHC.

Tabla 47. Distribución de los pacientes en función de la presencia de variantes no-sinónimas en el gen MC1R

	a) MDN		b) MANdis		c) MANcom		Total		p-valor
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Ausente	278	37,4	29	23,8	36	30,3	343	34,9	Global: <b>0,041</b> [a-b]: <b>0,013</b> [a-c]: 0,316 [b-c]: 0,525
Presente 1	298	40,1	61	50,0	54	45,4	413	42,0	
Presentes ≥2 variantes (de cualquier tipo)	167	22,5	32	26,2	29	24,4	228	23,2	
Ausente	543	72,8	90	73,8	80	67,2	712	72,3	Global: 0,412 [a-b]: 0,832 [a-c]: 0,204 [b-c]: 0,265
Presente ≥1 variante RHC	202	27,2	32	26,2	39	32,8	273	27,7	
Ausente	402	53,9	53	43,4	60	50,4	514	52,2	Global: 0,093 [a-b]: <b>0,032</b> [a-c]: 0,480 [b-c]: 0,278
Presente ≥1 variante no-RHC	343	46,1	69	56,6	59	49,6	471	47,8	
<i>[valores perdidos: 142]</i>									

## V.2. Estudio analítico de factores asociados a MAN mediante regresión logística

### V.2.1. Comparación de MANdis frente a MDN

En la tabla 48 quedan sistematizados los análisis de regresión efectuados para comparar los grupos de pacientes con MANdis frente a MDN.

Tras ajuste multivariado, los análisis pusieron de relieve que los pacientes con MANdis, en comparación con aquellos con MDN, más frecuentemente:

- Son de sexo femenino.
- Presentan melanomas localizados en tronco, seguido de extremidades superiores y finalmente de extremidades inferiores.
- Recuerdan antecedentes de quemaduras solares leves en el área de la que se extirpó el melanoma.
- Tienen antecedentes de al menos un nevo displásico extirpado.
- Tienen antecedentes familiares de melanoma.
- Padecen melanomas de subtipo histológico MES y, en segundo término, MN.
- Presentan melanomas con menor índice de Breslow: con más frecuencia  $\leq 1$  mm, pero también  $\leq 2$  mm.
- Tienen una o más variantes no-sinónimas del gen MC1R (con tendencia estadística, sin llegar a la significación, dando predominio a las no-RHC).

Si bien no significativas tras ajuste multivariado, se destacan las siguientes tendencias estadísticas entre los pacientes con MANdis frente a MDN:

- Edad más joven (<45 años).
- Localización en áreas con fotoexposición intermitente y visibles para un conviviente íntimo.
- Ausencia de antecedentes de fotoexposición laboral crónica.
- Múltiples nevos melanocíticos (>21) en el tegumento y en el área del melanoma (>3).

## Resultados

- Patrón de nevus de predominio común/intradérmico o mixto.
- Menor frecuencia de metástasis ganglionares, recaída tras el diagnóstico inicial, y muerte por melanoma.
- Elastosis solar ausente o leve, así como menor frecuencia de ulceración en la pieza histológica del melanoma.

Tabla 48. Análisis de regresión logística comparando los grupos de pacientes con MANdis frente a aquellos con MDN

Variable	Regresión logística binaria (modelo univariado)		Regresión logística (modelo multivariado)	
	OR	(IC 95%)	OR	(IC 95%)
<b>Sexo</b>				
Masculino	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Femenino	1,546	(1,062-2,251)	1,741	(1,327-2,285)
<b>Edad</b>				
<45 años	2,331	(1,453-3,741)	N. S.	N. S.
45-64 años	1,377	(0,860-2,205)	N. S.	N. S.
≥65 años	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
<b>Localización del melanoma</b>				
Cabeza/cuello	2,370	(0,501-11,205)	N. S.	N. S.
EESS	10,269	(2,379-44,31)	6,208	(2,616-14,730)
Tronco	10,857	(2,611-45,153)	8,057	(3,503-18,531)
EII	4,842	(1,111-21,101)	3,768	(1,599-8,877)
Acral	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Tronco y EESS	3,385	(2,222-5,157)	N. S.	N. S.
Cabeza/cuello, EII y acral	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
<b>“Fotolocalización” del melanoma</b>				
Área oculta al sol siempre	0,783	(0,292-2,098)	N. S.	N. S.
Área expuesta solo en verano	2,642	(1,479-4,719)	N. S.	N. S.
Área expuesta todo el año	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Área no-CSD	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Área CSD	0,304	(0,130-0,714)	N. S.	N. S.

<u>Localización descubierta u oculta del melanoma</u>				
Localización visible para el paciente	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Visible para un conviviente íntimo	1,498	(1,015-2,210)	N. S.	N. S.
Oculta para ambos	0,173	(0,023-1,280)	N. S.	N. S.
<u>Antecedentes de exposición solar laboral</u>				
Profesión no expuesta al sol	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Profesión con fotoexposición habitual	0,608	(0,380-0,972)	N. S.	N. S.
≤30 años de fotoexposición laboral	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
>30 años de fotoexposición laboral	0,341	(0,146-0,794)	0,311	(0,156-0,623)
<u>Antecedentes de quemaduras solares en el área del melanoma</u>				
Ausencia	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Leves	1,975	(1,244-3,135)	1,891	(1,324-2,700)
Intensas	1,611	(0,944-2,750)	N. S.	N. S.
<u>Nevos melanocíticos en el área del melanoma</u>				
≤3 nevos melanocíticos	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
>3 nevos melanocíticos	1,798	(1,124-2,874)	N. S.	N. S.
<u>Número de nevos melanocíticos en el tegumento</u>				
≤21 nevos	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
>21 nevos	1,773	(1,135-2,769)	N. S.	N. S.
<u>Antecedentes de nevos histológicamente displásicos extirpados</u>				
Sin nevos displásicos	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Con al menos un nevo displásico	1,920	(1,238-2,978)	1,889	(1,401-2,547)
<u>Patrón de nevos melanocíticos predominante</u>				
Sin nevos	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Lentiginoso / juntural	1,940	(0,803-4,686)	N. S.	N. S.
Común / intradérmico	2,573	(1,100-6,017)	N. S.	N. S.
Mixto	4,324	(1,741-10,737)	N. S.	N. S.

<u>Antecedentes familiares de melanoma</u>				
Ausencia	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Presencia	2,290	1,215-4,319	1,835	(1,217-2,767)
<u>Estadio del melanoma</u>				
Localizado	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Con metástasis ganglionares	0,472	(0,264-0,842)	N. S.	N. S.
Con metástasis sistémicas	0,983	(0,117-8,237)	N. S.	N. S.
<u>Recaída de la enfermedad tras el diagnóstico inicial de melanoma</u>				
No	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Sí	0,278	(0,143-0,541)	N. S.	N. S.
<u>Muerte por melanoma</u>				
No	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Sí	0,322	(0,147-0,706)	N. S.	N. S.
<u>Subtipo histológico de melanoma</u>				
LMM	N. S.	N. S.	N. S.	N. S.
MES	4,713	(1,452-15,293)	7,863	(3,297-18,749)
MN	1,851	(0,528-6,492)	7,319	(2,819-19,004)
MLA	N. S.	N. S.	N. S.	N. S.
Otros / sin especificar	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
<u>Índice de Breslow</u>				
≤1 mm	5,758	(2,460-13,476)	9,657	(4,383-21,278)
1,01-2 mm	3,182	(1,276-7,937)	4,396	(2,020-9,570)
2,01-4 mm	1,621	(0,593-4,427)	N. S.	N. S.
≥4 mm	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
<u>Elastosis histológica</u>				
Ausente	4,270	(1,310-13,919)	N. S.	N. S.
Leve	5,735	(1,592-20,659)	N. S.	N. S.
Moderada	2,737	(0,657-11,406)	N. S.	N. S.
Intensa	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
<u>Ulceración histológica</u>				
Ausente	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Presente	0,379	(0,220-0,654)	N. S.	N. S.

Presencia de variantes no-sinónimas del gen MC1R				
Ausente	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Presente 1	1,962	(1,225-3,144)	3,054	(2,523-4,865)
Presentes $\geq 2$ (de cualquier tipo)	1,837	(1,073-3,145)	1,519	(1,064-2,168)

N. S.: No significativo. Ref.: Referencia. IC: Intervalo de confianza.

Los valores expresan la *odds ratio* (OR) con un intervalo de confianza del 95% (IC 95%).

## V.2.2. Comparación de MANcom frente a MDN

La tabla 49 contiene los resultados del análisis de regresión comparando los pacientes con MANcom frente a aquellos con MDN.

Destacan los siguientes resultados significativos vinculados al diagnóstico de MANcom frente a MDN:

- Edad más joven.
- Localización en el tronco.
- Localización en áreas del tegumento expuestas solo en verano (el análisis tomando como referencia la primera categoría mostró tendencia estadística favoreciendo una asociación negativa con las áreas de exposición solar todo el año, sin alcanzar la significación).
- Antecedentes de quemaduras solares intensas en el tegumento.
- Presencia de múltiples nevos melanocíticos en el tegumento (más de 50).
- Antecedentes de exéresis de al menos un nevo displásico.
- Predominio de nevos de tipo común/intradérmico y mixto.
- Menor frecuencia de segundos tumores.
- Subtipo histológico MES.
- Presencia de mitosis.

Aunque sin alcanzar la significación tras el ajuste multivariado, los pacientes con MANcom más frecuentemente:

- Tienen melanomas localizados también en extremidades superiores, en localizaciones visibles para un conviviente íntimo (como pacientes con MANdis).

- Recuerdan quemaduras solares de carácter leve (igual que los pacientes con MANdis) y también intenso en el área del melanoma.
- Presentan melanomas con menor índice de Breslow (de forma similar a los pacientes con MANdis) y con menor frecuencia de ulceración.

Tabla 49. Análisis de regresión logística comparando los pacientes con MANcom frente a aquellos con MDN

Variable	Regresión logística binaria (modelo univariado)		Regresión logística (modelo multivariado)	
	OR	(IC 95%)	OR	(IC 95%)
<b>Edad</b>				
≤37,5 años	2,113	(1,387-3,220)	1,650	(1,276-2,133)
>37,5 años	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
<b>Localización del melanoma</b>				
Cabeza/cuello	1,204	(0,478-3,034)	N. S.	N. S.
EESS	2,173	(0,880-5,366)	N. S.	N. S.
Tronco	3,495	(1,558-7,843)	2,121	(1,279-3,517)
EElI	0,922	(0,360-2,364)	N. S.	N. S.
Acral	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Tronco y EESS	2,988	(2,002-4,458)	N. S.	N. S.
Cabeza/cuello, EElI y acral	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
<b>“Fotolocalización” del melanoma</b>				
Área oculta al sol siempre	1,713	(0,814-3,604)	N. S.	N. S.
Área expuesta solo en verano	2,228	(1,284-3,864)	1,625	(1,077-2,450)
Área expuesta todo el año	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Área no-CSD	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Área CSD	1,244	(0,633-2,442)	N. S.	N. S.
<b>Localización descubierta u oculta del melanoma</b>				
Localización visible para el paciente	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Visible para un conviviente íntimo	1,809	(1,214-2,695)	N. S.	N. S.
Oculta para ambos	1,009	(0,383-2,664)	N. S.	N. S.

<u>Antecedentes de quemaduras solares intensas</u>				
No	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Sí	1,674	(1,157-2,423)	1,541	(1,283-1,851)
<u>Antecedentes de quemaduras solares en el área del melanoma</u>				
Ausencia	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Leves	1,865	(1,154-3,014)	N. S.	N. S.
Intensas	2,411	(1,451-4,006)	N. S.	N. S.
<u>Nevos melanocíticos en el área del melanoma</u>				
≤3 nevos melanocíticos	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
>3 nevos melanocíticos	2,090	(1,290-3,386)	N. S.	N. S.
<u>Número de nevos melanocíticos en el tegumento</u>				
≤20 nevos	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
21-50 nevos	1,455	(0,885-2,393)	N. S.	N. S.
51-100 nevos	2,633	(1,517-4,570)	1,510	(1,117-2,042)
>100 nevos	1,707	(0,681-4,278)	N. S.	N. S.
<u>Antecedentes de nevos histológicamente displásicos extirpados</u>				
Sin nevos displásicos	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Con al menos un nevo displásico	1,914	(1,247-2,938)	1,428	(1,125-1,813)
<u>Patrón de nevos melanocíticos predominante</u>				
Sin nevos	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Lentiginoso / juntural	1,771	(0,680-4,612)	N. S.	N. S.
Común / intradérmico	3,443	(1,409-8,416)	2,005	(1,540-2,610)
Mixto	4,083	(1,531-10,888)	1,835	(1,336-2,521)
<u>Antecedentes personales de queratosis actínicas</u>				
Ausencia	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Presencia	0,526	0,275-1,006	N. S.	N. S.
<u>Antecedentes personales de otros tipos de neoplasias / segundos tumores</u>				
Ausencia	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Presencia	0,413	(0,188-0,909)	0,454	(0,319-0,647)

<u>Subtipo histológico de melanoma</u>				
LMM	1,851	(0,164-20,921)	N. S.	N. S.
MES	14,657	(2,011-106,829)	16,112	(6,939-37,407)
MN	5,552	(0,727-42,432)	N. S.	N. S.
MLA	3,647	(0,368-36,134)	N. S.	N. S.
Otros / sin especificar	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
<u>Índice de Breslow</u>				
≤1 mm	5,758	(2,460-13,476)	N. S.	N. S.
1,01-2 mm	3,182	(1,276-7,937)	N. S.	N. S.
2,01-4 mm	1,621	(0,593-4,427)	N. S.	N. S.
≥4 mm	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
<u>Ulceración histológica</u>				
Ausente	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Presente	0,545	(0,339-0,874)	N. S.	N. S.
<u>Número de mitosis</u>				
0 mitosis/mm <sup>2</sup>	1,376	(0,631-3,002)	N. S.	N. S.
1-5 mitosis/mm <sup>2</sup>	2,262	(1,132-4,520)	1,430	(1,051-1,946)
>5 mitosis/mm <sup>2</sup>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.

N. S.: No significativo. Ref.: Referencia. IC: Intervalo de confianza.

Los valores expresan la *odds ratio* (OR) con un intervalo de confianza del 95% (IC 95%).

### V.2.3. Comparación de MANcom frente a MANdis

En la tabla 50 están volcados los resultados de la comparación entre subgrupos de MAN, que mostraron que los pacientes con MANcom:

- Son más jóvenes ( $\leq 37,5$  años).
- Tienen con menos frecuencia antecedentes personales de otros tipos de neoplasias.
- Presentan con mayor frecuencia recaídas de la enfermedad tras el diagnóstico inicial.
- Tienden a tener melanomas con Breslow sensiblemente mayor, entre 1,01 y 2,00 mm (el análisis tomando como referencia la última categoría no observó asociación significativa con  $\leq 1,00$  mm).
- Padecen melanomas con presencia de mitosis.

Finalmente, aunque sin alcanzar la significación tras el ajuste multivariado, se pudo identificar una asociación estadística que muestra una tendencia a que los pacientes con MANcom sean con menos frecuencia de sexo femenino que aquellos con MANdis.

Tabla 50. Análisis de regresión logística comparando los pacientes con MANcom frente a aquellos con MANdis

Variable	Regresión logística binaria (modelo univariado)		Regresión logística (modelo multivariado)	
	OR	(IC 95%)	OR	(IC 95%)
<b>Sexo</b>				
Masculino	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Femenino	0,620	(0,381-1,007)	N. S.	N. S.
<b>Edad</b>				
≤37,5 años	1,816	(1,003-3,289)	1,601	(1,238-2,071)
>37,5 años	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
<b>Antecedentes personales de otros tipos de neoplasias / segundos tumores</b>				
Ausencia	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Presencia	0,384	(0,152-0,966)	0,383	(0,256-0,574)
<b>Recaída de la enfermedad tras el diagnóstico inicial de melanoma</b>				
No	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Sí	2,421	(1,104-5,310)	1,684	(1,156-2,454)
<b>Índice de Breslow</b>				
≤1 mm	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
1,01-2 mm	1,964	(1,081-3,501)	1,603	(1,235-2,081)
2,01-4 mm	1,686	(0,748-3,803)	N. S.	N. S.
≥4 mm	2,740	(0,990-7,586)	N. S.	N. S.
<b>Número de mitosis</b>				
0 mitosis/mm <sup>2</sup>	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
≥1 mitosis/mm <sup>2</sup>	2,049	(1,113-3,772)	1,436	(1,140-1,809)

N. S.: No significativo. Ref.: Referencia. IC: Intervalo de confianza.

Los valores expresan la *odds ratio* (OR) con un intervalo de confianza del 95% (IC 95%).

### V.3. Análisis de supervivencia

En los siguientes epígrafes quedan sistematizados los resultados de los análisis de supervivencia.

La mediana de seguimiento fue de 61 meses.

#### V.3.1. Comparación entre MDN y MAN

Se realizó la comparación de la supervivencia (supervivencia libre de enfermedad, supervivencia específica relacionada con el melanoma y supervivencia global) entre los pacientes con MDN y con MAN.

##### *V.3.1.i) Supervivencia libre de enfermedad*

Los análisis de supervivencia empleando el método de Kaplan-Meier con la prueba de *log rank* (Mantel-Cox) mostraron diferencias significativas en la supervivencia libre de enfermedad, favoreciendo a los pacientes con MAN (figura 43). Se muestran en detalle los resultados del análisis en la tabla 51.

Tabla 51. Supervivencia libre de enfermedad comparando MDN y MAN

DFS	Nº casos	Casos con recaída (%)	Mediana superv.	Media de seguimiento hasta aparición de evento		Error típico
			meses	meses	(IC 95%)	
MDN	837	198 (23,7%)	48,5	138	(132,6-143,7)	2,95
MAN	261	33 (12,6%)	68,0	159	(158,5-166,7)	3,88
Total	1098	231 (21,0%)		144	(139,1-148,7)	2,44
Prueba de Log Rank (Mantel-Cox): <b>p&lt;0,001</b>						

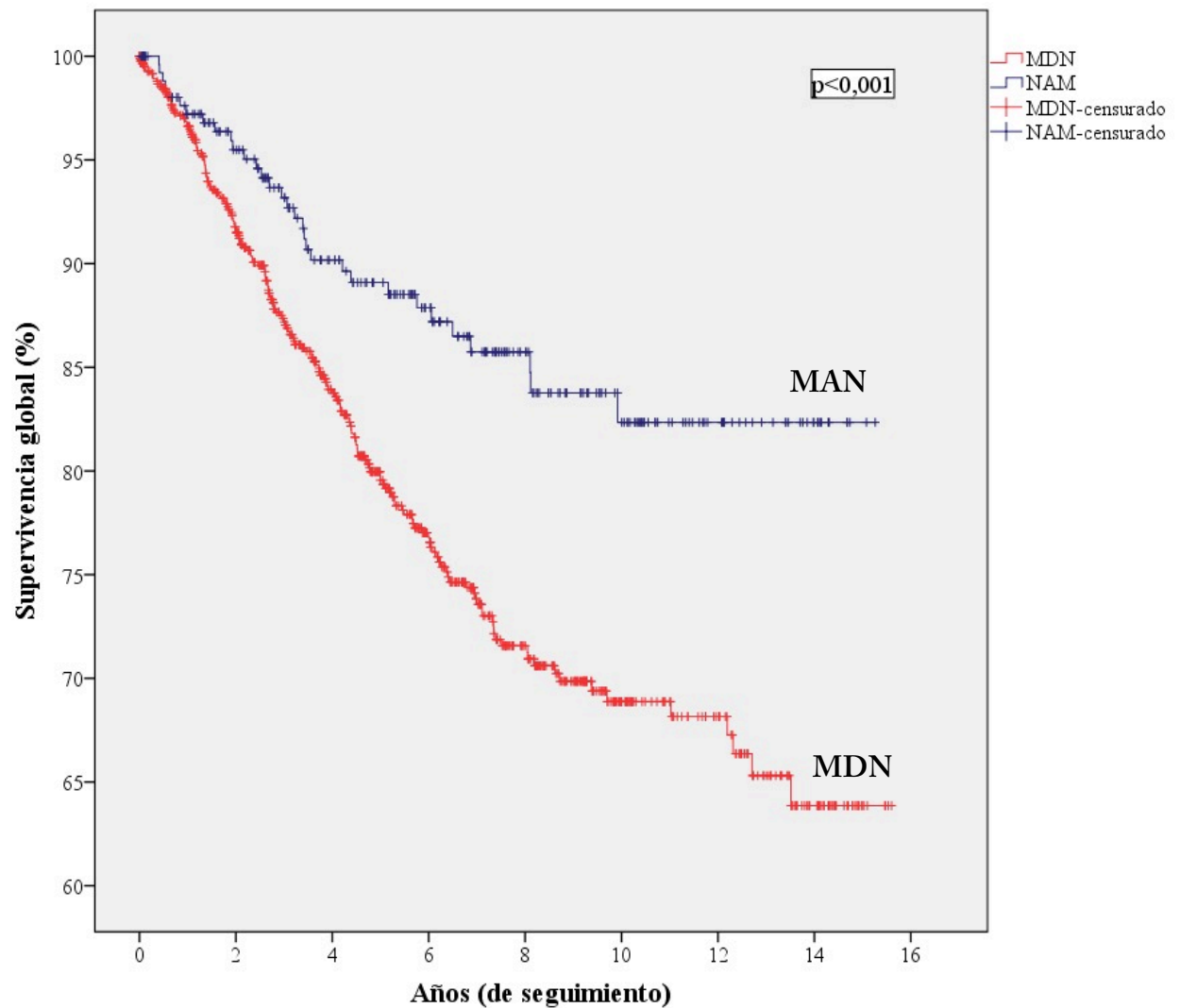


Figura 43. Curvas de supervivencia libre de enfermedad comparando pacientes con MDN y MAN siguiendo el método de Kaplan-Meier

Al ajustar con otras variables pronósticas en un modelo multivariado mediante regresión de Cox, la asociación histológica con una lesión previa no alcanzó significación estadística como factor clave en la supervivencia libre de enfermedad. En este modelo tuvieron peso específico, en orden de importancia: un mayor índice de Breslow, la localización en cabeza, cuello, miembros inferiores o acral, y una edad más avanzada.

Cuando se seleccionaron únicamente aquellos pacientes en estadio localizado, el modelo incluyó los factores anteriores, además de la presencia histológica de un nevo melanocítico previo ( $p=0,053$ ).

V.3.1.ii) *Supervivencia específica relacionada con el melanoma*

Los análisis de supervivencia empleando el método de Kaplan-Meier con la prueba de *log rank* (Mantel-Cox) mostraron diferencias significativas en esta supervivencia, nuevamente favoreciendo a los pacientes con MAN (figura 44). Se muestran en detalle los resultados del análisis en la tabla 52.

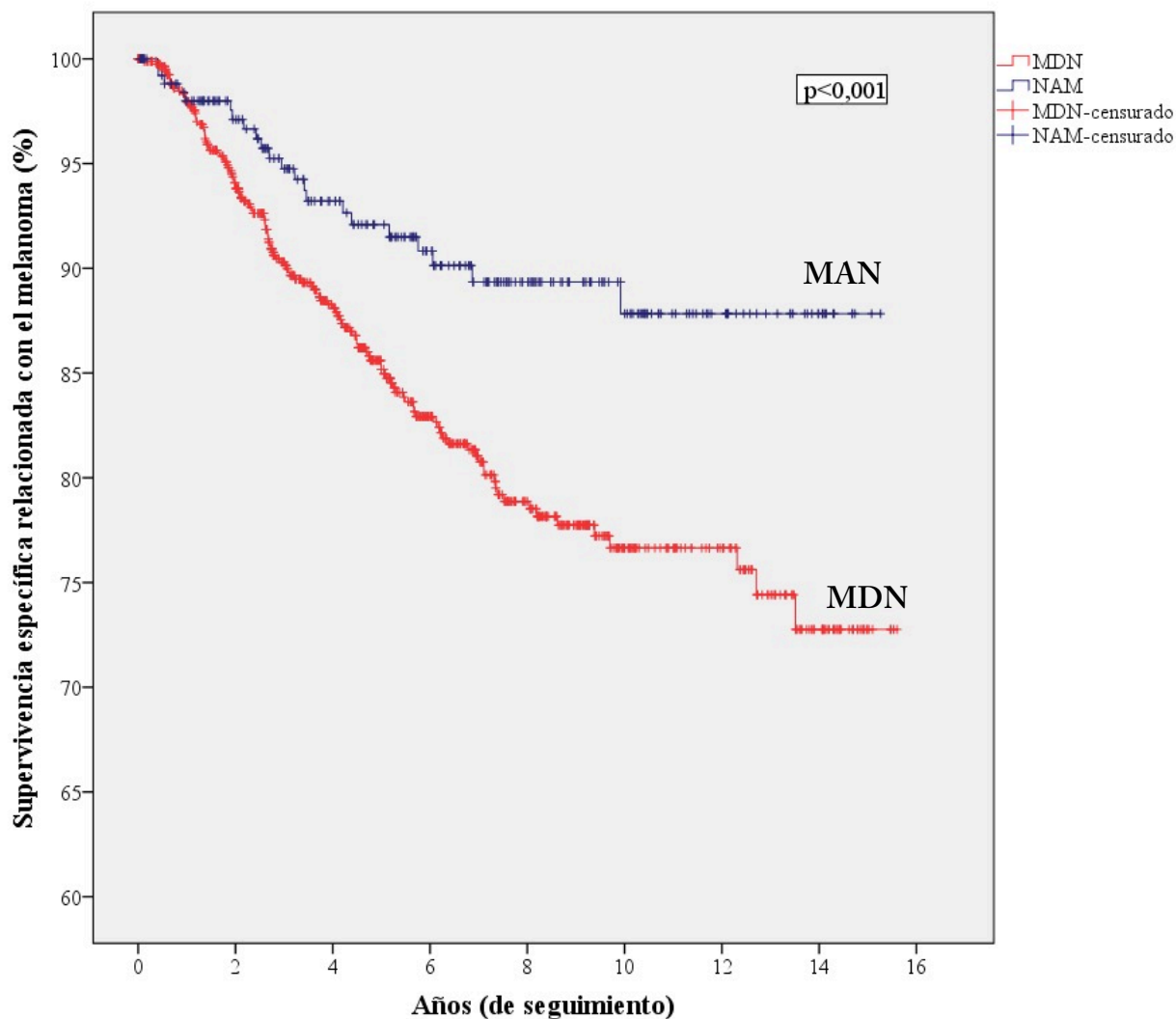


Figura 44. Curvas de supervivencia específica relacionada con el melanoma comparando los pacientes con MDN y MAN siguiendo el método de Kaplan-Meier

Tabla 52. Supervivencia específica relacionada con el melanoma comparando MDN y MAN

MSS	Nº casos	Nº muertes por melanoma (%)	Mediana superv.	Media de seguimiento hasta aparición de evento		Error típico
			meses	meses	(IC 95%)	
MDN	847	129 (15,2%)	56,9	154	(148,7-159,1)	2,65
MAN	263	22 (8,4%)	72,6	167	(160,5-173,4)	3,29
Prueba de Log Rank (Mantel-Cox): $p=0,001$						

Cuando se ajustó para otras variables pronósticas en un modelo multivariado realizado mediante regresión de Cox, la asociación histológica con una lesión previa no alcanzó significación estadística como factor en la supervivencia específica relacionada con el melanoma. En este modelo tuvieron peso, en orden de importancia: un mayor índice de Breslow y una edad más avanzada. Al seleccionar únicamente aquellos pacientes en estadio localizado, se añadió un tercer factor de riesgo para mayor mortalidad: el sexo masculino.

### V.3.1.iii) Supervivencia global

Los análisis de supervivencia empleando el método de Kaplan-Meier con la prueba de *log rank* (Mantel-Cox) mostraron diferencias significativas en la supervivencia global, también favoreciendo a los pacientes con MAN (figura 45). Se muestran en detalle los resultados del análisis en la tabla 53.

Tabla 53. Supervivencia global comparando MDN y MAN

OS	Nº casos	Nº muertes en global (%)	Mediana superv.	Media de seguimiento hasta aparición de evento		Error típico
			meses	meses	(IC 95%)	
MDN	847	183 (21,6%)	56,9	154	(136,6-147,7)	2,85
MAN	263	32 (12,2%)	72,6	167	(152,5-167,3)	3,80
Prueba de Log Rank (Mantel-Cox): $p<0,001$						

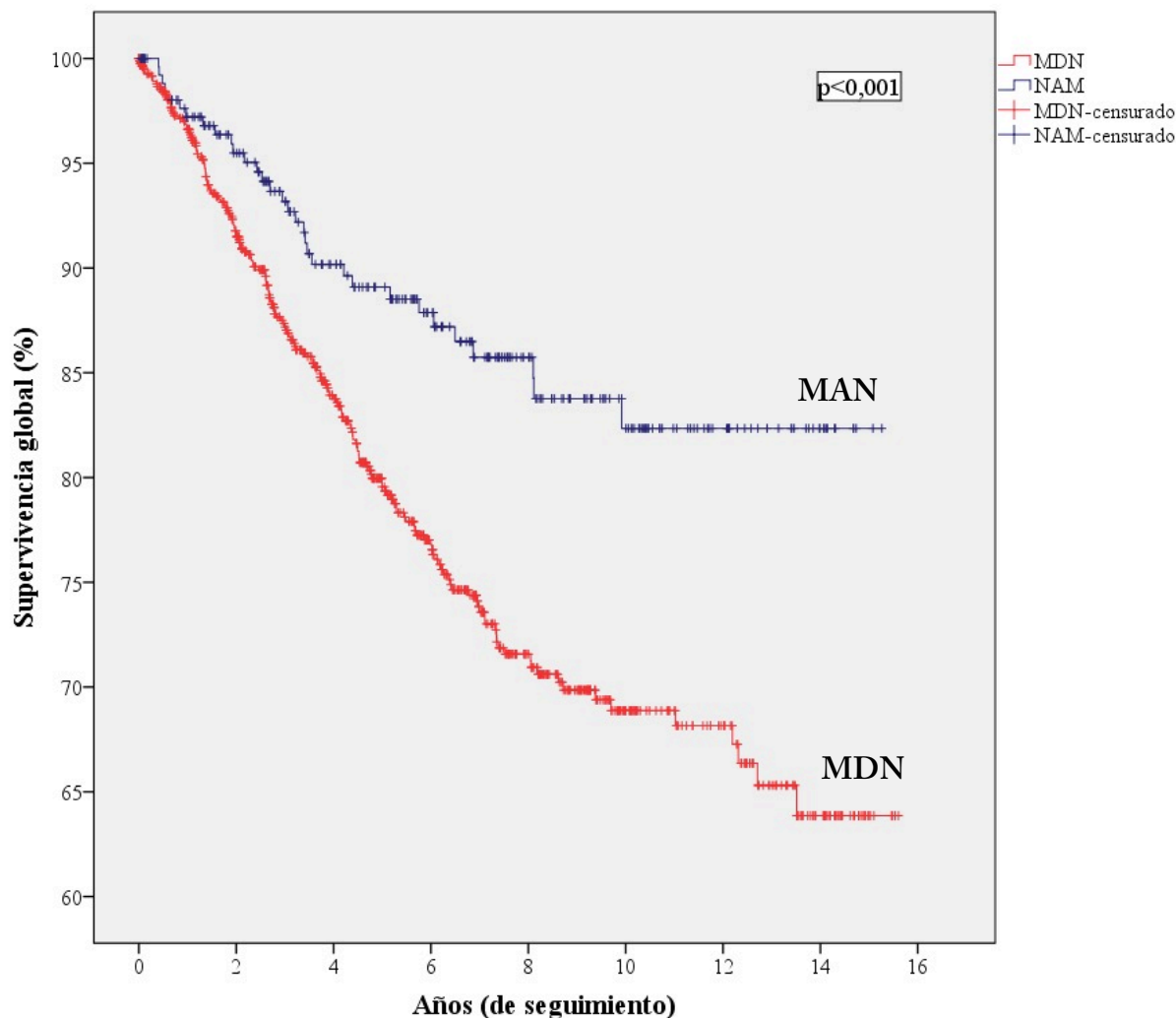


Figura 45. Curvas de supervivencia global comparando los pacientes con MDN y MAN siguiendo el método de Kaplan-Meier

A pesar de ello, cuando se ajustó para otras variables pronósticas en un modelo multivariado realizado mediante regresión de Cox, la asociación histológica con una lesión previa no alcanzó significación estadística como factor modificador en la supervivencia global. En este modelo tuvieron efecto, en orden de importancia: mayor Breslow, edad más avanzada, sexo masculino, y presencia de ulceración histológica. Estos hallazgos estadísticos no se modificaron al seleccionar únicamente aquellos pacientes en estadio localizado.

### V.3.2.Comparación entre los tres subgrupos

Se procedió a la comparación de las supervivencias libre de enfermedad, específica relacionada con el melanoma y global entre los pacientes con MDN y los dos subgrupos de pacientes con MAN.

#### V.3.2.i) Supervivencia libre de enfermedad

Los análisis de supervivencia empleando el método de Kaplan-Meier con la prueba de *log rank* (Mantel-Cox) mostraron diferencias significativas en la supervivencia libre de enfermedad, favoreciendo a los pacientes con MAN -en primer lugar los MANdis y en segundo lugar los MANcom- (figura 46). Se muestran numéricamente los resultados del análisis en la tabla 54.

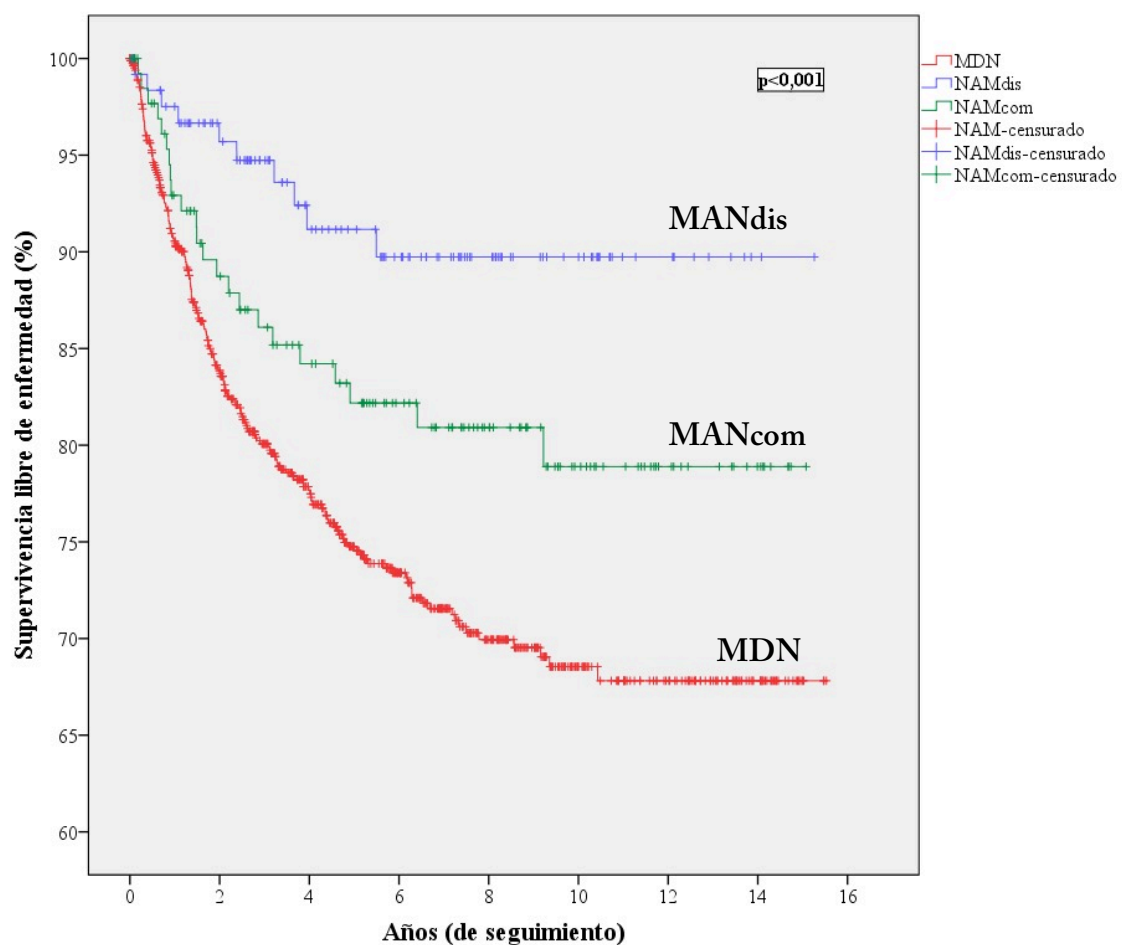


Figura 46. Curvas de supervivencia libre de enfermedad comparando los pacientes con MANdis, MANcom y MDN empleando el método de Kaplan-Meier

Tabla 54. Supervivencia libre de enfermedad en los tres subgrupos

DFS	Nº casos	Nº casos recaída (%)	Mediana superv.	Media de seguimiento hasta evento		Error típico
			meses	meses	(IC 95%)	
MDN	837	198 (23,7%)	48,4	138	(132,2-143,7)	2,95
MANdis	127	10 (7,9%)	65,9	168	(158,4-176,8)	4,70
MANcom	134	23 (17,2%)	73,4	150	(138,6-161,4)	5,80
Prueba de Log Rank (Mantel-Cox): $p < 0,001$						

Al ajustar con otras variables pronósticas en un modelo multivariado realizado mediante regresión de Cox, la asociación histológica con una lesión previa no alcanzó significación estadística como factor modificador en la supervivencia libre de enfermedad. En este modelo tuvieron peso específico, en orden de importancia: un mayor índice de Breslow, la localización en cabeza, cuello, miembros inferiores o acral, edad más avanzada. Estos hallazgos estadísticos no se modificaron al seleccionar únicamente aquellos pacientes en estadio localizado.

### V.3.2.ii) *Supervivencia específica relacionada con el melanoma*

Los análisis de supervivencia empleando el método de Kaplan-Meier con la prueba de *log rank* (Mantel-Cox) mostraron diferencias significativas en la supervivencia específica relacionada con el melanoma, de nuevo favoreciendo a los pacientes con MAN -en primer lugar los MANdis y en segundo lugar los MANcom- (figura 47). Se muestran en detalle los resultados del análisis en la tabla 55.

Tabla 55. Supervivencia específica relacionada con el melanoma en los tres subgrupos

MSS	Nº casos	Nº casos recaída (%)	Mediana superv.	Media de seguimiento hasta evento		Error típico
			meses	meses	(IC 95%)	
MDN	848	129 (15,2%)	56,9	154	(148,8-159,1)	2,64
MANdis	130	7 (5,4%)	67,5	173	(164,9-180,2)	3,89
MANcom	133	15 (11,3%)	67,9	161	(151,0-170,2)	4,89

Prueba de Log Rank (Mantel-Cox):  $p=0,003$

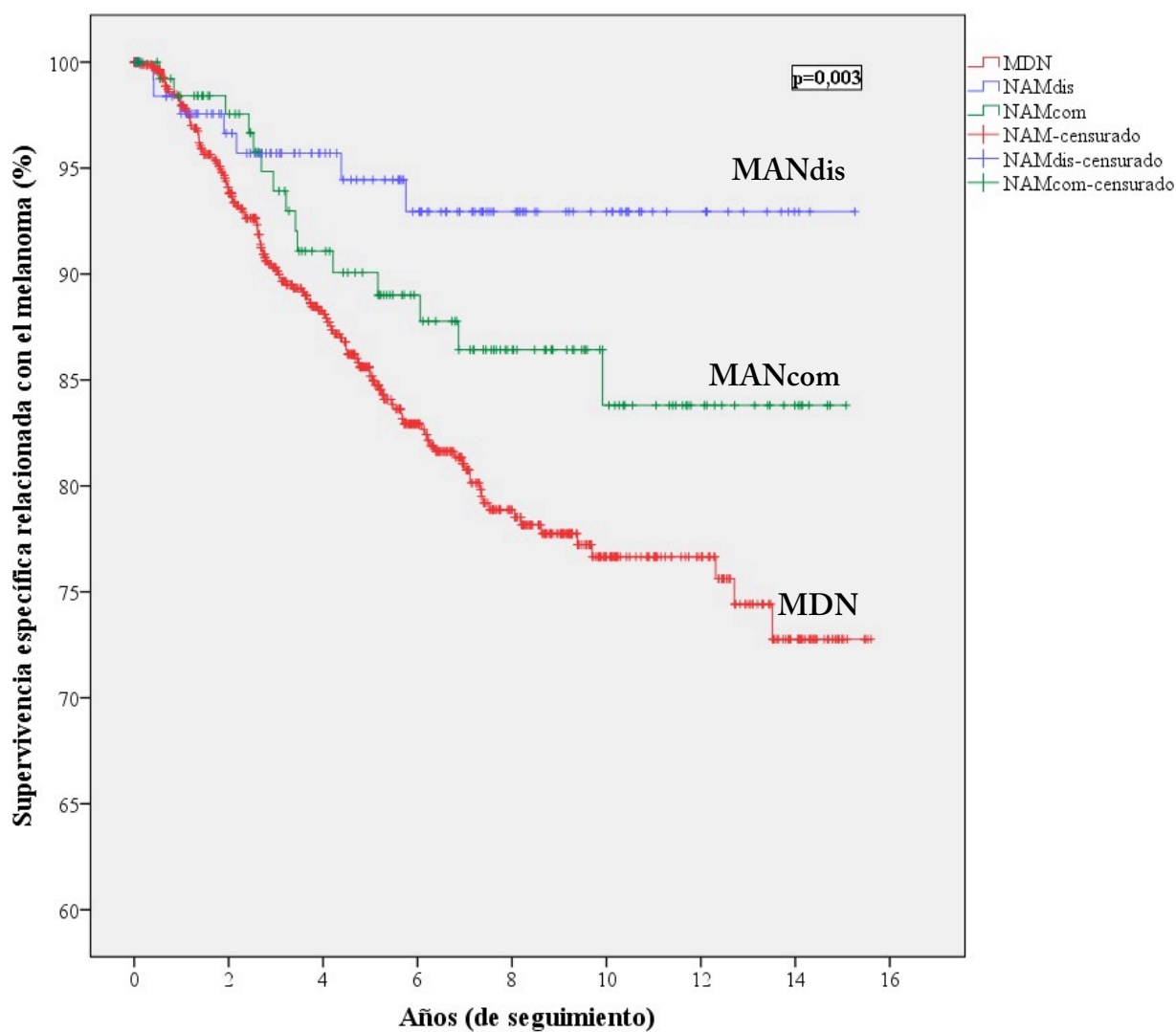


Figura 47. Curvas de supervivencia específica relacionada con el melanoma comparando los pacientes con MANdis, MANcom y MDN empleando el método de Kaplan-Meier

Al ajustar para otras variables pronósticas en un modelo multivariado realizado mediante regresión de Cox, no se obtuvo significación estadística de la asociación histológica con nevo como factor influyente en la supervivencia específica relacionada con el melanoma. En este modelo tuvieron efecto, en orden de importancia: un mayor índice de Breslow, y una edad más avanzada. Al seleccionar únicamente aquellos pacientes en estadio localizado, se añadió un tercer factor de riesgo para mayor mortalidad: el sexo masculino.

### V.3.2.iii) Supervivencia global

Los análisis de supervivencia empleando el método de Kaplan-Meier con la prueba de *log rank* (Mantel-Cox) mostraron diferencias significativas en la supervivencia global, una vez más favoreciendo a los pacientes con MAN -en primer lugar los MANdis y en segundo lugar los MANcom- (figura 48). Los resultados están detallados en la tabla 56.

Tabla 56. Supervivencia libre de enfermedad en los tres subgrupos

DFS	Nº casos	Nº casos recaída (%)	Mediana superv.	Media de seguimiento hasta evento		Error típico
			meses	meses	(IC 95%)	
MDN	848	183 (21,6%)	56,9	142	(136,6-147,8)	2,85
MANdis	130	11 (8,5%)	67,5	166	(156,2-175,6)	4,95
MANcom	133	21 (15,8%)	80,7	153	(142,4-163,9)	5,48
Prueba de Log Rank (Mantel-Cox): <b>p=0,001</b>						

En un modelo multivariado realizado mediante regresión de Cox ajustado con otras variables pronósticas, la asociación histológica con una lesión previa no alcanzó significación estadística como factor clave en la supervivencia global. Sí obtuvieron importancia: mayor Breslow, edad más avanzada, sexo masculino, y presencia de ulceración histológica. Estos hallazgos estadísticos no se modificaron al seleccionar únicamente aquellos pacientes en estadio localizado.

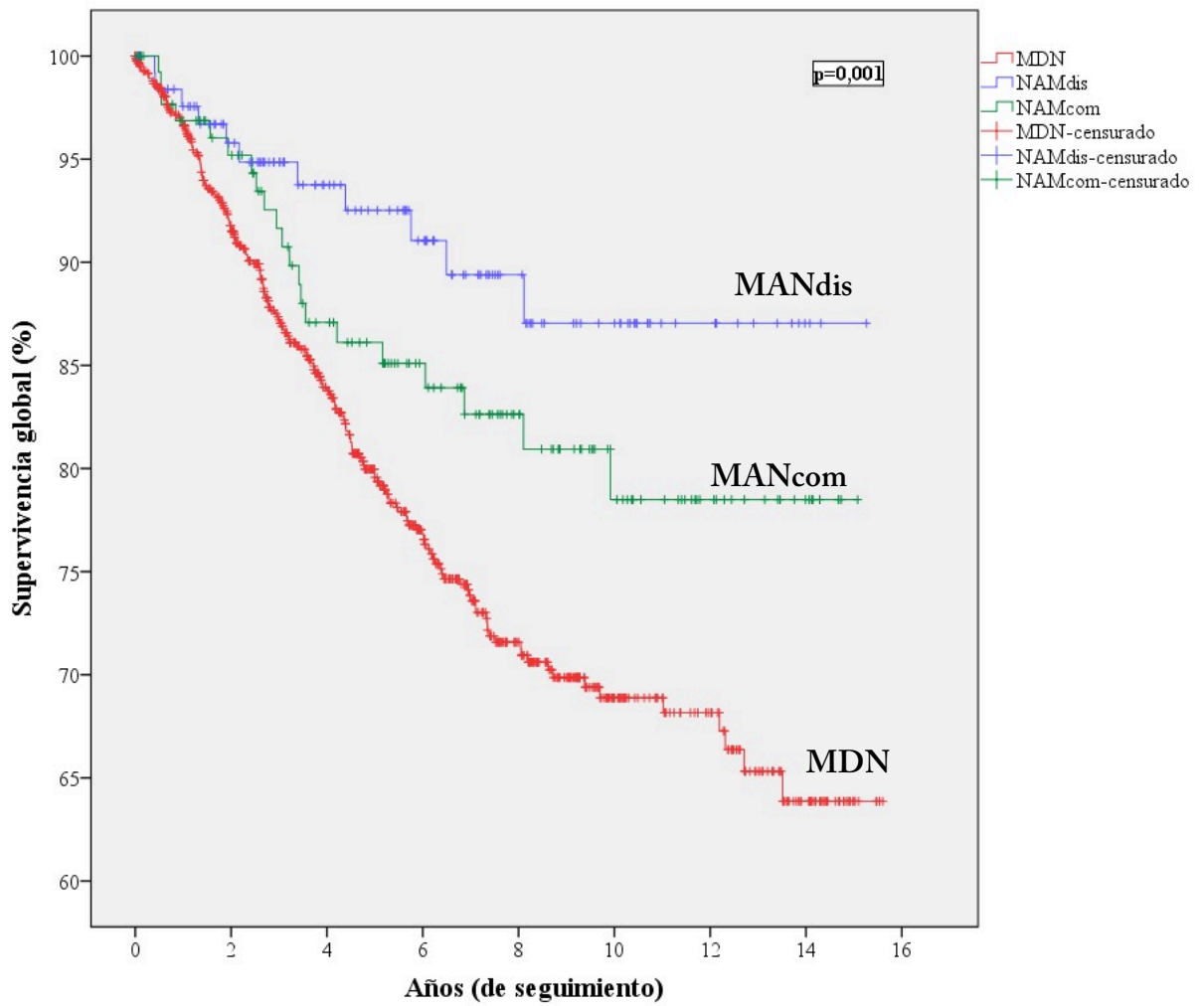


Figura 48. Curvas de supervivencia global comparando los pacientes con MANDis, MANcom y MDN empleando el método de Kaplan-Meier

## V.4. Estudio de las diferencias entre la asociación clínica o histológica de nevo con melanoma

En las tablas 57 y 58 se sistematiza el número y proporción de pacientes siguiendo la hipótesis de clasificación clínica indicada en la sección de *Material y métodos*.

El grado de concordancia diagnóstica entre el la aproximación clínica al diagnóstico de MDN/MAN y el diagnóstico histológico de la presencia de un nevo previo asociado al melanoma fue de un 18% (Rho de Spearman 0,18,  $p < 0,001$ ).

Tabla 57. Distribución de los pacientes por subgrupos de MAN o MDN en función del modelo de clasificación de asociación clínica de nevo y melanoma en dos subgrupos

	Melanoma clínicamente <i>de novo</i> (McDN)		Melanoma clínicamente asociado a nevo (McAN)		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
MDN	178	85,2%	214	69,5%	392	75,8%
MANdis	19	9,1%	39	12,7%	58	11,2%
MANcom	12	5,7%	55	17,9%	67	13,0%
MDN	178	85,2%	214	69,5%	392	75,8%
MAN	31	14,8%	94	30,5%	125	24,2%
Total	209	100%	308	100%	517	100%

Tabla 58. Distribución de los pacientes por subgrupos de MAN o MDN en función del modelo de clasificación de asociación clínica de nevo y melanoma en seis subgrupos

	McDN MES sin percepción de cambio en volumen		McAN MES sin percepción de cambio en volumen		McDN MN (crecimiento vertical desde un inicio)		McAN MN (crecimiento vertical desde un inicio)		McDN MES con crecimiento o vertical		McAN MES con crecimiento o vertical		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
MDN	45	77,6	82	61,7	101	91,0	101	74,8	32	80,0	31	77,5	392	75,8
MANdis	8	13,8	22	16,5	6	5,4	12	8,9	5	12,5	5	12,5	58	11,2
MANcom	5	8,6	29	21,8	4	3,6	22	16,3	3	7,5	4	10,0	67	13,0

Al comparar los grupos clínicos frente a los grupos de pacientes con MAN y MDN, con un punto de corte de Breslow de 1 mm (tabla 59) para determinar la correspondencia clínica entre la percepción de cambio de volumen clínicamente evidente (que se fijó que podría apreciarse a partir de 1 mm), el grado de concordancia llegó a un 38,6% (Rho de Spearman 0,386,  $p < 0,001$ ).

Tabla 59. Distribución de los pacientes poniendo en común los modelos de clasificación de MAN en función de asociación histológica (con punto de corte de Breslow de 1 mm) y clínica

		Grupos clínicos**													
		McDN MES sin percepción de cambio en volumen		McAN MES sin percepción de cambio en volumen		McDN MN (crecimiento vertical desde un inicio)		McAN MN (crecimiento vertical desde un inicio)		McDN MES con crecimiento vertical		McAN MES con crecimiento vertical		Total	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Grupos histológicos *	MDN MES Breslow $\leq 1$	17	38,6	49	40,5	10	11,1	11	9,3	3	8,8	3	8,3	93	21,0
	MAN MES Breslow $\leq 1$	9	20,5	37	30,6	3	3,3	7	5,9	2	5,9	2	5,6	60	13,5
	MDN MN Breslow $> 1$	8	18,2	5	4,1	46	51,1	38	32,2	11	32,4	10	27,8	118	26,6
	MAN MN Breslow $> 1$	1	2,3	4	3,3	3	3,3	9	7,6	1	2,9	1	2,8	19	4,3
	MDN MES Breslow $> 1$	7	15,9	16	13,2	24	26,7	36	30,5	13	38,2	14	38,9	110	24,8
	MAN MES Breslow $> 1$	2	4,5	10	8,3	4	4,4	17	14,4	4	11,8	6	16,7	43	9,7

\* Grupos histológicos combinando nevo previo, tipo histológico y Breslow  $\leq 1$  frente a  $> 1$  mm.

\*\* Grupos clínicos combinando meses de evolución, meses de cambios de cualquier tipo y meses de cambios en volumen de la lesión.

Al hacerlo fijando el punto de corte en 2 mm (tabla 60), el grado de concordancia fue de un 34,3% (Rho de Spearman 0,343,  $p < 0,001$ ).

Tabla 60. Distribución de los pacientes poniendo en común los modelos de clasificación de MAN en función de asociación histológica (con punto de corte de Breslow de 2 mm) y clínica

		Grupos clínicos**													
		McDN MES sin percepción de cambio en volumen		McAN MES sin percepción de cambio en volumen		McDN MN (crecimiento vertical desde un inicio)		McAN MN (crecimiento vertical desde un inicio)		McDN MES con crecimiento vertical		McAN MES con crecimiento vertical		Total	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%		
Grupos histológicos *	MDN MES Breslow ≤2	23	54,8	60	50,4	25	30,9	33	28,9	9	26,5	7	20,0	157	36,9
	MAN MES Breslow ≤2	11	26,2	45	37,8	4	4,9	17	14,9	5	14,7	6	17,1	88	20,7
	MDN MN Breslow >2	7	16,7	4	3,4	39	48,1	36	31,6	11	32,4	9	25,7	106	24,9
	MAN MN Breslow >2	0	0	3	2,5	1	1,2	7	6,1	1	2,9	1	2,9	13	3,1
	MDN MES Breslow >2	1	2,4	5	4,2	9	11,1	14	12,3	7	20,6	10	28,6	46	10,8
	MAN MES Breslow >2	0	0	2	1,7	3	3,7	7	6,1	1	2,9	2	5,7	15	3,5

\* Grupos histológicos combinando nevo previo, tipo histológico y Breslow ≤2 frente a >2 mm.

\*\* Grupos clínicos combinando meses de evolución, meses de cambios de cualquier tipo y meses de cambios en volumen de la lesión.

Cuando se realizó la clasificación de los pacientes combinando hallazgos histológicos, se pudo encontrar un grupo de 10 pacientes que no cuadraban con los 6 grupos reflejados en la tabla anterior: pacientes con MDN tipo MN con un índice de Breslow ≤1 mm, entre los cuales destacaban 3 casos (2 pacientes con lesiones presentes desde hace más de 10 años y otro con una lesión presente desde siempre), sin clara percepción de cambios.

## *VI. Discusión*

*Melanoma asociado a nevo melanocítico: Análisis de factores clínicos, epidemiológicos, histopatológicos y de biología molecular*



Este trabajo de investigación se llevó a cabo mediante el análisis de un total de 1126 pacientes atendidos entre los años 2000 y 2015 en la Unidad de Melanoma del Servicio de Dermatología del Instituto Valenciano de Oncología, centro de referencia para pacientes oncológicos. En él se ha constatado por primera vez que no existen diferencias significativas en términos de supervivencia según el tipo de nevo melanocítico que se encuentra asociado al melanoma, a pesar de que los pacientes con MAN tienen por lo general características clínicas e histológicas más favorables que aquellos con MDN. Se ha observado que los pacientes con MANcom, en comparación con los MANdis, tienden a ser más jóvenes y a tener menos antecedentes personales de otros tipos de neoplasias, aunque por otra parte suelen presentar factores pronósticos más desfavorables (mayor predisposición a recaída de la enfermedad, un índice de Breslow más elevado y una mayor presencia de mitosis). En cuanto a aquellos con MANdis, es más frecuente que presenten variantes no-sinónimas del gen MC1R y antecedentes de quemaduras solares (pero sin producir daño actínico marcado) en el área del melanoma. Por último, se ha podido confirmar que existe una baja concordancia entre la historia evolutiva aportada por el paciente y los hallazgos histológicos en relación con el desarrollo de un melanoma junto a o a partir de un nevo melanocítico.

Tras haber sistematizado los resultados obtenidos en dicho análisis en las páginas anteriores, se procederá a responder de manera estructurada a los objetivos planteados en la presente tesis doctoral.

Respondiendo a los dos primeros objetivos planteados, se han identificado características y factores asociados de forma independientes a los MANcom y MANdis, además de haberse confirmado asociaciones de los diagnósticos de MDN y MAN de publicaciones anteriores.

Destaca la edad más joven como factor independiente asociado a la aparición de MAN, en consonancia con publicaciones previas [220, 230, 231, 233, 235]. El trabajo con aproximación metodológica más similar al nuestro, por Bevona y colaboradores, obtuvo también como factor asociado al MAN la edad joven (además de la localización en el tronco y el subtipo MES, como confirmaremos en los párrafos siguientes) [230]. Dicho estudio adolecía de ciertas limitaciones, como el hecho de que algunos pacientes obtuvieran

el diagnóstico anatomopatológico de MDN o MAN mediante afeitados o biopsias incisionales con *punch* (sin poder realizarse en dichos casos el análisis histopatológico completo de toda la pieza). Los datos de nuestra cohorte nos permiten afirmar, además, que este factor de riesgo tiene más peso entre los pacientes con MANcom, en los que tiende a aparecer más tempranamente al compararlos con los pacientes con MANdis (lo cual va en línea con el comportamiento biológico diferente de las lesiones precursoras).

Se ha identificado además que hay un predominio significativo de mujeres en los MAN. Esta asociación es más evidente al comparar los MANdis con los MDN. Ello concuerda con la aparición de nevos melanocíticos displásicos en pacientes con un número elevado de quemaduras solares en la infancia [99, 189], teniendo en cuenta que las quemaduras solares son más frecuentes en el sexo femenino [252].

Respecto a la localización del melanoma, se ha podido también confirmar que los MAN se sitúan predominantemente en el tronco, de acuerdo con publicaciones previas [212, 222, 226, 228-231, 233]. Las publicaciones de Whiteman sobre las vías divergentes para el desarrollo de melanoma cutáneo describieron el tronco como el área típica de fotoexposición intermitente, asociada a la vía de la inestabilidad de las células pigmentarias [15, 253]. El análisis por subgrupos de MAN en nuestra cohorte, además de remarcar el tronco como una localización asociada a los dos subtipos de MAN, ha identificado la asociación con la localización en las extremidades (superiores, seguido de las inferiores) en el caso de los MANdis. Atendiendo a la “fotolocalización” y localización descubierta u oculta del melanoma, se ha identificado un mayor riesgo de MANcom en las áreas anatómicas expuestas solo en verano. Además, se ha observado una tendencia estadística que favorece la aparición de MAN en general en zonas de fotoexposición intermitente o visibles solo para un conviviente íntimo. Aparte de ir a favor del modelo de Whiteman, resulta concordante con un metaanálisis de los factores de riesgo asociados al melanoma cutáneo (sin contener la asociación histológica del melanoma con una lesión pigmentada previa) que consideraba las zonas anatómicas fotoexpuestas de forma crónica o generalmente fotoexpuestas de forma intermitente. Este metaanálisis observó un aumento del riesgo relativo de melanoma con cualquier tipo de fotoexposición y las quemaduras solares en aquellas localizaciones de exposición solar crónica; además, hubo una asociación

negativa de la fotoexposición crónica cuando se daba en zonas de fotoexposición intermitente, más marcada en extremidades (sobre todo inferiores). Estos resultados, junto con los observados en nuestro estudio, remarcan el comportamiento biológicamente diferente de las áreas de fotoexposición intermitente respecto a las de fotoexposición crónica [254].

Los antecedentes de quemaduras solares han sido establecidos como un factor de riesgo para MAN [228]. Hemos podido confirmar que son, efectivamente, un factor de riesgo para MANcom: las quemaduras solares intensas en cualquier zona del tegumento se asocian con el diagnóstico de este subtipo de MAN. Destacaremos específicamente los antecedentes de quemaduras solares en el área del melanoma, un factor de riesgo significativo para el diagnóstico de MANdis (con tendencia estadística identificada en el modelo univariado para este factor en los MANcom). Estos hallazgos orientan a la idoneidad de recomendar a los pacientes que protejan de las quemaduras solares todo el tegumento, pero especialmente el tronco y las zonas con nevos melanocíticos.

También relacionada con lo expuesto, la presencia clínica de dermatoheliosis se ha asociado negativamente con el diagnóstico de MAN [72]. Hemos confirmado dicha asociación a través de los antecedentes laborales de fotoexposición: se observa más frecuentemente una ausencia de antecedentes de fotoexposición laboral crónica entre los pacientes con MANdis. Aparte de ajustarse a los resultados de un trabajo previo sobre nuestra cohorte [246], lo hace con los condicionantes clínicos para el desarrollo de nevo común o displásico (como ya se ha mencionado, una historia de múltiples quemaduras solares en la infancia favorecería la aparición de nevos displásicos, mientras que los antecedentes personales de una alta fotoexposición acumulada generarían la aparición de múltiples nevos comunes [75, 99, 189, 255, 256]). Asimismo, aunque sin significación en el modelo de regresión multivariante, hemos observado una correspondencia histológica en términos de elastosis, con menor grado de elastosis en las piezas histológicas de los pacientes con MANdis, como puede verse en la figura 42.

Al tener en cuenta la localización del melanoma y los antecedentes de fotoexposición, hay que considerar los condicionantes geográficos. Una proporción elevada de la población

atendida en la Unidad de Melanoma del IVO reside en la ciudad de Valencia, con un clima mediterráneo de temperaturas suaves. Ello puede influir en el atuendo habitual de la población, de tal manera que no es infrecuente que zonas habitualmente definidas como de fotoexposición intermitente -en otras zonas de Europa- puedan tener una fotoexposición solar más similar a la crónica -en Valencia-. Así, la exposición solar más crónica en zonas como brazos y piernas podría favorecer la aparición de nevos clínicamente comunes y de pequeño tamaño no asociados al MAN. En cambio, la exposición solar de zonas de fotoexposición intermitente moderada sí que podría favorecer la aparición de lesiones pigmentadas de >5 mm o nevos clínicamente atípicos que, a través de la vía de la inestabilidad de las células pigmentarias, implican riesgo de aparición de MAN [109, 110, 114, 257]. En nuestros pacientes el patrón de exposición no fue recogido sobre la base teórica que tiene cada localización sino a partir de la información obtenida del paciente durante la anamnesis, por lo que localización como los antebrazos, las piernas o la espalda pueden ser clasificadas como habitualmente expuestas según el tipo de paciente. Entendiéndose la variabilidad existente en la fotoexposición en función de la latitud geográfica, es relevante subrayar un estudio agregado de 5700 casos y 7216 controles publicado en el año 2009 [258]. Tratando de establecer la variación del riesgo de melanoma en función de la fotoexposición (intermitente/recreativa, crónica/ocupacional), la localización anatómica del tumor y la localización geográfica de los pacientes, extrajeron algunas observaciones interesantes (si bien con algunas limitaciones: incluyeron datos de 15 estudios diferentes, con registro de datos heterogéneo y no consideraron específicamente los pacientes con MDN y MAN). Concluyeron que el riesgo de melanoma en diferentes áreas anatómicas se relaciona con la cantidad y patrón de fotoexposición, conforme con la teoría de las vías divergentes para el desarrollo de melanoma. Así, por una parte, observaron que la exposición solar intermitente intensa en zonas anatómicas habitualmente no fotoexpuestas influiría en la aparición de melanoma, independientemente de la latitud geográfica. Por otra parte, advirtieron que la exposición solar más continua en zonas anatómicas más fotoexpuestas (incluyendo entre ellas las extremidades) es importante en el desarrollo de melanoma si se da en países de latitudes más bajas (como España).

Un número de nevos melanocíticos elevado [228, 234] y una mayor densidad névica [72] también se han asociado positivamente a la aparición de MAN en estudios previos. En los

pacientes de nuestra población hemos podido observar que la presencia de múltiples nevos es un factor de riesgo de MAN (significativo en MANcom, y con una tendencia estadística observable en el modelo univariado entre los MANdis). La asociación entre nevos múltiples y melanoma también contribuye a confirmar la teoría de Whiteman: los pacientes con múltiples nevos pertenecerían a la vía nevogénica (no obstante, en sus trabajos no diferenció entre nevos comunes y displásicos). Esto concuerda con los hallazgos de un metaanálisis que estimó que el riesgo de padecer melanoma cutáneo (aunque sin considerar MDN y MAN) es hasta 6,89 veces mayor en aquellos pacientes con >101 nevos al compararlos con aquellos con <15 [48].

Además de lo anterior, hemos podido identificar una tendencia entre los MANdis -no confirmada tras ajuste multivariado- a tener múltiples nevos en el área del melanoma. Se ha observado que una mayor densidad névica corporal se relaciona con MAN [72], que la densidad névica en general es mayor en varones (contradicho por una publicación más reciente [87]) y que el melanoma suele localizarse en zonas similares a las de la distribución névica [88]. Otros autores no han encontrado asociación entre la proporción de MAN y las variaciones anatómicas en densidad névica, por lo que han propuesto que los melanocitos individuales podrían tener comportamientos biológicos diferentes en función de la región corporal en la que asienten [89]. Más recientemente se ha postulado que las variaciones en densidad névica se vinculan a los antecedentes de quemaduras solares en áreas de fotoexposición intermitente, pero no en aquellas de fotoexposición crónica [90]. Un estudio en población adolescente encontró que las zonas de mayor densidad névica incluyen aquellas con piel intermitentemente o máximamente fotoexpuesta, con la excepción de los miembros inferiores en mujeres, y que la densidad névica en dichas zonas tiende a solaparse con la variación de incidencia de melanoma en función del área anatómica [91]. El análisis agregado de diez estudios de casos y controles de melanoma en mujeres ha sugerido que una densidad névica regional mayor se asocia con melanoma en el tronco, pero no tanto con el localizado en cabeza y cuello [61]. Además, un estudio reciente ha puesto de relieve estas variaciones en función de la región anatómica: los melanomas en la extremidad cefálica se asocian a queratosis actínicas y dermatoheliosis -con una densidad névica baja-, y los melanomas asociados a alta densidad névica se encuentran solo en determinadas localizaciones, como la zona pectoral y los muslos [92]. Así pues, la relación entre la

densidad névica en el área del melanoma y su localización se puede constatar únicamente en determinadas localizaciones, como el tronco [61, 94]. Quedan, en cualquier caso, muchas incógnitas por despejar acerca de la asociación entre melanoma y densidad névica regional específica [59, 92, 93, 95, 96], por lo que hemos iniciado una línea de investigación secundaria en este sentido.

En cuanto al patrón de nevos, entre los pacientes con cualquiera de los subtipos de MAN predomina –como resulta lógico– la presencia de nevos en general (respecto a los pacientes con MDN, que con más frecuencia no presentan nevos). Los nevos comunes o mixtos son los más predominantes en los dos subgrupos de MAN, y los nevos junturales son más frecuentes entre los pacientes con MANdis (sin llegar a la significación estadística). El antecedente de haber extirpado al menos un nevo histológicamente displásico se asocia con el diagnóstico de MANdis.

Los antecedentes familiares (o personales) de melanoma se han asociado negativamente con el diagnóstico de MAN en la literatura [234]. En nuestra serie hemos podido observar una discrepancia en el caso del MANdis, al ser un diagnóstico positivamente asociado con la presencia de antecedentes familiares de melanoma. Esta asociación podría encontrar su explicación en que los nevos displásicos desde hace años se consideran marcadores de riesgo de melanoma tanto en general [70] como en los casos familiares [259]. Ello tendría relación con el hecho de que los pacientes con MANdis en nuestra serie presentaron con más frecuencia antecedentes personales de otros tipos de neoplasias (con predominio de los casos de cáncer de mama, con más tendencia a agregación familiar que otros tipos de cáncer) que aquellos con MANcom. Se ha relacionado el síndrome de nevo displásico con la aparición de otros tipos de cáncer [260]. Las asociaciones negativas de MAN con los antecedentes familiares de síndrome del nevo displásico o de melanoma múltiple [234] no se han analizado específicamente en nuestra cohorte, al no haber incluido el cumplimiento de criterios de síndrome de nevo displásico y haber excluido a los pacientes con melanoma múltiple a la hora de diseñar el estudio.

A nivel histológico, ambos tipos de MAN son predominantemente del subtipo histológico MES, en línea con publicaciones previas [72, 223, 225, 226, 230, 231]. También el

diagnóstico de MN se asocia con el de MANdis, lo cual está de acuerdo con un estudio de MAN en general [225], pero no con otros que han asociado negativamente MAN con subtipo MN [222, 223, 235, 244]. No hay asociación de MAN y LMM en nuestra serie, a diferencia de lo visto en otras publicaciones. [72, 222, 226] y en consonancia con la mayor parte de series publicadas.

El espesor del melanoma se considera por lo general menor en los pacientes con MAN. Este diagnóstico se ha asociado repetidamente de forma positiva con un menor índice de Breslow [72, 216, 220, 225, 234] y de forma negativa con mayores índices de Breslow o Clark [223, 224, 235, 244]. El análisis de nuestra cohorte ha permitido añadir, aparte de la confirmación de la literatura previa (si bien se observan espesores claramente menores en los pacientes con MANdis frente a MDN, la comparación de MANcom frente a MDN mostró significación únicamente en el modelo univariado), que los MANcom en general tienen mayor espesor de Breslow que los MANdis.

Existen más hallazgos histológicos vinculados al diagnóstico de MAN como: la elastosis a nivel histológico ausente o menor [220], únicamente confirmada entre los MANdis (aunque sin llegar a la significación tras ajuste multivariado); la presencia de mitosis, más frecuentes entre los MANcom que en los MANdis, y la menor presencia de ulceración entre los pacientes con MAN en general (aunque sin alcanzar la significación tras ajuste multivariado), en línea con dos referencias previas [233, 235].

Para terminar de abordar las características asociadas al diagnóstico de MAN, queda por hacer mención a los factores genético-moleculares. De ellos, el único con asociación significativa ha sido la presencia de variantes no-sinónimas del gen *MC1R* (dando predominio a las no-RHC), factor de riesgo para la aparición de MANdis. Su presencia predispone a las quemaduras solares y al melanoma en áreas de fotoexposición intermitente independientemente del fototipo. Se ha afirmado, además, que las variantes del gen *MC1R* podrían tener más importancia en el riesgo de melanoma que otros factores genéticos en la población española en comparación con otras poblaciones europeas [194]. El haber encontrado significación contribuye a subrayar la importancia de la fotoexposición y las quemaduras solares en la aparición de MAN [72, 228, 230]. Las variantes de tipo no-RHC

tienen una mayor prevalencia en poblaciones de fototipo más oscuro como la nuestra [192, 193].

El segundo objetivo ha quedado cubierto en las anteriores líneas. No obstante, subrayaremos las diferencias más destacadas entre los subgrupos de MAN. En este sentido, los pacientes con MANcom, en comparación con los MANdis: presentan una menor edad al diagnóstico (tienen con más frecuencia  $\leq 37,5$  años) y tienen menos antecedentes personales de otros tipos de neoplasias, pero presentan características pronósticas más desfavorables (más tendencia a recaída de la enfermedad, un índice de Breslow sensiblemente mayor -con más frecuencia de 1,01-2,00 mm-, y mayor presencia de mitosis).

Respecto al tercer objetivo planteado, los análisis de supervivencia que hemos realizado comparando MDN y MAN sobre nuestra cohorte muestran una tendencia favoreciendo a los pacientes con MAN en cuanto a supervivencia libre de enfermedad, si bien únicamente al seleccionar aquellos con melanoma en estadio localizado. Esto concuerda con los resultados de un estudio de 1983, en el que se pudo observar entre los pacientes con MAN una mayor supervivencia libre de enfermedad independientemente del estadio [216]. Además, la selección de pacientes con estadio localizado podría minimizar la posibilidad de sesgo de clasificación -de los melanomas avanzados como MDN-.

La supervivencia global muestra también hallazgos más favorables para los pacientes con MAN -de acuerdo con referencias previas que señalan una menor presencia de metástasis y muerte por MM [244]-, pero los modelos de regresión multivariante no han permitido confirmarlos. Ello concuerda con otros trabajos que tampoco han logrado encontrar diferencias significativas en términos de supervivencia global [233]. En este punto debemos hacer mención a la serie de Cymerman y colaboradores, que sí pudieron observar estadios menos avanzados y mayor supervivencia global entre pacientes con MAN [235]. A pesar de ser un trabajo con un número elevado de pacientes comparando dos cohortes recogidas de forma prospectiva, presenta algunas limitaciones, como la inclusión de pacientes con melanoma *in situ* (en ambas cohortes), lo que dificultaría la clasificación histológica definitiva de MAN [241].

Las curvas de supervivencia específica relacionada con el melanoma –análisis no realizados previamente en la literatura encontrada hasta la fecha– son similares pero no superponibles a las de supervivencia global, y los factores que tienen peso en sus modelos de Cox multivariante son algo diferentes. Así, mientras que en la primera tienen más peso el índice de Breslow y la edad avanzada, en la supervivencia global se añaden además el sexo masculino y la ulceración histológica.

Al hacer un análisis por subgrupos de MAN, las curvas de Kaplan-Meier muestran una tendencia evidente a una mayor supervivencia de los pacientes on MANdis, seguidos de los MANcom, y finalmente de los MDN. A pesar de ello, y aunque la regresión logística sí que ha puesto de manifiesto que los pacientes con MANdis, frente a los MANcom, presentan con mayor frecuencia recaídas, no se observan diferencias significativas tras ajuste multivariado entre los tres subgrupos empleando un modelo de Cox.

En respuesta al cuarto objetivo, constatamos que un 23,7% de los pacientes de nuestra población con melanoma cutáneo primario invasivo presentaban asociación con un nevo melanocítico previo en el estudio histológico. Entre ellos, un 48,7% (11,5% del total) fueron MANdis, y 51,3% (12,2% del total) MANcom. El porcentaje de MAN se encuentra próximo al de las dos series más amplias de pacientes publicadas en las pasadas dos décadas [230, 235], y se aproxima al 29,8% correspondiente al análisis agregado de las series publicadas hasta febrero de 2017.

Las amplias diferencias de proporción de MAN en las publicaciones previas –que quedaron revisadas en la introducción– se deben, entre otros factores, a los avances en el conocimiento de la biología de las neoplasias melanocíticas, con la evolución de los criterios diagnósticos (especialmente de las lesiones “limítrofes”), discordancias interobservador y diferencias metodológicas en el diseño de los estudios. Estas diferencias metodológicas, de marcada relevancia, implican –entre otras cosas– que una proporción elevada de las series publicadas incluyen pacientes con melanomas *in situ*, siendo lo óptimo haber incluido únicamente pacientes únicamente con melanomas invasivos, como hemos hecho en nuestro estudio. Así se recomienda por dermatopatólogos expertos en melanoma, dado que existe

posibilidad de sesgo de clasificación por la baja concordancia diagnóstica interobservador en el análisis histopatológico cuando se evalúan las lesiones pigmentadas clínicamente atípicas [58] o los melanomas *in situ* [241]. No obstante, al reevaluar la distribución de los casos según las categorías definidas con la inclusión de los melanomas *in situ* en nuestra población (N=1614 pacientes), hemos podido ver que las proporciones son similares para los MDN y MAN (23,2% de MAN, 66,9% de MDN y 9,9% sin datos de proliferación melanocítica asociada previa), por lo que parece razonable pensar que unos criterios de inclusión más estrictos no tienen por qué modificar de manera reseñable la proporción de MAN en general y MDN. Aunque sí podrían hacerlo al considerar subtipos de MAN, estos no fueron considerados habitualmente (solo fue hecho en 5 de las 29 publicaciones revisadas [220, 225-228]).

En relación con el quinto y último objetivo planteado, la proporción publicada de melanomas con lesiones névicas previas clínicamente evidentes (McAN) para los pacientes es ostensiblemente mayor que la de los MAN, al haber sido cifrada en 42-85% [236, 239]. Por ello, los autores que siguen este método de clasificación han defendido su idoneidad aduciendo que es posible que la clasificación histológica de MAN únicamente incluya aquellos melanomas en fases tempranas, pues el avance del melanoma podría conducir a la obliteración del componente névico [239]. En base a esta aproximación, un estudio observó un mayor índice de Breslow entre los McAN, pero sin alcanzar significación estadística al controlar para otros factores pronósticos [239], mientras que un trabajo posterior no encontró hallazgos a favor de un mejor o peor pronóstico [236].

En este sentido, los análisis *ad hoc* que hemos realizado para calcular la concordancia entre el diagnóstico clínico e histológico de la asociación de nevo y melanoma ha permitido constatar una concordancia baja: de un 18% considerando los melanomas asociados en base a tiempos de evolución establecidos por los propios pacientes, y de en torno a un 35% al combinar diferentes variables en un modelo de comportamiento clínico frente a un modelo basado en la asociación histológica junto con otros hallazgos. De este último análisis resulta relevante destacar el grupo de pacientes con melanomas nodulares de Breslow  $\leq 1$  mm con lesiones de más de 10 años de evolución sin clara percepción de cambios, casos en los que

sería verosímil hipotetizar que no hay un crecimiento radial sino tan solo un crecimiento vertical muy lento.

Consideramos que ninguna de las dos aproximaciones al diagnóstico identifica de forma efectiva todos los casos de melanoma en los que biológicamente ha existido un nevo melanocítico previo. Podemos estimar, a partir de nuestros resultados, que el porcentaje de melanomas asociados a nevos en los que el componente névico ha desaparecido por el crecimiento del melanoma debe ser bajo. La aproximación histológica continúa siendo la más objetiva para los MAN (al menos para los invasores), aunque con algunas limitaciones, entre las que destaca la concordancia interobservador. La aproximación clínica al diagnóstico, además de presentar restricciones (destacando el sesgo de recuerdo de los pacientes), resulta menos útil que la histológica. Sin embargo, la definición histopatológica de MAN considera que la mayor parte de los nevos adyacentes a un MAN son efectivamente precursores del melanoma: hasta la introducción y generalización de marcadores biológicos o inmunohistoquímicos que maximicen la posibilidad de identificar el potencial componente névico precursor de un melanoma, puede ser de utilidad continuar recogiendo el antecedente clínico además del histológico.

De cara a la interpretación de todos estos resultados, han de tenerse en cuenta las limitaciones y potenciales sesgos del estudio, que pueden afectar a la interpretación y generalización de lo observado:

- El presente es un estudio observacional retrospectivo, con las limitaciones inherentes a este tipo de diseño. No obstante, los datos fueron recogidos de forma prospectiva y homogénea, siempre por médicos especialistas en Dermatología.
- La población estudiada proviene de un único centro. A pesar de ello, el IVO es un centro de referencia para el diagnóstico y tratamiento de pacientes oncológicos en la Comunidad Valenciana y a nivel nacional.
- En el registro de algunas variables clínicas existe posibilidad de sesgo de memoria: algunos de los datos tienen un componente de subjetividad, como el número de quemaduras solares en la infancia, los antecedentes de quemaduras solares en el área

del melanoma o la presencia de una lesión previa clínicamente evidente. Sin embargo, el haber incluido únicamente pacientes afectados por melanoma hace que la posibilidad de este sesgo quede probablemente distribuida de forma homogénea entre los grupos estudiados.

- La posibilidad de sesgo interobservador existe a nivel clínico, si bien el registro de la mayor parte de datos fue supervisada por el Dr. Nagore y realizada exclusivamente por dermatólogos (a diferencia de otras publicaciones citadas, en las que las variables de antecedentes personales y de la exploración física fueron recogidas por otras personas, como asistentes de investigación entrenados [253]). Este sesgo no pudo existir a nivel anatomopatológico, al haberse realizado el estudio histopatológico por parte de un único dermatopatólogo experto, el Dr. Víctor Traves.
- Es un hecho que la distinción a nivel clínico entre nevo melanocítico y lentigo solar es difícil, por lo que es posible un sesgo de clasificación de la variable del número de nevos. Aunque el registro de este dato se haya hecho con una definición clínica estricta –de acuerdo con publicaciones previas, se estableció como límite entre nevo y lentigo solar una dimensión de >2 mm para el diagnóstico de nevo y la tendencia de los lentigos solares a la confluencia y a situarse en zonas fotoexpuestas– y apoyado en dermatoscopia, algunas de estas lesiones pigmentadas solo podrían encontrar diagnóstico definitivo tras el estudio histopatológico.
- Entre las variables histopatológicas, no se tuvo en cuenta la regresión. La regresión histológica puede influir en el cálculo del Breslow definitivo, en la valoración de lesiones preexistentes, etc. No se incluyó finalmente por la variabilidad que han tenido los criterios de regresión histológica y su significación pronóstica a lo largo de los últimos años [261].
- La definición de MAN se hizo a nivel histopatológico y no se realizaron estudios de biología molecular dirigidos específicamente a confirmar que el nevo melanocítico adyacente fuese precursor del melanoma. En cualquier caso, se considera que la mayor parte de los nevos adyacentes a un MAN son efectivamente precursores del melanoma [180].
- No se ha podido encontrar asociación estadística con otras características genéticas aparte de las descritas en el gen *MC1R*. Se ha postulado que las variantes del gen

*MC1R* podrían tener más importancia en el riesgo de melanoma que otros factores genéticos en la población española respecto a la de otras partes de Europa [194]. Es posible que la realización de estudios con mayor tamaño muestral permita encontrar asociaciones significativas que den explicación a los comportamientos diferentes de los subgrupos de pacientes.

Finalmente, como consecuencia de nuestros trabajos se pueden definir las pautas que creemos adecuadas para proponer en la práctica habitual, que sistematizamos a continuación:

- 1) Consideramos idóneo continuar preguntando a los pacientes en la anamnesis básica sobre los antecedentes de quemaduras solares, la presencia lesiones clínicas previas y su tiempo de evolución, así como seguir registrando de forma sistemática el tipo de lesión asociada al melanoma en el estudio histopatológico.
- 2) Hemos de advertir a los pacientes que deben proteger de las quemaduras solares aquellas zonas con más nevos, sobre todo en el tronco, dada la mayor frecuencia de MAN.
- 3) En el diagnóstico y seguimiento de los pacientes con melanoma cutáneo o con mayor riesgo de desarrollarlo, y especialmente entre aquellos con antecedentes de exéresis de nevos displásicos, creemos que es aconsejable incluir el estudio del gen *MC1R*, pues su presencia constituye un factor de riesgo para el desarrollo de MAN. Este debería realizarse incluso en ausencia de los fenotipos clásicamente asociados a la presencia de variantes no-sinónimas tipo RHC, al ser frecuente en los pacientes españoles su presencia sin un fenotipo pelirrojo.
- 4) De acuerdo con los resultados, reafirmamos que es preciso realizar el seguimiento periódico de los pacientes con múltiples nevos melanocíticos, a ser posible mediante la realización de mapas corporales totales y/o dermatoscopia digital.
- 5) Creemos necesario seguir incidiendo en la necesidad de autoexploración periódica por los pacientes de toda la superficie cutánea (insistiendo en aquellas zonas menos visibles), no solo para la detección de lesiones nuevas, sino también para conocer los cambios en las preexistentes, sobre lo cual hay que incidir en los pacientes jóvenes con múltiples nevos melanocíticos.



## ***VII. Conclusiones***

*Melanoma asociado a nevo melanocítico: Análisis de factores clínicos, epidemiológicos, histopatológicos y de biología molecular*



1. Los MAN presentan características pronósticas más favorables que los MDN. Destacan una edad de presentación más joven, un menor Breslow y una menor presencia de ulceración y mitosis.
2. Los pacientes con MANdis tienen características clínicas e histológicas más favorables que aquellos con MANcom, y ambos subtipos de MAN comparten características menos agresivas que los MDN.  
Los pacientes con MANcom, en comparación con los MANdis, son más jóvenes y tienen menos antecedentes personales de otros tipos de neoplasias. aunque por otra parte suelen presentar factores pronósticos más desfavorables (mayor predisposición a recaída de la enfermedad, un índice de Breslow más elevado, y una mayor presencia de mitosis).  
El diagnóstico de MANdis se asocia con la presencia de variantes no-sinónimas del gen *MC1R* y antecedentes de quemaduras solares en el área del melanoma, lo que acentúa la importancia de la fotoexposición intermitente en su aparición.
3. Aunque se observa una mayor supervivencia entre los pacientes con MAN (mayor entre MANdis que MANcom) respecto a MDN, ello es dependiente de la presentación con características clínico-patológicas de mejor pronóstico.
4. El 23,7% de los melanomas cutáneos primarios de los pacientes de nuestra cohorte aparecieron en asociación histológica a un nevo melanocítico. Considerando el tipo de nevo preexistente, el 11,5% presentaron melanomas en asociación con nevo displásico y el 12,2% melanomas en asociación con nevo común.
5. Existe un grado de concordancia bajo (18-38,6%) entre la definición de melanoma asociado a nevo basado en la información clínica aportada por el paciente y la que se basa en la presencia o ausencia de nevo en contigüidad con el melanoma en el estudio histológico.



## *VIII. Bibliografía*

*Melanoma asociado a nevo melanocítico: Análisis de factores clínicos, epidemiológicos, histopatológicos y de biología molecular*



1. Clark WH, Jr. A classification of malignant melanoma in man correlated with histogenesis and biologic behavior. In: Montagna W, Hu F, editors. *Advances in the Biology of the Skin*. New York: Pergamon; 1967. p. 621-47.
2. McGovern VJ. The classification of melanoma and its relationship with prognosis. *Pathology* 1970;2:85-98.
3. Miller AJ, Mihm MC, Jr. Melanoma. *N Engl J Med* 2006;355:51-65.
4. Goldstein AM, Chan M, Harland M, Gillanders EM, Hayward NK, Avril MF *et al.* High-risk melanoma susceptibility genes and pancreatic cancer, neural system tumors, and uveal melanoma across GenoMEL. *Cancer Res* 2006;66:9818-28.
5. Bruno W, Ghiorzo P, Battistuzzi L, Ascierto PA, Barile M, Gargiulo S *et al.* Clinical genetic testing for familial melanoma in Italy: a cooperative study. *J Am Acad Dermatol* 2009;61:775-82.
6. Network CGA. Genomic Classification of Cutaneous Melanoma. *Cell* 2015;161:1681-96.
7. Beadling C, Jacobson-Dunlop E, Hodi FS, Le C, Warrick A, Patterson J *et al.* KIT gene mutations and copy number in melanoma subtypes. *Clin Cancer Res* 2008;14:6821-8.
8. 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. *J Invest Dermatol* 2013;133:1027-33.
9. Newton-Bishop JA, Chang YM, Iles MM, Taylor JC, Bakker B, Chan M *et al.* Melanocytic nevi, nevus genes, and melanoma risk in a large case-control study in the United Kingdom. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010;19:2043-54.
10. Nielsen K, Harbst K, Masback A, Jonsson G, Borg A, Olsson H *et al.* Swedish CDKN2A mutation carriers do not present the atypical mole syndrome phenotype. *Melanoma Res* 2010;20:266-72.
11. Thomas NE, Edmiston SN, Alexander A, Millikan RC, Groben PA, Hao H *et al.* Number of nevi and early-life ambient UV exposure are associated with BRAF-mutant melanoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16:991-7.
12. Ward KA, Lazovich D, Hordinsky MK. Germline melanoma susceptibility and prognostic genes: a review of the literature. *J Am Acad Dermatol* 2012;67:1055-67.

13. Bastian BC. The molecular pathology of melanoma: an integrated taxonomy of melanocytic neoplasia. *Annu Rev Pathol* 2014;9:239-71.
14. Whiteman DC, Pavan WJ, Bastian BC. The melanomas: a synthesis of epidemiological, clinical, histopathological, genetic, and biological aspects, supporting distinct subtypes, causal pathways, and cells of origin. *Pigment Cell Melanoma Res* 2011;24:879-97.
15. Whiteman DC, Parsons PG, Green AC. p53 expression and risk factors for cutaneous melanoma: a case-control study. *Int J Cancer* 1998;77:843-8.
16. Ackerman AB, Magana-Garcia M. Naming acquired melanocytic nevi. Unna's, Miescher's, Spitz's Clark's. *Am J Dermatopathol* 1990;12:193-209.
17. Ackerman AB, Milde P. Naming acquired melanocytic nevi. Common and dysplastic, normal and atypical, or Unna, Miescher, Spitz, and Clark? *Am J Dermatopathol* 1992;14:447-53.
18. Shapiro M, Chren MM, Levy RM, Elder DE, LeBoit PE, Mihm MC, Jr. *et al.* Variability in nomenclature used for nevi with architectural disorder and cytologic atypia (microscopically dysplastic nevi) by dermatologists and dermatopathologists. *J Cutan Pathol* 2004;31:523-30.
19. Witt C, Krenzel S. Clinical and epidemiological aspects of subtypes of melanocytic nevi (Flat nevi, Miescher nevi, Unna nevi). *Dermatol Online J* 2010;16:1.
20. Unna PG. Naevi und Naevocarcinome. *Berliner Klin Wochenschr* 1893;14-6.
21. Massi G, LeBoit PE. Common Nevus. In: Massi G, LeBoit PE, editors. *Histological Diagnosis of Nevi and Melanoma*. 2 ed. New York: Springer; 2014. p. 29-46.
22. Krenzel S. Nevogenesis--new thoughts regarding a classical problem. *Am J Dermatopathol* 2005;27:456-65.
23. Saida T. Histogenesis of congenital and acquired melanocytic nevi: a unifying concept. *Am J Dermatopathol* 2006;28:377-9.
24. Masson P. My conception of cellular nevi. *Cancer* 1951;4:9-38.
25. Cramer SF. The origin of epidermal melanocytes. Implications for the histogenesis of nevi and melanomas. *Arch Pathol Lab Med* 1991;115:115-9.
26. Dadzie OE, Goerig R, Bhawan J. Incidental microscopic foci of nevic aggregates in skin. *Am J Dermatopathol* 2008;30:45-50.

27. Pellacani G, Scope A, Ferrari B, Pupelli G, Bassoli S, Longo C *et al.* New insights into neovogenesis: in vivo characterization and follow-up of melanocytic nevi by reflectance confocal microscopy. *J Am Acad Dermatol* 2009;61:1001-13.
28. Massi G, LeBoit PE. *Histological Diagnosis of Nevi and Melanoma*. 2 ed. Massi G, LeBoit PE, editors. New York: Springer; 2014.
29. Clark WH, Jr., Reimer RR, Greene M, Ainsworth AM, Mastrangelo MJ. Origin of familial malignant melanomas from heritable melanocytic lesions. 'The B-K mole syndrome'. *Arch Dermatol* 1978;114:732-8.
30. Elder DE, Green MH, Guerry Dt, Kraemer KH, Clark WH, Jr. The dysplastic nevus syndrome: our definition. *Am J Dermatopathol* 1982;4:455-60.
31. Greene MH, Reimer RR, Clark WH, Jr., Mastrangelo MJ. Precursor lesions in familial melanoma. *Semin Oncol* 1978;5:85-7.
32. Lynch HT, Shaw TG. Familial atypical multiple mole melanoma (FAMMM) syndrome: history, genetics, and heterogeneity. *Fam Cancer* 2016;15:487-91.
33. Johansen P, Andersen JD, Madsen LN, Ullum H, Glud M, Borsting C *et al.* Pigmentary Markers in Danes--Associations with Quantitative Skin Colour, Nevi Count, Familial Atypical Multiple-Mole, and Melanoma Syndrome. *PloS One* 2016;11:e0150381.
34. NIH Consensus conference. Diagnosis and treatment of early melanoma. *JAMA* 1992;268:1314-9.
35. Bergman W, van Voorst Vader PC, Ruiters DJ. Dysplastic nevi and the risk of melanoma: a guideline for patient care. *Ned Tijdschr Geneesk* 1997;141:2010-4.
36. Newton JA, Bataille V, Griffiths K, Squire JM, Sasieni P, Cuzick J *et al.* How common is the atypical mole syndrome phenotype in apparently sporadic melanoma? *J Am Acad Dermatol* 1993;29:989-96.
37. Bishop JA, Wachsmuth RC, Harland M, Bataille V, Pinney E, Mac KP *et al.* Genotype/phenotype and penetrance studies in melanoma families with germline CDKN2A mutations. *J Invest Dermatol* 2000;114:28-33.
38. Kraemer KH, Greene MH, Tarone R, Elder DE, Clark WH, Jr., Guerry Dt. Dysplastic naevi and cutaneous melanoma risk. *Lancet* 1983;2:1076-7.
39. Rigel DS, Rivers JK, Friedman RJ, Kopf AW. Risk gradient for malignant melanoma in individuals with dysplastic naevi. *Lancet* 1988;1:352-3.

40. Slade J, Marghoob AA, Salopek TG, Rigel DS, Kopf AW, Bart RS. Atypical mole syndrome: risk factor for cutaneous malignant melanoma and implications for management. *J Am Acad Dermatol* 1995;32:479-94.
41. Barnhill RL, Roush GC. Correlation of clinical and histopathologic features in clinically atypical melanocytic nevi. *Cancer* 1991;67:3157-64.
42. Grob JJ, Andrac L, Romano MH, Davin D, Collet-Villette AM, Munoz MH *et al.* Dysplastic naevus in non-familial melanoma. A clinicopathological study of 101 cases. *Br J Dermatol* 1988;118:745-52.
43. Klein LJ, Barr RJ. Histologic atypia in clinically benign nevi. A prospective study. *J Am Acad Dermatol* 1990;22:275-82.
44. Duffy K, Grossman D. The dysplastic nevus: from historical perspective to management in the modern era: part I. Historical, histologic, and clinical aspects. *J Am Acad Dermatol* 2012;67:1e-16.
45. Annessi G, Cattaruzza MS, Abeni D, Baliva G, Laurenza M, Macchini V *et al.* Correlation between clinical atypia and histologic dysplasia in acquired melanocytic nevi. *J Am Acad Dermatol* 2001;45:77-85.
46. Meyer LJ, Piepkorn M, Goldgar DE, Lewis CM, Cannon-Albright LA, Zone JJ *et al.* Interobserver concordance in discriminating clinical atypia of melanocytic nevi, and correlations with histologic atypia. *J Am Acad Dermatol* 1996;34:618-25.
47. Grob JJ, Stern RS, McKie RM, *al. e.* IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans - Solar and ultraviolet radiation. Lyon: IARC; 1992.
48. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Abeni D, Boyle P *et al.* Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: I. Common and atypical naevi. *Eur J Cancer* 2005;41:28-44.
49. Tucker MA, Halpern A, Holly EA, Hartge P, Elder DE, Sagebiel RW *et al.* Clinically recognized dysplastic nevi. A central risk factor for cutaneous melanoma. *JAMA* 1997;277:1439-44.
50. Ackerman AB. What naevus is dysplastic, a syndrome and the commonest precursor of malignant melanoma? A riddle and an answer. *Histopathology* 1988;13:241-56.
51. Clemente C, Cochran AJ, Elder DE, Levene A, MacKie RM, Mihm MC *et al.* Histopathologic diagnosis of dysplastic nevi: concordance among pathologists convened by the World Health Organization Melanoma Programme. *Hum Pathol* 1991;22:313-9.

52. de Wit PE, van't Hof-Grootenboer B, Ruiter DJ, Bondi R, Brocker EB, Cesarini JP *et al.* Validity of the histopathological criteria used for diagnosing dysplastic naevi. An interobserver study by the pathology subgroup of the EORTC Malignant Melanoma Cooperative Group. *Eur J Cancer* 1993;29A:831-9.
53. Shea CR, Vollmer RT, Prieto VG. Correlating architectural disorder and cytologic atypia in Clark (dysplastic) melanocytic nevi. *Hum Pathol* 1999;30:500-5.
54. Piepkorn MW, Barnhill RL, Cannon-Albright LA, Elder DE, Goldgar DE, Lewis CM *et al.* A multiobserver, population-based analysis of histologic dysplasia in melanocytic nevi. *J Am Acad Dermatol* 1994;30:707-14.
55. Duncan LM, Berwick M, Bruijn JA, Byers HR, Mihm MC, Barnhill RL. Histopathologic recognition and grading of dysplastic melanocytic nevi: an interobserver agreement study. *J Invest Dermatol* 1993;100:318S-21S.
56. Weinstock MA, Barnhill RL, Rhodes AR, Brodsky GL. Reliability of the histopathologic diagnosis of melanocytic dysplasia. The Dysplastic Nevus Panel. *Arch Dermatol* 1997;133:953-8.
57. Barr RJ, Linden KG, Rubinstein G, Cantos KA. Analysis of heterogeneity of atypia within melanocytic nevi. *Arch Dermatol* 2003;139:289-92.
58. Brochez L, Verhaeghe E, Grosshans E, Haneke E, Pierard G, Ruiter D *et al.* Interobserver variation in the histopathological diagnosis of clinically suspicious pigmented skin lesions. *J Pathol* 2002;196:459-66.
59. Whiteman DC, Watt P, Purdie DM, Hughes MC, Hayward NK, Green AC. Melanocytic nevi, solar keratoses, and divergent pathways to cutaneous melanoma. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:806-12.
60. Gallus S, Naldi L, Carli P, La Vecchia C. Nevus count on specific anatomic sites as a predictor of total body count: a survey of 3,406 children from Italy. *Am J Epidemiol* 2007;166:472-8.
61. Olsen CM, Zens MS, Stukel TA, Sacerdote C, Chang YM, Armstrong BK *et al.* Nevus density and melanoma risk in women: a pooled analysis to test the divergent pathway hypothesis. *Int J Cancer* 2009;124:937-44.
62. Duffy DL, Iles MM, Glass D, Zhu G, Barrett JH, Hoiom V *et al.* IRF4 variants have age-specific effects on nevus count and predispose to melanoma. *Am J Hum Genet* 2010;87:6-16.

63. Kvaskoff M, Whiteman DC, Zhao ZZ, Montgomery GW, Martin NG, Hayward NK *et al.* Polymorphisms in nevus-associated genes MTAP, PLA2G6, and IRF4 and the risk of invasive cutaneous melanoma. *Twin Res Hum Genet* 2011;14:422-32.
64. Zhu G, Duffy DL, Eldridge A, Grace M, Mayne C, O'Gorman L *et al.* A major quantitative-trait locus for mole density is linked to the familial melanoma gene CDKN2A: a maximum-likelihood combined linkage and association analysis in twins and their sibs. *Am J Hum Genet* 1999;65:483-92.
65. Wachsmuth RC, Gaut RM, Barrett JH, Saunders CL, Randerson-Moor JA, Eldridge A *et al.* Heritability and gene-environment interactions for melanocytic nevus density examined in a U.K. adolescent twin study. *J Invest Dermatol* 2001;117:348-52.
66. Wachsmuth RC, Turner F, Barrett JH, Gaut R, Randerson-Moor JA, Bishop DT *et al.* The effect of sun exposure in determining nevus density in UK adolescent twins. *J Invest Dermatol* 2005;124:56-62.
67. Bataille V, Snieder H, MacGregor AJ, Sasieni P, Spector TD. Genetics of risk factors for melanoma: an adult twin study of nevi and freckles. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:457-63.
68. Marghoob AA. The dangers of atypical mole (dysplastic nevus) syndrome. Teaching at-risk patients to protect themselves from melanoma. *Postgrad Med* 1999;105:147-8.
69. Rieger E, Soyer HP, Garbe C, Buttner P, Kofler R, Weiss J *et al.* Overall and site-specific risk of malignant melanoma associated with nevus counts at different body sites: a multicenter case-control study of the German Central Malignant-Melanoma Registry. *Int J Cancer* 1995;62:393-7.
70. Albert LS, Rhodes AR, Sober AJ. Dysplastic melanocytic nevi and cutaneous melanoma: markers of increased melanoma risk for affected persons and blood relatives. *J Am Acad Dermatol* 1990;22:69-75.
71. Chang YM, Newton-Bishop JA, Bishop DT, Armstrong BK, Bataille V, Bergman W *et al.* A pooled analysis of melanocytic nevus phenotype and the risk of cutaneous melanoma at different latitudes. *Int J Cancer* 2009;124:420-8.
72. Purdue MP, From L, Armstrong BK, Krickler A, Gallagher RP, McLaughlin JR *et al.* Etiologic and other factors predicting nevus-associated cutaneous malignant melanoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:2015-22.

73. Kvaskoff M, Pandeya N, Green AC, Perry S, Baxter C, Davis MB *et al.* Site-specific determinants of cutaneous melanoma: a case-case comparison of patients with tumors arising on the head or trunk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013;22:2222-31.
74. Dubin N, Moseson M, Pasternack BS. Epidemiology of malignant melanoma: pigmentary traits, ultraviolet radiation, and the identification of high-risk populations. *Recent Results Cancer Res* 1986;102:56-75.
75. Gallagher RP, McLean DI, Yang CP, Coldman AJ, Silver HK, Spinelli JJ *et al.* Suntan, sunburn, and pigmentation factors and the frequency of acquired melanocytic nevi in children. Similarities to melanoma: the Vancouver Mole Study. *Arch Dermatol* 1990;126:770-6.
76. Echeverria B, Bulliard JL, Guillen C, Nagore E. Indicators for the total number of melanocytic naevi: an adjunct for screening campaigns. Observational study on 292 patients. *Br J Dermatol* 2014;170:144-9.
77. Farinas-Alvarez C, Rodenas JM, Herranz MT, Delgado-Rodriguez M. The naevus count on the arms as a predictor of the number of melanocytic naevi on the whole body. *Br J Dermatol* 1999;140:457-62.
78. Ribero S, Zugna D, Osella-Abate S, Glass D, Nathan P, Spector T *et al.* Prediction of high naevus count in a healthy U.K. population to estimate melanoma risk. *Br J Dermatol* 2016;174:312-8.
79. Argenziano G, Giacomel J, Zalaudek I, Apalla Z, Blum A, De Simone P *et al.* Twenty nevi on the arms: a simple rule to identify patients younger than 50 years of age at higher risk for melanoma. *Eur J Cancer Prev* 2014;23:458-63.
80. Cust AE, Pickles KM, Goumas C, Vu T, Schmid H, Nagore E *et al.* Accuracy of self-reported nevus and pigmentation phenotype compared with clinical assessment in a population-based study of young Australian adults. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2015;24:736-43.
81. Fiessler C, Pfahlberg A, Li J, Uter W, Gefeller O. Accuracy and reliability of naevus self-counts. *Melanoma Res* 2014;24:611-6.
82. Walter SD, Ashbolt R, Dwyer T, Marrett LD. Do larger people have more naevi? Naevus frequency versus naevus density. *Int J Epidemiol* 2000;29:1025-30.

83. Geller AC, Mayer JE, Sober AJ, Miller DR, Argenziano G, Johnson TM *et al.* Total Nevi, Atypical Nevi, and Melanoma Thickness: An Analysis of 566 Patients at 2 US Centers. *JAMA Dermatol* 2016;152:413-8.
84. Pfahlberg A, Uter W, Kraus C, Wienecke WR, Reulbach U, Kolmel KF *et al.* Monitoring of nevus density in children as a method to detect shifts in melanoma risk in the population. *Prev Med* 2004;38:382-7.
85. Morze CJ, Olsen CM, Perry SL, Jackman LM, Ranieri BA, O'Brien SM *et al.* Good test-retest reproducibility for an instrument to capture self-reported melanoma risk factors. *J Clin Epidemiol* 2012;65:1329-36.
86. Vuong K, Armstrong BK, Weiderpass E, Lund E, Adami HO, Veierod MB *et al.* Development and External Validation of a Melanoma Risk Prediction Model Based on Self-assessed Risk Factors. *JAMA Dermatol* 2016;152:889-96.
87. Lopez-Ravello BM, Arias-Santiago S, Fernandez-Pugnaire MA, Ortega SS, Buendia-Eisman A. Prevalence of common and atypical melanocytic nevi in young adults and its relationship with sun protection and exposure habits. *Eur J Dermatol* 2015;25:45-51.
88. Welkovich B, Landthaler M, Schmoeckel C, Braun-Falco O. The number and distribution of nevus cell nevi in patients with malignant melanoma. *Hautarzt* 1989;40:630-5.
89. Green A. A theory of site distribution of melanomas: Queensland, Australia. *Cancer Causes Control* 1992;3:513-6.
90. Dodd AT, Morelli J, Mokrohisky ST, Asdigian N, Byers TE, Crane LA. Melanocytic nevi and sun exposure in a cohort of colorado children: anatomic distribution and site-specific sunburn. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16:2136-43.
91. Valiukeviciene S, Gollnick H, Stang A. Body-site distribution of common acquired melanocytic nevi associated with severe sunburns among children in Lithuania. *Int J Dermatol* 2007;46:1242-9.
92. Chiarugi A, Quaglino P, Crocetti E, Nardini P, De Giorgi V, Borgognoni L *et al.* Melanoma density and relationship with the distribution of melanocytic naevi in an Italian population: a GIPMe study--the Italian multidisciplinary group on melanoma. *Melanoma Res* 2015;25:80-7.

93. Rodenas JM, Delgado-Rodríguez M, Farinas-Alvarez C, Herranz MT, Serrano S. Melanocytic nevi and risk of cutaneous malignant melanoma in southern Spain. *Am J Epidemiol* 1997;145:1020-9.
94. Randi G, Naldi L, Gallus S, Di Landro A, La Vecchia C. Number of nevi at a specific anatomical site and its relation to cutaneous malignant melanoma. *J Invest Dermatol* 2006;126:2106-10.
95. Green A, MacLennan R, Siskind V. Common acquired naevi and the risk of malignant melanoma. *Int J Cancer* 1985;35:297-300.
96. Weinstock MA, Colditz GA, Willett WC, Stampfer MJ, Bronstein BR, Mihm MC, Jr. *et al.* Moles and site-specific risk of nonfamilial cutaneous malignant melanoma in women. *J Natl Cancer Inst* 1989;81:948-52.
97. Ribero S, Davies JR, Requena C, Carrera C, Glass D, Rull R *et al.* High nevus counts confer a favorable prognosis in melanoma patients. *Int J Cancer* 2015;137:1691-8.
98. Whiteman DC, Brown RM, Purdie DM, Hughes MC. Melanocytic nevi in very young children: the role of phenotype, sun exposure, and sun protection. *J Am Acad Dermatol* 2005;52:40-7.
99. Carli P, Naldi L, Lovati S, La Vecchia C. The density of melanocytic nevi correlates with constitutional variables and history of sunburns: a prevalence study among Italian schoolchildren. *Int J Cancer* 2002;101:375-9.
100. Graham A, Fuller A, Murphy M, Jones M, Forman D, Swerdlow AJ. Maternal and child constitutional factors and the frequency of melanocytic naevi in children. *Paediatr Perinat Epidemiol* 1999;13:316-24.
101. Dellavalle RP, Johnson KR, Hester EJ, Deas AM, Mokrohisky S, Morelli JG *et al.* Children with red hair have more freckles but fewer melanocytic nevi: results from a cohort study of 280 three-year-olds. *Arch Dermatol* 2005;141:1042-3.
102. Aalborg J, Morelli JG, Byers TE, Mokrohisky ST, Crane LA. Effect of hair color and sun sensitivity on nevus counts in white children in Colorado. *J Am Acad Dermatol* 2010;63:430-9.
103. English DR, Armstrong BK. Melanocytic nevi in children. I. Anatomic sites and demographic and host factors. *Am J Epidemiol* 1994;139:390-401.

104. MacKie RM, English J, Aitchison TC, Fitzsimons CP, Wilson P. The number and distribution of benign pigmented moles (melanocytic naevi) in a healthy British population. *Br J Dermatol* 1985;113:167-74.
105. Pope DJ, Sorahan T, Marsden JR, Ball PM, Grimley RP, Peck IM. Benign pigmented nevi in children. Prevalence and associated factors: the West Midlands, United Kingdom Mole Study. *Arch Dermatol* 1992;128:1201-6.
106. Gallagher RP, McLean DI, Yang CP, Coldman AJ, Silver HK, Spinelli JJ *et al.* Anatomic distribution of acquired melanocytic nevi in white children. A comparison with melanoma: the Vancouver Mole Study. *Arch Dermatol* 1990;126:466-71.
107. Holterhues C, Cornish D, van de Poll-Franse LV, Krekels G, Koedijk F, Kuijpers D *et al.* Impact of melanoma on patients' lives among 562 survivors: a Dutch population-based study. *Arch Dermatol* 2011;147:177-85.
108. Schmidt AN, Nanney LB, Boyd AS, King LE, Jr., Ellis DL. Oestrogen receptor-beta expression in melanocytic lesions. *Exp Dermatol* 2006;15:971-80.
109. Kelly JW, Rivers JK, MacLennan R, Harrison S, Lewis AE, Tate BJ. Sunlight: a major factor associated with the development of melanocytic nevi in Australian schoolchildren. *J Am Acad Dermatol* 1994;30:40-8.
110. Dulon M, Weichenthal M, Blettner M, Breitbart M, Hetzer M, Greinert R *et al.* Sun exposure and number of nevi in 5- to 6-year-old European children. *J Clin Epidemiol* 2002;55:1075-81.
111. Mosteller RD. Simplified calculation of body-surface area. *N Engl J Med* 1987;317:1098.
112. Lund CC, Browder NC. The estimation of areas of burns. *Surg Gynecol Obstet* 1944;79:8.
113. Karlsson MA, Rodvall Y, Wahlgren CF, Wiklund K, Lindelof B. Similar anatomical distributions of childhood naevi and cutaneous melanoma in young adults residing in northern and southern Sweden. *Eur J Cancer* 2015;51:2067-75.
114. Harrison SL, MacLennan R, Buettner PG. Sun exposure and the incidence of melanocytic nevi in young Australian children. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008;17:2318-24.

115. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Picconi O, Boyle P *et al.* Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. *Eur J Cancer* 2005;41:45-60.
116. Bauer J, Buttner P, Wiecker TS, Luther H, Garbe C. Risk factors of incident melanocytic nevi: a longitudinal study in a cohort of 1,232 young German children. *Int J Cancer* 2005;115:121-6.
117. Wiecker TS, Luther H, Buettner P, Bauer J, Garbe C. Moderate sun exposure and nevus counts in parents are associated with development of melanocytic nevi in childhood: a risk factor study in 1,812 kindergarten children. *Cancer* 2003;97:628-38.
118. Kaskel P, Sander S, Kron M, Kind P, Peter RU, Krahn G. Outdoor activities in childhood: a protective factor for cutaneous melanoma? Results of a case-control study in 271 matched pairs. *Br J Dermatol* 2001;145:602-9.
119. Rivers JK. Is there more than one road to melanoma? *Lancet* 2004;363:728-30.
120. Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, Patel HN, Busam KJ, Kutzner H *et al.* Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med* 2005;353:2135-47.
121. Landsberg J, Kohlmeyer J, Renn M, Bald T, Rogava M, Cron M *et al.* Melanomas resist T-cell therapy through inflammation-induced reversible dedifferentiation. *Nature* 2012;490:412-6.
122. Widmer DS, Hoek KS, Cheng PF, Eichhoff OM, Biedermann T, Raaijmakers MI *et al.* Hypoxia contributes to melanoma heterogeneity by triggering HIF1alpha-dependent phenotype switching. *J Invest Dermatol* 2013;133:2436-43.
123. Haass NK, Ripperger D, Wladykowski E, Dawson P, Gimotty PA, Blome C *et al.* Melanoma progression exhibits a significant impact on connexin expression patterns in the epidermal tumor microenvironment. *Histochem Cell Biol* 2010;133:113-24.
124. Marionnet C, Pierrard C, Golebiewski C, Bernerd F. Diversity of biological effects induced by longwave UVA rays (UVA1) in reconstructed skin. *PloS One* 2014;9:e105263.
125. Bastian BC. The molecular pathology of melanoma: an integrated taxonomy of melanocytic neoplasia. *Annu Rev Pathol* 2014;9:239-71.
126. Hui P, Perkins A, Glusac E. Assessment of clonality in melanocytic nevi. *J Cutan Pathol* 2001;28:140-4.

127. Indsto JO, Cachia AR, Kefford RF, Mann GJ. X inactivation, DNA deletion, and microsatellite instability in common acquired melanocytic nevi. *Clin Cancer Res* 2001;7:4054-9.
128. Robinson WA, Lemon M, Elefanta A, Harrison-Smith M, Markham N, Norris D. Human acquired naevi are clonal. *Melanoma Res* 1998;8:499-503.
129. Ichii-Nakato N, Takata M, Takayanagi S, Takashima S, Lin J, Murata H *et al.* High frequency of BRAFV600E mutation in acquired nevi and small congenital nevi, but low frequency of mutation in medium-sized congenital nevi. *J Invest Dermatol* 2006;126:2111-8.
130. Harada M, Suzuki M, Ikeda T, Kaneko T, Harada S, Fukayama M. Clonality in nevocellular nevus and melanoma: an expression-based clonality analysis at the X-linked genes by polymerase chain reaction. *J Invest Dermatol* 1997;109:656-60.
131. Michaloglou C, Vredeveld LC, Soengas MS, Denoyelle C, Kuilman T, van der Horst CM *et al.* BRAFV600E-associated senescence-like cell cycle arrest of human naevi. *Nature* 2005;436:720-4.
132. Bennett DC. Human melanocyte senescence and melanoma susceptibility genes. *Oncogene* 2003;22:3063-9.
133. Kumar R, Angelini S, Snellman E, Hemminki K. BRAF mutations are common somatic events in melanocytic nevi. *J Invest Dermatol* 2004;122:342-8.
134. Shain AH, Yeh I, Kovalyshyn I, Sriharan A, Talevich E, Gagnon A *et al.* The Genetic Evolution of Melanoma from Precursor Lesions. *N Engl J Med* 2015;373:1926-36.
135. Chial H. Polygenic Inheritance and Gene Mapping. *Nature Education* 2008;1:17.
136. Barrett JH, Iles MM, Harland M, Taylor JC, Aitken JF, Andresen PA *et al.* Genome-wide association study identifies three new melanoma susceptibility loci. *Nat Genet* 2011;43:1108-13.
137. Falchi M, Bataille V, Hayward NK, Duffy DL, Bishop JA, Pastinen T *et al.* Genome-wide association study identifies variants at 9p21 and 22q13 associated with development of cutaneous nevi. *Nature Genet* 2009;41:915-9.
138. Law MH, Bishop DT, Lee JE, Brossard M, Martin NG, Moses EK *et al.* Genome-wide meta-analysis identifies five new susceptibility loci for cutaneous malignant melanoma. *Nat Genet* 2015;47:987-95.

139. Solus JF, Kraft S. Ras, Raf, and MAP kinase in melanoma. *Adv Anat Pathol* 2013;20:217-26.
140. 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;15:401-7.
141. Pollock PM, Harper UL, Hansen KS, Yudt LM, Stark M, Robbins CM *et al.* High frequency of BRAF mutations in nevi. *Nat Genet* 2003;33:19-20.
142. Poynter JN, Elder JT, Fullen DR, Nair RP, Soengas MS, Johnson TM *et al.* BRAF and NRAS mutations in melanoma and melanocytic nevi. *Melanoma Res* 2006;16:267-73.
143. Lee JH, Choi JW, Kim YS. Frequencies of BRAF and NRAS mutations are different in histological types and sites of origin of cutaneous melanoma: a meta-analysis. *Br J Dermatol* 2011;164:776-84.
144. Ross AL, Sanchez MI, Grichnik JM. Molecular nevogenesis. *Dermatol Res Pract* 2011;2011:463184.
145. Massi G, LeBoit PE. Variants of Common Nevus. In: Massi G, LeBoit PE, editors. *Histological Diagnosis of Nevi and Melanoma*. 2 ed. New York: Springer; 2014. p. 47-76.
146. Goel VK, Lazar AJ, Warneke CL, Redston MS, Haluska FG. Examination of mutations in BRAF, NRAS, and PTEN in primary cutaneous melanoma. *J Invest Dermatol* 2006;126:154-60.
147. Nissan MH, Pratilas CA, Jones AM, Ramirez R, Won H, Liu C *et al.* Loss of NF1 in cutaneous melanoma is associated with RAS activation and MEK dependence. *Cancer Res* 2014;74:2340-50.
148. Shain AH, Bastian BC. From melanocytes to melanomas. *Nat Rev Cancer* 2016;16:345-58.
149. Horn S, Figl A, Rachakonda PS, Fischer C, Sucker A, Gast A *et al.* TERT promoter mutations in familial and sporadic melanoma. *Science* 2013;339:959-61.
150. Populo H, Boaventura P, Vinagre J, Batista R, Mendes A, Caldas R *et al.* TERT Promoter Mutations in Skin Cancer: The Effects of Sun Exposure and X-Irradiation. *J Invest Dermatol* 2014;134:2251-7.
151. 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* 2014;5:3401.

152. Nagore E, Heidenreich B, Rachakonda S, Garcia-Casado Z, Requena C, Soriano V *et al.* TERT promoter mutations in melanoma survival. *Int J Cancer* 2016;139:75-84.
153. Nagore E, Heidenreich B, Requena C, Garcia-Casado Z, Martorell-Calatayud A, Pont-Sanjuan V *et al.* TERT promoter mutations associate with fast-growing melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res* 2016 Mar;29(2):236-8.
154. Kunz M. Oncogenes in melanoma: an update. *Eur J Cell Biol* 2014;93:1-10.
155. Todd JR, Scurr LL, Becker TM, Kefford RF, Rizos H. The MAPK pathway functions as a redundant survival signal that reinforces the PI3K cascade in c-Kit mutant melanoma. *Oncogene* 2014;33:236-45.
156. Merkel EA, Gerami P. Malignant melanoma of sun-protected sites: a review of clinical, histological, and molecular features. *Lab Invest* 2017;97:630-635.
157. Wu H, Goel V, Haluska FG. PTEN signaling pathways in melanoma. *Oncogene* 2003;22:3113-22.
158. Shull AY, Latham-Schwark A, Ramasamy P, Leskoske K, Oroian D, Birtwistle MR *et al.* Novel somatic mutations to PI3K pathway genes in metastatic melanoma. *PloS One* 2012;7:e43369.
159. Griewank KG, Scolyer RA, Thompson JF, Flaherty KT, Schadendorf D, Murali R. Genetic alterations and personalized medicine in melanoma: progress and future prospects. *J Natl Cancer Inst* 2014;106:djt435.
160. Piepkorn M. Melanoma genetics: an update with focus on the CDKN2A(p16)/ARF tumor suppressors. *J Am Acad Dermatol* 2000;42:705-22.
161. van der Rhee JI, Krijnen P, Gruis NA, de Snoo FA, Vasen HF, Putter H *et al.* Clinical and histologic characteristics of malignant melanoma in families with a germline mutation in CDKN2A. *J Am Acad Dermatol* 2011;65:281-8.
162. de Torre C, Garcia-Casado Z, Martinez-Escribano JA, Botella-Estrada R, Banuls J, Oliver V *et al.* Influence of loss of function MC1R variants in genetic susceptibility of familial melanoma in Spain. *Melanoma Res* 2010;20:342-8.
163. Puig S, Potrony M, Cuellar F, Puig-Butille JA, Carrera C, Aguilera P *et al.* Characterization of individuals at high risk of developing melanoma in Latin America: bases for genetic counseling in melanoma. *Genet Med* 2016;18:727-36.
164. Bennett DC. Genetics of melanoma progression: the rise and fall of cell senescence. *Pigment Cell Melanoma Res* 2016;29:122-40.

165. Melamed RD, Aydin IT, Rajan GS, Phelps R, Silvers DN, Emmett KJ *et al.* Genomic Characterization of Dysplastic Nevi Unveils Implications for Diagnosis of Melanoma. *J Invest Dermatol* 2017;137:905-9.
166. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S *et al.* Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002;417:949-54.
167. Dahl C, Guldberg P. The genome and epigenome of malignant melanoma. *APMIS* 2007;115:1161-76.
168. Bradish JR, Richey JD, Post KM, Meehan K, Sen JD, Malek AJ *et al.* Discordancy in BRAF mutations among primary and metastatic melanoma lesions: clinical implications for targeted therapy. *Mod Pathol* 2015;28:480-6.
169. Yeo MK, Jung MK, Lee SY, Lee YM, Hur GM, Kim JM. The usefulness of a novel fully automated PCR-based Idylla test for detection of the BRAF V600E mutation in thyroid tissue: comparison with PNA-clamping PCR, real-time PCR and pyrosequencing. *J Clin Pathol* 2017;70:260-265.
170. Omholt K, Platz A, Kanter L, Ringborg U, Hansson J. NRAS and BRAF mutations arise early during melanoma pathogenesis and are preserved throughout tumor progression. *Clin Cancer Res* 2003;9:6483-8.
171. Saroufim M, Habib R, Karram S, Youssef Massad C, Taraif S, Loya A *et al.* BRAF analysis on a spectrum of melanocytic neoplasms: an epidemiological study across differing UV regions. *Am J Dermatopathol* 2014;36:68-73.
172. Behling F, Barrantes-Freer A, Skardelly M, Nieser M, Christians A, Stockhammer F *et al.* Frequency of BRAF V600E mutations in 969 central nervous system neoplasms. *Diagn Pathol* 2016;11:55.
173. Liu C, Chen T, Liu Z. Associations between BRAF(V600E) and prognostic factors and poor outcomes in papillary thyroid carcinoma: a meta-analysis. *World J Surg Oncol* 2016;14:241.
174. Viros A, Sanchez-Laorden B, Pedersen M, Furney SJ, Rae J, Hogan K *et al.* Ultraviolet radiation accelerates BRAF-driven melanomagenesis by targeting TP53. *Nature* 2014;511:478-82.
175. Albino AP, Le Strange R, Oliff AI, Furth ME, Old LJ. Transforming ras genes from human melanoma: a manifestation of tumour heterogeneity? *Nature* 1984;308:69-72.

176. Ekedahl H, Cirenajwis H, Harbst K, Carneiro A, Nielsen K, Olsson H *et al.* The clinical significance of BRAF and NRAS mutations in a clinic-based metastatic melanoma cohort. *Br J Dermatol* 2013;169:1049-55.
177. Thomas NE. BRAF somatic mutations in malignant melanoma and melanocytic naevi. *Melanoma Res* 2006;16:97-103.
178. Tschandl P, Berghoff AS, Preusser M, Burgstaller-Muehlbacher S, Pehamberger H, Okamoto I *et al.* NRAS and BRAF mutations in melanoma-associated nevi and uninvolved nevi. *PloS One* 2013;8:e69639.
179. Guegan S, Kadlub N, Picard A, Rouille T, Charbel C, Coulomb-L'Hermine A *et al.* Varying proliferative and clonogenic potential in NRAS-mutated congenital melanocytic nevi according to size. *Exp Dermatol* 2016;25:789-96.
180. Shitara D, Tell-Marti G, Badenas C, Enokihara MM, Alos L, Larque AB *et al.* Mutational status of naevus-associated melanomas. *Br J Dermatol* 2015;173:671-80.
181. Kiuru M, Busam KJ. The NF1 gene in tumor syndromes and melanoma. *Lab Invest* 2017;97:146-57.
182. Kadokura A, Frydenlund N, Leone DA, Yang S, Hoang MP, Deng A *et al.* Neurofibromin protein loss in desmoplastic melanoma subtypes: implicating NF1 allelic loss as a distinct genetic driver? *Hum Pathol* 2016;53:82-90.
183. Wiesner T, Kiuru M, Scott SN, Arcila M, Halpern AC, Hollmann T *et al.* NF1 Mutations Are Common in Desmoplastic Melanoma. *Am J Surg Pathol* 2015;39:1357-62.
184. Cirenajwis H, Lauss M, Ekedahl H, Torngren T, Kvist A, Saal LH *et al.* NF1-mutated melanoma tumors harbor distinct clinical and biological characteristics. *Mol Oncol* 2017;11:438-451.
185. Monsel G, Ortonne N, Bagot M, Bensussan A, Dumaz N. c-Kit mutants require hypoxia-inducible factor 1alpha to transform melanocytes. *Oncogene* 2010;29:227-36.
186. Carvajal RD, Antonescu CR, Wolchok JD, Chapman PB, Roman RA, Teitcher J *et al.* KIT as a therapeutic target in metastatic melanoma. *JAMA* 2011;305:2327-34.
187. Katunarić M, Jurisic D, Petkovic M, Grahovac M, Grahovac B, Zamolo G. EGFR and cyclin D1 in nodular melanoma: correlation with pathohistological parameters and overall survival. *Melanoma Res* 2014;24:584-91.

188. 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 Feb;41(2):221-7.
189. Chaudru V, Laud K, Avril MF, Minière A, Chompret A, Bressac-de Paillerets B *et al.* Melanocortin-1 receptor (MC1R) gene variants and dysplastic nevi modify penetrance of CDKN2A mutations in French melanoma-prone pedigrees. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:2384-90.
190. Puig S, Malvehy J, Badenas C, Ruiz A, Jimenez D, Cuellar F *et al.* Role of the CDKN2A locus in patients with multiple primary melanomas. *J Clin Oncol* 2005;23:3043-51.
191. Lomas J, Martin-Duque P, Pons M, Quintanilla M. The genetics of malignant melanoma. *Front Biosci* 2008;13:5071-93.
192. Raimondi S, Sera F, Gandini S, Iodice S, Caini S, Maisonneuve P *et al.* MC1R variants, melanoma and red hair color phenotype: a meta-analysis. *Int J Cancer* 2008;122:2753-60.
193. Aviles JA, Lazaro P. Genetic predisposition in cutaneous melanoma. *Actas Dermosifiliogr* 2006;97:229-40.
194. Aviles JA, Lazaro P, Fernandez LP, Benitez J, Ibarrola-Villava M, Ribas G. Phenotypic and histologic characteristics of cutaneous melanoma in patients with melanocortin-1 receptor polymorphisms. *Actas Dermosifiliogr* 2012;103:44-50.
195. Nikolaou VA, Stratigos AJ, Flaherty KT, Tsoo H. Melanoma: new insights and new therapies. *J Invest Dermatol* 2012;132:854-63.
196. Sarkar D, Leung EY, Baguley BC, Finlay GJ, Askarian-Amiri ME. Epigenetic regulation in human melanoma: past and future. *Epigenetics* 2015;10:103-21.
197. Kadoch C, Hargreaves DC, Hodges C, Elias L, Ho L, Ranish J *et al.* Proteomic and bioinformatic analysis of mammalian SWI/SNF complexes identifies extensive roles in human malignancy. *Nat Genet* 2013;45:592-601.
198. Mishima Y. Melanocytic and nevocytic malignant melanomas. Cellular and subcellular differentiation. *Cancer* 1967;20:632-49.
199. Betti R, Moneghini L, Vergani R, Cerri A. Diagnostic performance parameters for melanocytic lesions before and during the dermoscopy era. *Eur J Dermatol* 2017;27:174-5.

200. Tschandl P, Hofmann L, Fink C, Kittler H, Haenssle HA. Melanomas versus nevi in high risk patients under long term monitoring with digital dermatoscopy: Do melanomas and nevi already differ at baseline? *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2017;31:972-977.
201. Fink C, Haenssle HA. Non-invasive tools for the diagnosis of cutaneous melanoma. *Skin Res Technol* 2016 (artículo en prensa).
202. Lee JJ, Vilain RE, Granter SR, Hu NR, Bresler SC, Xu S *et al.* 5-Hydroxymethylcytosine is a nuclear biomarker to assess biological potential in histologically ambiguous heavily pigmented melanocytic neoplasms. *J Cutan Pathol* 2017;44:249-55.
203. Rodic N, Zampella J, Sharma R, Burns KH, Taube JM. Diagnostic utility of 5-hydroxymethylcytosine immunohistochemistry in melanocytic proliferations. *J Cutan Pathol* 2015;42:807-14.
204. Gerami P, Busam K, Cochran A, Cook MG, Duncan LM, Elder DE *et al.* Histomorphologic assessment and interobserver diagnostic reproducibility of atypical spitzoid melanocytic neoplasms with long-term follow-up. *Am J Surg Pathol* 2014;38:934-40.
205. Lodha S, Saggari S, Celebi JT, Silvers DN. Discordance in the histopathologic diagnosis of difficult melanocytic neoplasms in the clinical setting. *J Cutan Pathol* 2008;35:349-52.
206. Suppa M, Argenziano G, Moscarella E, Hofmann-Wellenhof R, Thomas L, Catricala C *et al.* Selective sunscreen application on nevi: frequency and determinants of a wrong sun-protective behaviour. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2014;28:348-54.
207. Tsao H, Bevona C, Goggins W, Quinn T. The transformation rate of moles (melanocytic nevi) into cutaneous melanoma: a population-based estimate. *Arch Dermatol* 2003;139:282-8.
208. Ackerman LV. Malignant melanoma of the skin; clinical and pathologic analysis of 75 cases. *Am J Clin Pathol* 1948;18:602-24.
209. Couperus M, Rucker RC. Histopathological diagnosis of malignant melanoma. *AMA Arch Derm Syphilol* 1954;70:199-216.
210. Cochran AJ. Histology and prognosis in malignant melanoma. *J Pathol* 1969;97:459-68.

211. Clark WH, Jr., From L, Bernardino EA, Mihm MC. The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin. *Cancer Res* 1969;29:705-27.
212. Rippey JJ, Whiting DA. Moles and melanomas. *Lancet* 1977;2:137.
213. Larsen TE. The classification of primary cutaneous malignant melanoma. A prospective study of 60 cases using Clark's classification. *Acta Pathol Microbiol Scand A* 1978;86A:451-9.
214. Crucoli V, Stilwell J. The histogenesis of malignant melanoma in relation to pre-existing pigmented lesions. *J Cutan Pathol* 1982;9:396-404.
215. Rhodes AR, Harrist TJ, Day CL, Mihm MC, Jr., Fitzpatrick TB, Sober AJ. Dysplastic melanocytic nevi in histologic association with 234 primary cutaneous melanomas. *J Am Acad Dermatol* 1983;9:563-74.
216. Friedman RJ, Rigel DS, Kopf AW, Liebllich L, Lew R, Harris MN *et al.* Favorable prognosis for malignant melanomas associated with acquired melanocytic nevi. *Arch Dermatol* 1983;119:455-62.
217. Sondergaard K. Histological type and biological behavior of primary cutaneous malignant melanoma. 1. An analysis of 1916 cases. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1983;401:315-31.
218. Clark WH, Jr., Elder DE, Guerry Dt, Epstein MN, Greene MH, Van Horn M. A study of tumor progression: the precursor lesions of superficial spreading and nodular melanoma. *Hum Pathol* 1984;15:1147-65.
219. Kopf AW, Welkovich B, Frankel RE, Stoppelmann EJ, Bart RS, Rogers GS *et al.* Thickness of malignant melanoma: global analysis of related factors. *J Dermatol Surg Oncol* 1987;13:345-90, 401-20.
220. Black WC. Residual dysplastic and other nevi in superficial spreading melanoma. Clinical correlations and association with sun damage. *Cancer* 1988;62:163-73.
221. Stolz W, Schmoeckel C, Landthaler M, Braun-Falco O. Association of early malignant melanoma with nevocytic nevi. *Cancer* 1989;63:550-5.
222. Gruber SB, Barnhill RL, Stenn KS, Roush GC. Nevomelanocytic proliferations in association with cutaneous malignant melanoma: a multivariate analysis. *J Am Acad Dermatol* 1989;21:773-80.

223. Marks R, Dorevitch AP, Mason G. Do all melanomas come from "moles"? A study of the histological association between melanocytic naevi and melanoma. *Australas J Dermatol* 1990;31:77-80.
224. Urso C, Giannotti V, Reali UM, Giannotti B, Bondi R. Spatial association of melanocytic naevus and melanoma. *Melanoma Res* 1991;1:245-9.
225. Sagebiel RW. Melanocytic nevi in histologic association with primary cutaneous melanoma of superficial spreading and nodular types: effect of tumor thickness. *J Invest Dermatol* 1993;100:322S-5S.
226. Skender-Kalnenas TM, English DR, Heenan PJ. Benign melanocytic lesions: risk markers or precursors of cutaneous melanoma? *J Am Acad Dermatol* 1995;33:1000-7.
227. Harley S, Walsh N. A new look at nevus-associated melanomas. *Am J Dermatopathol* 1996;18:137-41.
228. Carli P, Massi D, Santucci M, Biggeri A, Giannotti B. Cutaneous melanoma histologically associated with a nevus and melanoma de novo have a different profile of risk: results from a case-control study. *J Am Acad Dermatol* 1999;40:549-57.
229. Massi D, Carli P, Franchi A, Santucci M. Naevus-associated melanomas: cause or chance? *Melanoma Res* 1999;9:85-91.
230. Bevona C, Goggins W, Quinn T, Fullerton J, Tsao H. Cutaneous melanomas associated with nevi. *Arch Dermatol* 2003;139:1620-4.
231. Echeverria B, Botella-Estrada R, Serra-Guillen C, Martorell A, Traves V, Requena C *et al.* [Increased risk of developing a second primary cutaneous nevus-associated melanoma in patients previously diagnosed with the disease]. *Actas Dermosifiliogr* 2010;101:710-6.
232. Longo C, Rito C, Beretti F, Cesinaro AM, Pineiro-Maceira J, Seidenari S *et al.* De novo melanoma and melanoma arising from pre-existing nevus: in vivo morphologic differences as evaluated by confocal microscopy. *J Am Acad Dermatol* 2011;65:604-14.
233. Lin WM, Luo S, Muzikansky A, Lobo AZ, Tanabe KK, Sober AJ *et al.* Outcome of patients with de novo versus nevus-associated melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2015;72:54-8.
234. Haenssle HA, Mograby N, Ngassa A, Buhl T, Emmert S, Schon MP *et al.* Association of Patient Risk Factors and Frequency of Nevus-Associated Cutaneous Melanomas. *JAMA Dermatol* 2016;152:291-8.

235. Cymerman RM, Shao Y, Wang K, Zhang Y, Murzaku EC, Penn LA *et al.* De Novo vs Nevus-Associated Melanomas: Differences in Associations With Prognostic Indicators and Survival. *J Natl Cancer Inst* 2016;108(10).
236. Garcia-Cruz A, Florez A, de la Torre-Fraga C, Cruces Prado M. Observational cross-sectional study comparing Breslow thickness of melanoma arising from naevi and melanoma de novo. *Br J Dermatol* 2009;161:700-2.
237. Jones WM, Williams WJ, Roberts MM, Davies K. Malignant melanoma of the skin: prognostic value of clinical features and the role of treatment in 111 cases. *Br J Cancer* 1968;22:437-51.
238. Mackie RM, Watt D, Doherty V, Aitchison T. Malignant melanoma occurring in those aged under 30 in the west of Scotland 1979-1986: a study of incidence, clinical features, pathological features and survival. *Br J Dermatol* 1991;124:560-4.
239. Weatherhead SC, Haniffa M, Lawrence CM. Melanomas arising from naevi and de novo melanomas--does origin matter? *Br J Dermatol* 2007;156:72-6.
240. Togawa Y, Nakamura Y, Kamada N, Kambe N, Takahashi Y, Matsue H. Melanoma in association with acquired melanocytic nevus in Japan: a review of cases in the literature. *Int J Dermatol* 2010;49:1362-7.
241. Massi G, LeBoit PE. Melanoma Arising in a Pre-Existent Nevus. In: Massi G, LeBoit PE, editors. *Histological Diagnosis of Nevi and Melanoma*. 2 ed: Springer; 2014. p. 619-32.
242. Masri GD, Clark WH, Jr., Guerry Dt, Halpern A, Thompson CJ, Elder DE. Screening and surveillance of patients at high risk for malignant melanoma result in detection of earlier disease. *J Am Acad Dermatol* 1990;22:1042-8.
243. Rigel DS, Rivers JK, Kopf AW, Friedman RJ, Vinokur AF, Heilman ER *et al.* Dysplastic nevi. Markers for increased risk for melanoma. *Cancer* 1989;63:386-9.
244. Rhodes AR, Sober AJ, Day CL, Melski JW, Harrist TJ, Mihm MC, Jr. *et al.* The malignant potential of small congenital nevocellular nevi. An estimate of association based on a histologic study of 234 primary cutaneous melanomas. *J Am Acad Dermatol* 1982;6:230-41.
245. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Zanetti R, Masini C *et al.* Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: III. Family history, actinic damage and phenotypic factors. *Eur J Cancer* 2005;41:2040-59.

246. Echeverria B, Botella-Estrada R, Serra-Guillen C, Martorell A, Traves V, Requena C *et al.* Increased risk of developing a second primary cutaneous nevus-associated melanoma in patients previously diagnosed with the disease. *Actas Dermosifiliogr* 2010;101:710-6.
247. Landi MT, Bauer J, Pfeiffer RM, Elder DE, Hulley B, Minghetti P *et al.* MC1R germline variants confer risk for BRAF-mutant melanoma. *Science* 2006;313:521-2.
248. Diaz-Corpas T, Morales-Suarez-Varela M, Rausell Fontestad N, Fuertes Prosper A, Marquina-Vila A, Jorda-Cuevas E. Squamous Cell Carcinoma: Clinical and Pathological Features and Associated Risk Factors in an Observational Study of 118 Patients. *Actas Dermosifiliogr* 2015;106:806-15.
249. Wallace AB. The exposure treatment of burns. *Lancet* 1951;1:501-4.
250. 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;27:6199-206.
251. Spatz A, Cook MG, Elder DE, Piepkorn M, Ruitter DJ, Barnhill RL. Interobserver reproducibility of ulceration assessment in primary cutaneous melanomas. *Eur J Cancer* 2003;39:1861-5.
252. Thomas NE, Kricke A, From L, Busam K, Millikan RC, Ritzey ME *et al.* Associations of cumulative sun exposure and phenotypic characteristics with histologic solar elastosis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010;19:2932-41.
253. Thieden E, Philipsen PA, Sandby-Moller J, Wulf HC. Sunburn related to UV radiation exposure, age, sex, occupation, and sun bed use based on time-stamped personal dosimetry and sun behavior diaries. *Arch Dermatol* 2005;141:482-8.
254. Whiteman DC, Brown RM, Purdie DM, Hughes MC. Prevalence and anatomical distribution of naevi in young Queensland children. *Int J Cancer* 2003;106:930-3.
255. Caini S, Gandini S, Sera F, Raimondi S, Fagnoli MC, Boniol M *et al.* Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma according to anatomical site and clinico-pathological variant. *Eur J Cancer* 2009;45:3054-63.
256. Harth Y, Friedman-Birnbaum R, Linn S. Influence of cumulative sun exposure on the prevalence of common acquired nevi. *J Am Acad Dermatol* 1992;27:21-4.
257. Roh MR, Eliades P, Gupta S, Tsao H. Genetics of melanocytic nevi. *Pigment Cell Melanoma Res* 2015;28:661-72.

258. Newton-Bishop JA, Chang YM, Iles MM, Taylor JC, Bakker B, Chan M *et al.* Melanocytic nevi, nevus genes, and melanoma risk in a large case-control study in the United Kingdom. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010;19:2043-54
259. Chang YM, Barrett JH, Bishop DT, Armstrong BK, Bataille V, Bergman W *et al.* Sun exposure and melanoma risk at different latitudes: a pooled analysis of 5700 cases and 7216 controls. *Int J Epidemiol* 2009;38:814-30.
260. Carey WP, Jr., Thompson CJ, Synnestvedt M, Guerry Dt, Halpern A, Schultz D *et al.* Dysplastic nevi as a melanoma risk factor in patients with familial melanoma. *Cancer* 1994;74:3118-25.
261. Bergman W, Watson P, de Jong J, Lynch HT, Fusaro RM. Systemic cancer and the FAMMM syndrome. *Br J Cancer* 1990;61:932-6.
262. Requena C, Botella-Estrada R, Traves V, Nagore E, Almenar S, Guillen C. Problems in defining melanoma regression and prognostic implication. *Actas Dermosifiliogr* 2009;100:759-66.
263. Lang J, MacKie RM. Prevalence of exon 15 BRAF mutations in primary melanoma of the superficial spreading, nodular, acral, and lentigo maligna subtypes. *J Invest Dermatol* 2005;125:575-9.
264. Sasaki Y, Niu C, Makino R, Kudo C, Sun C, Watanabe H *et al.* BRAF point mutations in primary melanoma show different prevalences by subtype. *J Invest Dermatol* 2004;123:177-83.
265. 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;19:1324-32.
266. Curtin JA, Busam K, Pinkel D, Bastian BC. Somatic activation of KIT in distinct subtypes of melanoma. *J Clin Oncol* 2006;24:4340-6.
267. Tarn C, Merkel E, Canutescu AA, Shen W, Skorobogatko Y, Heslin MJ *et al.* Analysis of KIT mutations in sporadic and familial gastrointestinal stromal tumors: therapeutic implications through protein modeling. *Clin Cancer Res* 2005;11:3668-77.
268. Wu JM, Alvarez H, Garcia P, Rojas PL, Wong G, Maitra A *et al.* Melanoma hyperpigmentation is strongly associated with KIT alterations. *Am J Dermatopathol* 2009;31:619-25.

269. Corless CL, McGreevey L, Haley A, Town A, Heinrich MC. KIT mutations are common in incidental gastrointestinal stromal tumors one centimeter or less in size. *Am J Pathol* 2002;160:1567-72.

270. Miettinen M, Sarlomo-Rikala M, Sobin LH, Lasota J. Esophageal stromal tumors: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 17 cases and comparison with esophageal leiomyomas and leiomyosarcomas. *Am J Surg Pathol* 2000;24:211-22.

## ***IX. Anexos***

*Melanoma asociado a nevo melanocítico: Análisis de factores clínicos, epidemiológicos, histopatológicos y de biología molecular*



## IX.1. Anexo I: Características de la población estudiada

Tabla 61. Características de la población estudiada

Variables		N	%
Edad de diagnóstico del melanoma	Media	55,47	
	Mediana	56	
	Desv. estándar	16,74	
	Mínimo	6	
	Máximo	96	
	Cuartil 25 ( $Q_{25}$ )	43	
	Cuartil 75 ( $Q_{75}$ )	69	
Sexo	Hombre	559	49,6
	Mujer	567	50,4
Color de ojos	Negros	20	1,8
	Marrones	618	54,8
	Azules	196	17,4
	Verdes	228	20,3
	Sin especificar	64	5,7
Color del cabello (a los 20 años de edad)	Negro	173	15,4
	Castaño oscuro	353	31,3
	Castaño claro	270	24,0
	Rubio	204	18,1
	Pelirrojo	41	3,5
	Sin especificar	85	7,5

Fototipo de Fitzpatrick	I	34	3
	II	354	31,4
	III	417	37
	IV	282	25
	V	19	1,7
	Sin especificar	20	1,8
Índice de masa corporal	Delgadez	8	0,7
	Normopeso	286	25,4
	Sobrepeso	352	31,3
	Obesidad	135	12
	Obesidad mórbida	9	0,8
	Sin especificar	336	29,8
Efélides en la infancia	Ausentes	619	55,0
	Presentes	285	25,3
	Sin especificar	222	19,7
Hábito tabáquico	No fumador	563	50
	<20 años/paquete	238	21,1
	≥20 años/paquete	325	28,9
Antecedentes de fotoexposición laboral	No	794	70,5
	Sí	278	24,7
	Sin especificar	54	4,8
Quemaduras solares intensas	No	542	48,1
	Sí	561	49,8
	Sin especificar	23	2

Quemaduras solares en el área del MM	No	363	32,2
	Leves	410	36,4
	Intensas	254	22,6
	Sin especificar	99	8,8
Nevos en el área del melanoma	Media	5,75	
	Mediana	1	
	Desv. estándar	11,54	
	Mínimo	0	
	Máximo	121	
	Cuartil 25 ( $Q_{25}$ )	0	
	Cuartil 75 ( $Q_{75}$ )	6	
Nevos comunes	Media	21,63	
	Mediana	9	
	Desv. estándar	33,96	
	Mínimo	0	
	Máximo	374	
	Cuartil 25 ( $Q_{25}$ )	3	
	Cuartil 75 ( $Q_{75}$ )	25	
	≤20 nevos	739	65,6
	21-50 nevos	167	14,8
	51-100 nevos	92	8,2
	>100 nevos	39	3,5
	Sin especificar	89	7,9

Nevos atípicos	Al menos 1	196	17,4
	Ninguno	894	79,4
	Sin especificar	36	3,2
Nevos congénitos	Ninguno	801	71,1
	Pequeño	82	7,3
	Mediano	17	1,5
	Grande/gigante	0	0
	Sin especificar	226	20,1
Angiomas seniles	No	301	26,7
	≤10	162	14,4
	11a20	54	4,8
	21-50	76	6,7
	51-100	26	2,3
	>100	10	0,9
	Sin especificar	497	44,1
Queratosis seborreicas	No	348	30,9
	≤10	143	12,7
	11a20	44	3,9
	21-50	52	4,6
	51-100	21	1,9
	>100	23	2
	Sin especificar	495	44
Lentigos solares	No	142	12,6
	Escasos	357	31,7
	Abundantes	407	36,1
	Sin especificar	220	19,5

Queratosis actínicas	No	897	79,7
	Sí	142	12,6
	Sin especificar	87	7,7
Carcinoma basocelular	No	1056	93,8
	Sí	70	6,2
Carcinoma espinocelular	No	1107	98,3
	Sí	19	1,7
Antecedentes familiares de MM	No	1046	92,9
	Sí	64	5,7
	Adoptado	3	0,3
	Sin especificar	13	1,1
Antecedentes familiares de cáncer de páncreas	No	1068	94,8
	Sí	33	2,9
	Adoptado	3	0,3
	Sin especificar	22	1,9
Antecedentes familiares de otros tipos de cáncer	No	611	54,3
	Sí	490	43,5
	Adoptado	3	0,3
	Sin especificar	22	2

## IX.2. Anexo II: 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 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 / \_\_\_\_\_

#### CONSENTO

- 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 \_\_\_\_\_ 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.:

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 utilizadas 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.

## IX.3. Anexo IV: Documento de consentimiento informado por escrito de todos los pacientes que participaron en el estudio para los análisis genéticos 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. nº

..... 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)

## IX.4. Anexo IV: Variables incluidas en la base de datos

Tabla 62. Variables incluidas en la base de datos

Variable	Explicación de la variable y codificación	
Presencia histológica de nevo previo	5 categorías	No, nevo displásico, nevo congénito, nevo común, otras pro
	2 categorías	No, sí
Número de identificación del melanoma a estudio	Texto libre	
Fecha de exéresis	Texto libre: Fecha	
Fecha de actualización	Texto libre: Fecha	
Sexo	Hombre/Mujer	
Edad en la que se extirpó el melanoma	Texto libre	Fecha
	3 categorías	<45 años, 45-64 años, ≥65 años
	2 categorías	≤50 años o >50 años
	2 categorías	≤37,5 años, >37,5 años
Fototipo según la clasificación de Fitzpatrick	6 categorías	I, II, III, IV, V, VI
	2 categorías	I-II, ≥III
Color de los ojos	4 categorías	Negros, marrones, azules, verdes
	2 categorías	Claros (verdes o azules), oscuros (marrones o negros)
Color del cabello a los 20 años de edad	5 categorías	Pelirrojo, rubio, castaño claro, castaño oscuro, moreno
Color del pelo 6 categorías	3 categorías	Pelirrojo, rubio/castaño claro, moreno/castaño oscuro
Peso	Peso en kilogramos	
Altura	Altura en metros	

Índice de masa corporal (IMC)	Peso (kg) / altura (m) <sup>2</sup>	
Localización del melanoma	5 categorías	Cabeza/cuello, extremidades superiores, tronco, extremidades inferiores, acral
	2 categorías	- Tronco y extremidades superiores - Cabeza y cuello, acral y extremidades inferiores
Localización descubierta u oculta del melanoma	Visible para el paciente, visible para un conviviente íntimo, oculta para ambos	
“Fotolocalización” del melanoma	3 categorías	Área oculta al sol siempre, expuesta solo en verano, expuesta todo el año
	2 categorías	CSD ( <i>chronic sun damaged</i> ), no-CSD
Hábito tabáquico	Años/paquete	Número de años/paquete
	3 categorías	No fumador, <20 años/paquete, ≥20 años/paquete
Antecedentes de exposición solar laboral	Antecedentes laborales	Profesión con fotoexposición habitual, profesión no expuesta al sol
	Años de fotoexposición laboral	Número de años de fotoexposición laboral
	2 categorías	≤30 años de fotoexposición laboral, >30 años
Antecedentes de quemaduras solares intensas	Presencia de antecedentes de una o más quemaduras solares intensas, ausencia de dichos antecedentes	
Antecedentes de quemaduras solares en el área del melanoma	3 categorías	No, leves, intensas
	2 categorías	Ausencia, presencia

Número de nevos melanocíticos en la superficie corporal del paciente	Número	Número total de nevos melanocíticos de más de 2 mm de diámetro
	4 categorías	<20, 21-50, 51-100, >100 nevos
	3 categorías	<20, 21-50, >50 nevos
	2 categorías	≤21, >21 nevos
Nevos histológicamente displásicos extirpados	Número	Número de nevos clínicamente atípicos
	2 categorías	Ausencia, presencia
Presencia de nevos melanocíticos congénitos	4 categorías	Ninguno, pequeño, mediano, grande/gigante
Patrón de nevos predominante	4 categorías	Ausencia de nevos, predominio de nevos con patrón lentiginoso o juntural, predominio nevos con patrón intradérmico o común, patrón mixto
Número de nevos en el área del melanoma (área anatómica definida en base a la regla de los 9 de Wallace [249])	Número	Número de nevos en el área anatómica del melanoma
	2 categorías	≤3, >3 nevos en el área del melanoma
Presencia de lentigos solares en el área del melanoma	Ausencia, presencia	
Presencia de efélides en la infancia siguiendo los esquemas de Gallagher [75]	Ausencia, presencia	
Presencia de lentigos solares en el tegumento	3 categorías	Ausencia, escasos, abundantes
	2 categorías	Ausencia, presencia
Presencia de angiomas seniles en el tegumento	6 categorías	Ausencia, ≤10, 11-20, 21-50, 51-100, >100 angiomas seniles
	2 categorías	≤20, >20 angiomas seniles

Presencia de queratosis seborreicas en el tegumento	6 categorías	Ausencia, ≤10, 11-20, 21-50, 51-100, >100 queratosis seborreicas
	2 categorías	≤10, >10 queratosis seborreicas
Antecedentes de queratosis actínicas	Ausencia, presencia	
Antecedentes personales (previos y tras el diagnóstico de melanoma) de CBC	Ausencia, presencia	
Antecedentes personales (previos y tras el diagnóstico de melanoma) de CEC	Ausencia, presencia	
Antecedentes personales de otros tipos de neoplasias (segundo/s tumor/es)	2 categorías	Ausencia, presencia
	Antecedentes	Texto libre
Antecedentes familiares de melanoma	2 categorías	Ausencia, presencia
	Descripción y parentesco	Texto libre
Antecedentes familiares de cáncer de páncreas	2 categorías	Ausencia, presencia
	Descripción y parentesco	Texto libre
Antecedentes familiares de otras neoplasias	2 categorías	Ausencia, presencia
	Descripción y parentesco	Texto libre

Síntomas o signos que motivaron la consulta	Texto libre	
Sangrado	No, sí	
Tiempo desde que el paciente fue consciente de que tenía la lesión (con diagnóstico de melanoma)	Número	Número de meses
	5 categorías	<1 año, 1-5 años, >5 años, no sabe, sin especificar
Tiempo desde que percibió algún cambio en la lesión	Número	Número de meses
	7 categorías	<1mes, 1-3 meses, 4-6 meses, 7-12 meses, >1 año, no lo sabe, sin especificar
Tiempo desde que percibió cambios en el volumen de la lesión	Número	Número de meses
	7 categorías	<1mes, 1-3 meses, 4-6 meses, 7-12 meses, >1 año, no lo sabe, sin especificar
Estadio	5 categorías: <i>in situ</i> (excluidos estos pacientes del presente estudio), localizado, metástasis ganglionares, metástasis sistémicas, sin especificar	
Estadio clínico	Texto libre	
Estadio patológico	Texto libre	
Metástasis iniciales: ganglionares (localización, número de ganglios afectos, afectación capsular), sistémicas (localización, número de metástasis por localización)	Texto libre	
Recaída de la enfermedad (primera) tras diagnóstico de la enfermedad	2 categorías	Ausencia, presencia
	Fecha	Día/mes/año

Muerte por causa del melanoma	2 categorías	Ausencia, presencia
	Fecha	Día/mes/año
Muerte por causas diferentes al melanoma	2 categorías	Ausencia, presencia
	Fecha	Día/mes/año
Supervivencia libre de enfermedad ( <i>disease-free survival</i> )	Número de meses (desde el diagnóstico hasta la primera recaída de la enfermedad)	
Supervivencia global ( <i>overall survival</i> )	Número de meses (desde el diagnóstico hasta la muerte por cualquier causa)	
Supervivencia específica de melanoma ( <i>melanoma-specific survival</i> )	Número de meses (desde el diagnóstico hasta la muerte por causa del melanoma)	
Tipo histológico	LMM, MES, MN, MLA, otros/sin especificar, no procede	
Índice de Breslow	Número	Espesor en mm
	Categorías de la AJCC	≤1 mm, 1,01-2 mm, 2,01-4 mm, >4 mm
	2 categorías (a)	≤1,865 mm, >1,865 mm
	2 categorías (b)	≤1 mm, >1 mm
	2 categorías (c)	≤2 mm, >2 mm
Ulceración	Ausencia, presencia	
Mitosis (por 1 mm <sup>2</sup> )	Número	Número de mitosis en 1 mm <sup>2</sup>
	3 categorías	0 mitosis/mm <sup>2</sup> , 1-5 mitosis/mm <sup>2</sup> , >5 mitosis/mm <sup>2</sup>
	2 categorías	0 mitosis/mm <sup>2</sup> , ≥1 mitosis/mm <sup>2</sup>
Disposición del infiltrado	Peritumoral/ Intratumoral/ No procede/ Sin especificar	

Infiltrado peritumoral	Ausente/ Discontinuo/ Denso/ No procede/ Sin especificar	
Satelitosis microscópica	Sí/No	
Elastosis solar	2 categorías	Ausente, presente
	4 categorías	Ausente, leve, moderada, intensa
Biopsia del ganglio centinela realizada	No, sí, no procede, sin especificar	
Resultados de la biopsia del ganglio centinela	Negativa, positiva, no se identifica	
Estudio histológico del ganglio centinela	Negativo, positivo	
Estudio mediante inmunohistoquímica del ganglio centinela	Negativo, positivo	
Linfadenectomía: número de ganglios positivos sin contar con ganglio centinela	Número	
Total de ganglios positivos	Número	
Ganglios con afectación capsular	Número	
Mutación en <i>BRAF</i>	Descripción	Texto libre
	2 categorías	Ausencia, presencia
Mutación en <i>NRAS</i>	Descripción	Texto libre
	2 categorías	Ausencia, presencia
Mutación en <i>KIT</i>	Descripción	Texto libre
	2 categorías	Ausencia, presencia

Polimorfismos de <i>MC1R</i>	Variantes RHC	Ausencia o presencia de cada una de las siguientes por separado: <i>p.D294H</i> , <i>p.R160W</i> , <i>p.D84E</i> , <i>p.R142H</i> y <i>p.R151C</i>
	Variantes no-RHC	Ausencia o presencia de cada una de las siguientes por separado: <i>p.V60L</i> , <i>p.V92M</i> , <i>p.I155T</i> , <i>p.V156L</i> y <i>p.R163Q</i>
	Otras variantes menos frecuentes	Ausencia, presencia
		Descripción (texto libre)
	2 categorías (variantes cualesquiera)	Ausencia, presencia
	2 categorías (variantes RHC)	Ausencia, presencia
	2 categorías (variantes no-RHC)	Ausencia, presencia
Mutación en <i>TERT</i>	Descripción	Texto libre
	2 categorías	Ausencia, presencia

## IX.5. Anexo V: Metodología empleada en la realización de los análisis genéticos

### IX.5.1. Extracción de ADN

La extracción de ADN se llevó a cabo sobre bloques representativos del tumor (los mismos sobre los que se realizó el estudio inmunohistoquímico), con un alto porcentaje de células tumorales (>50%). 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 modelo Beecher TMA-421 (Beecher Instruments, Sun Prairie, Wisconsin, EEUU) 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 N. V., Hilden, Alemania). Una vez diluido el ADN se pudo emplear directamente para llevar a cabo las amplificaciones. En otros casos, se congeló a -20°C hasta su uso.

El análisis de mutaciones en los genes implicados en la ruta *RAS-RAF-MEK-ERK* se realizó mediante amplificación específica por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y posterior secuenciación directa de los fragmentos a estudiar. Se utilizó para ello un secuenciador automático *ABI 3130xl Prism Genetic Analyzer* de dieciséis capilares con el software *Sequencing analysis* versión 5.2 (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, EEUU), específico para el análisis de secuencias. Del ADN obtenido se emplearon 20-50 ng para cada amplificación, siguiendo técnicas previamente descritas [262, 263].

### IX.5.2. Detección de mutaciones en *BRAF*

El análisis de la mutación de *V600E* del gen *BRAF* se realizó mediante amplificación del exón 15, según el procedimiento descrito por Fullen y colaboradores [264]. Las secuencias de los cebadores específicos empleados se sistematizan en la tabla 63.

### IX.5.3. Detección de mutaciones en *NRAS*

El análisis de las mutaciones de los exones 1 y 2 del gen *NRAS* se llevó a cabo con amplificación mediante PCR siguiendo nuevamente el protocolo de Fullen y colaboradores [264]. Las secuencias de los cebadores específicos empleados están reflejadas en la tabla 63.

### IX.5.4. Detección de mutaciones en *KIT*

Las alteraciones en *KIT* se analizaron conforme al protocolo empleado en una publicación previa de Curtin y colaboradores [265]. Se realizó el análisis de los exones 9, 11, 13, 17 siguiendo condiciones previamente descritas [7, 266, 267]. Las secuencias de los cebadores específicos empleados se describen en la tabla 63.

### IX.5.5. Detección de mutaciones en *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 (cuya secuencia puede verse en la tabla 50) y posterior secuenciación Sanger. La PCR se llevó a cabo en un volumen de 10  $\mu$ l que contenía 10 ng de ADN, 50 mM de KCl, 0,1mM de 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, Reino Unido) 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, Foster City, California, EEUU) combinado con los cebadores *forward* y *reverse* en reacciones independientes. Los productos de secuenciación se precipitaron con etanol y se analizaron en un secuenciador capilar *ABI 3130xl Prism Genetic Analyzer* (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, EEUU) [151]. Las secuencias de los cebadores específicos empleados se describen en la tabla 63.

Tabla 63. Secuencia de cebadores para la detección de mutaciones en *BRAF*, *NRAS*, *KIT* y *TERT*

Cebadores	Secuencias de los cebadores (F: <i>forward</i> ; R: <i>reverse</i> )	Tamaño
<i>BRAF</i> exón 15	F: 5'-TCATAATGCTTGCTCTGATAGGA-3' R: 5'-GGCCAAAATTTAATCAGTGGA-3'	181 pb.
<i>NRAS</i> exón 1	F: 5'-ATGACTGAGTACAACTGGT-3' R: 5'-TCTATGGTGGGTCATATT-3'	110 pb.
<i>NRAS</i> exón 2	F: 5'-GGTGAAACCTGTTTGTTGGA-3' R: 5'-ATACACAGAGGAAGCCTTC-3'	95 pb.
<i>c-KIT</i> exón 9 [268, 269]	F: 5'-TCCTAGAGTAAGCCAGGGCTT-3' R: 5'-TGGTAGACAGAGCCTAAACATCC-3'	283 pb.
<i>c-KIT</i> exón 11 [268, 269]	F: 5'-CCAGAGTGCTCTAATGACTG-3' R: 5'-AGCCCCTGTTTCATACTGAC-3'	215 pb.
<i>c-KIT</i> exón 13 [268, 269]	F: 5'-GCTTGACATCAGTTTGCCAG-3' R: 5'-AAAGGCAGCTTGGACACGGCTTTA-3'	193 pb.
<i>c-KIT</i> exón 17 [268, 269]	F: 5'-GGTTTTCTTTTCTCCTCCAACC-3' R: 5'-GATTTACATTATGAAAGTCACAGG-3'	203 pb.
<i>TERT</i> -27 a -286 [151]	F: 5'-CCCACGTGCGCAGCAGGAC-3' R: 5'-CTCCCAGTGGATTCGCGGGC-3'	260 pb.

### IX.5.6. Amplificación por PCR

Del ADN purificado se emplearon entre 2 y 10µl para las amplificaciones por PCR. Todas ellas se realizaron en un volumen de 25µl con los componentes detallados en la tabla 64 y las condiciones especificadas en la tabla 65.

Tabla 64. Componentes de la reacción de PCR

Componente	Concentración final
MgCl <sub>2</sub> (25-50mM)	1.5-2mM
dNTPs 10 mM	200µM
Buffer IIx10	1X
Cebador F	0,2-0,4 µM
Cebador R	0,2-0,4 µM
AmpliTaq Gold (5U/µl)	1 ud / tubo de reacción

Tabla 65. Condiciones de amplificación: programa del termociclador

Pasos del programa	Temp.	Tiempo	Nº ciclos
Desnaturalización inicial/activación <i>AmpliTaq Gold</i>	94°C	6 minutos	-
Desnaturalización	94°C	45 seg.	40
<i>Annealing</i>	56°C	1 minuto	
Extensión	72°C	1 minuto	
Extensión fina	72°C	10 minutos	-

Tras la amplificación se procedió a la comprobación de los productos de amplificación mediante un gel de agarosa al 2-3%. Una vez comprobada la presencia de producto de amplificación, estos se purificaron para eliminar el exceso de cebadores, dNTPs, etc.

### IX.5.7. Secuenciación de los productos de la PCR

Para la secuenciación se emplearon los mismos cebadores que para la reacción de amplificación pero a una concentración final de 10 pmol en un volumen final de 10µl. Se utilizó el reactivo (1µl de este reactivo permite secuenciar un volumen de 10µl de reacción) *ABI Prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing kit* versión 1.1 y 3.1 (Applied Biosystems, Foster City, California, EEUU).

Se prepararon dos reacciones de secuenciación por cada exón amplificado, una con el cebador F (*forward*) y otra con el cebador R (*reverse*).

El programa de secuenciación se realizó siguiendo el siguiente orden:

1º) 96°C durante 1 minuto.

A continuación, se hicieron un total de 25 ciclos comprendiendo los pasos 2º a 5º:

2º) 96°C durante 10 segundos.

3º) 50°C durante 5 segundos.

4º) 60°C durante 4 minutos.

5º) Mantenimiento en frío (a 4°C) del producto de la amplificación hasta su extracción del termociclador y almacenamiento en nevera o congelador.

Una vez finalizada la reacción, los productos de secuenciación se purificaron (precipitación metabólica, filtración por vacío o por columnas, por gel, etc.) y se llevó a cabo la electroforesis de secuenciación en un secuenciador automático de acuerdo con los protocolos establecidos.

#### IX.5.8. Análisis de secuencias obtenidas

Como se ha indicado al principio de este anexo, una vez obtenidas las secuencias, se visualizaron y manipularon mediante el software *Sequencing Analysis* versión 5.2 (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, EEUU).

Los datos secuenciados fueron analizados usando el software *Genios Pro* 5.6.5 (Biomatters Inc., Auckland, Nueva Zelanda) usando como referencia de comparación las secuencias de la base de datos genética del *National Center for Biotechnology Information: BRAF* (NG\_007873.2), *NRAS* (NG\_007572.1), *c-KIT* (ENSG00000157404) *TERT* (cr 5: 1,295,071 – 1,295,521, hg19 GRCH37).

## *X. Abreviaturas y acrónimos*

*Melanoma asociado a nevo melanocítico: Análisis de factores clínicos, epidemiológicos, histopatológicos y de biología molecular*



- ADN:** Ácido desoxirribonucleico.
- AJCC:** American Joint Committee on Cancer.
- ARID:** *AT-rich interaction domain* (dominio de interacción rico en adenina y timina).
- BRAF:** Proto-oncogén codificante de la proteína *B-Raf*.
- CCND1:** Ciclina D1.
- CDK4:** Ciclina dependiente de quinasa 4.
- CDKN2A:** *Cyclin dependent kinase inhibitor 2A* (inhibidor de quinasa 2A dependiente de ciclina).
- CEC:** Carcinoma epidermoide (o espinocelular) cutáneo.
- CSD:** *Chronic sun damaged* (daño actínico crónico).
- EEII:** Extremidades inferiores.
- EESS:** Extremidades superiores.
- FISH:** Hibridación *in situ* mediante inmunofluorescencia.
- IC:** Intervalo de confianza.
- IVO:** Instituto Valenciano de Oncología.
- KIT:** Oncogén codificante de la proteína tirosina-quinasa transmembrana *c-Kit*.
- LM:** Lentigo maligno.
- LMM:** Lentigo maligno melanoma.
- MAN:** Melanoma histológicamente asociado a nevo.
- MANdis:** Melanoma asociado a nevo displásico.
- MANcom:** Melanoma asociado a nevo común.
- McAN:** Melanoma clínicamente asociado a nevo
- MC1R:** Receptor de melanocortina-1.
- MDN:** Melanoma *de novo*.
- MES:** Melanoma de extensión superficial.
- MLA:** Melanoma lentiginoso acral
- MM:** Melanoma (“melanoma maligno”).
- MN:** Melanoma nodular.
- NF1:** Neurofibromina 1.
- NRAS:** Proto-oncogén codificante de la proteína *N-ras*.
- PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa.
- PTEN:** Gen supresor tumoral codificante del homólogo de fosfatasa y tensina.

***TERT***: Gen codificante de la *telomerase reverse transcriptase* (transcriptasa reversa de la telomerasa).

***TP53***: Gen supresor tumoral codificante de la proteína *p53*.

## *XI. Índice de tablas y figuras*

*Melanoma asociado a nevo melanocítico: Análisis de factores clínicos, epidemiológicos, histopatológicos y de biología molecular*



## XI.1. Índice de tablas

Tabla 1. Clasificación de Kraemer para el síndrome del nevo displásico.....	26
Tabla 2. Clasificación de Rigel para el síndrome del nevo atípico.....	27
Tabla 3. Criterios histológicos para la definición de un "nevo displásico" .....	29
Tabla 4. Mutaciones genéticas más frecuentes y su papel en la progresión hacia melanoma .....	48
Tabla 5. Revisión de la proporción de MAN en la literatura. Cálculo del porcentaje global de MAN en base a los 16162 pacientes incluidos en estudios previos.....	61
Tabla 6. Variables consideradas en el estudio.....	75
Tabla 7. Distribución de los pacientes según el sexo .....	98
Tabla 8. Distribución de los pacientes según la edad .....	99
Tabla 9. Distribución de los pacientes según el fototipo .....	100
Tabla 10. Distribución de los pacientes según el color de los ojos.....	100
Tabla 11. Distribución de los pacientes según el color del cabello .....	101
Tabla 12. Distribución de los pacientes según el índice de masa corporal (IMC).....	101
Tabla 13. Distribución de los pacientes según la localización anatómica del melanoma ..	102
Tabla 14. Distribución de los pacientes según la localización descubierta u oculta del melanoma.....	103
Tabla 15. Distribución de los pacientes según la "fotolocalización" del melanoma .....	104
Tabla 16. Distribución de los pacientes según el hábito tabáquico.....	105
Tabla 17. Distribución de los pacientes según los antecedentes de exposición solar laboral .....	106
Tabla 18. Distribución de los pacientes según los antecedentes de quemaduras solares intensas.....	107
Tabla 19. Distribución de los pacientes según los antecedentes de quemaduras solares en el área del melanoma.....	108
Tabla 20. Distribución de los pacientes según el número de nevos melanocíticos en el tegumento .....	109
Tabla 21. Distribución de los pacientes según la presencia de nevos histológicamente displásicos extirpados .....	111

Tabla 22. Distribución de los pacientes según la presencia de al menos un nevo melanocítico congénito .....	112
Tabla 23. Distribución de los pacientes según el patrón de nevos predominante.....	112
Tabla 24. Distribución de los pacientes según el número de nevos en el área del melanoma .....	113
Tabla 25. Distribución de los pacientes según la presencia de lentigos solares en el área del melanoma.....	114
Tabla 26. Distribución de los pacientes según la presencia de efélides en la infancia.....	115
Tabla 27. Distribución de los pacientes según la presencia de lentigos solares en el tegumento .....	115
Tabla 28. Distribución de los pacientes según el número de angiomas seniles en el tegumento .....	116
Tabla 29. Distribución de los pacientes según el número de queratosis seborreicas en el tegumento .....	116
Tabla 30. Distribución de los pacientes según los antecedentes de queratosis actínicas ...	116
Tabla 31. Distribución de los pacientes según los antecedentes de carcinoma basocelular .....	117
Tabla 32. Distribución de los pacientes según los antecedentes de carcinoma espinocelular .....	117
Tabla 33. Distribución de los pacientes según los antecedentes de otros tipos de neoplasias .....	118
Tabla 34. Distribución de los pacientes según la presencia o ausencia de antecedentes familiares de melanoma.....	119
Tabla 35. Distribución de los pacientes según los antecedentes familiares de cáncer de páncreas.....	119
Tabla 36. Distribución de los pacientes según los antecedentes familiares de otras neoplasias .....	120
Tabla 37. Clasificación de los pacientes en función del estadio del melanoma .....	120
Tabla 38. Distribución de los pacientes en función de la presencia o ausencia de una primera recaída del melanoma tras el diagnóstico inicial.....	121
Tabla 39. Distribución de los pacientes en función de la presencia o ausencia de una primera recaída del melanoma tras el diagnóstico inicial.....	122

Tabla 40. Distribución de los pacientes en función de si dio lugar o no el éxito debido al melanoma en el seguimiento .....	123
Tabla 41. Distribución de los pacientes en función del tipo histológico de melanoma ....	124
Tabla 42. Distribución de los pacientes en función del espesor de Breslow .....	125
Tabla 43. Distribución de los pacientes en función de la ulceración histológica .....	126
Tabla 44. Distribución de los pacientes en función del número de mitosis.....	127
Tabla 45. Distribución de los pacientes en función de la elastosis a nivel histológico en la pieza del melanoma .....	128
Tabla 46. Distribución de los pacientes en función de la presencia o ausencia de mutaciones conocidas en los genes BRAF, NRAS, KIT y TERT .....	129
Tabla 47. Distribución de los pacientes en función de la presencia de variantes no-sinónimas en el gen MC1R.....	130
Tabla 48. Análisis de regresión logística comparando los grupos de pacientes con MANdis frente a aquellos con MDN.....	132
Tabla 49. Análisis de regresión logística comparando los pacientes con MANcom frente a aquellos con MDN.....	136
Tabla 50. Análisis de regresión logística comparando los pacientes con MANcom frente a aquellos con MANdis .....	139
Tabla 51. Supervivencia libre de enfermedad comparando MDN y MAN.....	140
Tabla 52. Supervivencia específica relacionada con el melanoma comparando MDN y MAN .....	143
Tabla 53. Supervivencia global comparando MDN y MAN .....	143
Tabla 54. Supervivencia libre de enfermedad en los tres subgrupos .....	146
Tabla 55. Supervivencia específica relacionada con el melanoma en los tres subgrupos...	147
Tabla 56. Supervivencia libre de enfermedad en los tres subgrupos .....	148
Tabla 57. Distribución de los pacientes por subgrupos de MAN o MDN en función del modelo de clasificación de asociación clínica de nevo y melanoma en dos subgrupos .....	150
Tabla 58. Distribución de los pacientes por subgrupos de MAN o MDN en función del modelo de clasificación de asociación clínica de nevo y melanoma en seis subgrupos .....	150
Tabla 59. Distribución de los pacientes poniendo en común los modelos de clasificación de MAN en función de asociación histológica (con punto de corte de Breslow de 1 mm) y clínica .....	151

Tabla 60. Distribución de los pacientes poniendo en común los modelos de clasificación de MAN en función de asociación histológica (con punto de corte de Breslow de 2 mm) y clínica .....	152
Tabla 61. Características de la población estudiada.....	201
Tabla 62. Variables incluidas en la base de datos .....	212
Tabla 63. Secuencia de cebadores para la detección de mutaciones en BRAF, NRAS, KIT y TERT.....	222
Tabla 64. Componentes de la reacción de PCR.....	223
Tabla 65. Condiciones de amplificación: programa del termociclador.....	223

## XI.2. Índice de figuras

Figura 1. Ejemplos de la práctica clínica habitual. Imágenes clínica (superior) y dermatoscópica (inferior). A: Melanoma (de novo) de extensión superficial. B: Melanoma (de novo) nodular. ....	17
Figura 2. Ejemplos de la práctica clínica habitual. A y B: Melanomas (de novo) tipo lentigo maligno (LM/LMM). Imágenes clínica (superior) y dermatoscópica (inferior) de cada caso. C (panel de 4 imágenes): casos de melanoma lentiginoso acral. ....	18
Figura 3. Subtipos de melanoma en línea con la hipótesis de Whiteman y colaboradores .	19
Figura 4. Ejemplos de nevos melanocíticos en la práctica clínica habitual. Imágenes clínica (superior) y dermatoscópica (inferior) de cada caso, con diagnóstico de: (A) Nevo de Miescher en ala nasal. (B) Nevo de Unna en el hombro. (C) Nevo de Spitz en extremidad inferior (niño de 4 años de edad). (D) Nevo de Clark en el tronco (con histología de nevo con displasia moderada). ....	20
Figura 5. Representación esquemática del modelo evolutivo de los nevos adquiridos siguiendo la teoría del Abtropfung.....	21
Figura 6. Vías para el desarrollo del melanoma de acuerdo a la exposición y a la predisposición del paciente (figura modificada de Whiteman y colaboradores [59]) .....	32
Figura 7. Resumen de las alteraciones genéticas presentes en la evolución de una lesión melanocítica benigna a un melanoma en su evolución (figura modificada de Shain et al. [133]) .....	56
Figura 8. Ejemplos de la práctica clínica habitual. Imágenes clínica (superior) y dermatoscópica (inferior). A: MES asociado a nevo displásico. B: MES asociado a nevo común. C: MN asociado a nevo común. ....	57
Figura 9. Árbol de decisiones clasificatorio (metodología CRT) para la variable de edad..	78
Figura 10. Árbol de decisiones clasificatorio (metodología CRT) para la variable de edad considerando solo los subgrupos de MAN.....	78
Figura 11. Árbol de decisiones clasificatorio (metodología CRT) para la variable de localización del melanoma.....	79
Figura 12. Árbol de decisiones clasificatorio (metodología CRT) para la variable de fotoexposición laboral.....	81

Figura 13. Árbol de decisiones clasificatorio (metodología CRT) para la variable de antecedentes de quemaduras solares en el área del melanoma.....	82
Figura 14. Árbol de decisiones clasificatorio (metodología CRT) para la variable de número de nevos melanocíticos.....	83
Figura 15. Árbol de decisiones clasificatorio (metodología CRT) para la variable del número de nevos melanocíticos en el área del melanoma.....	84
Figura 16. Árbol de decisiones clasificatorio (metodología CRT) para la variable del número de lentigos solares.....	85
Figura 17. Árbol de decisiones clasificatorio (metodología CRT) para la variable del índice de Breslow.....	90
Figura 18. Diagrama de flujo del proceso de selección de los pacientes incluidos en el estudio.....	97
Figura 19. Distribución de los pacientes según el sexo.....	98
Figura 20. Distribución de los pacientes según la edad.....	99
Figura 21. Distribución de los pacientes según la localización del melanoma.....	102
Figura 22. Distribución de los pacientes según la localización descubierta u oculta del melanoma.....	103
Figura 23. Distribución de los pacientes en función de la "fotolocalización" del melanoma.....	104
Figura 24. Distribución de los pacientes según la localización del melanoma en áreas CSD frente a no-CSD.....	105
Figura 25. Distribución de los pacientes según los antecedentes de exposición solar laboral.....	106
Figura 26. Distribución de los pacientes según los antecedentes de quemaduras solares intensas en cualquier parte de la superficie corporal.....	107
Figura 27. Distribución de los pacientes en función de los antecedentes de quemaduras solares en el área del melanoma y su intensidad.....	108
Figura 28. Distribución de los pacientes en función de los antecedentes de quemaduras solares en el área del melanoma.....	109
Figura 29. Distribución de los pacientes en función del número total de nevos melanocíticos en la superficie corporal.....	110
Figura 30. Distribución de los pacientes según la presencia de NCA.....	111

Figura 31. Distribución de los pacientes según el patrón de nevos.....	113
Figura 32. Distribución de los pacientes en función del número de nevos en el área del melanoma.....	114
Figura 33. Distribución de los pacientes en función de los antecedentes personales de otras neoplasias .....	118
Figura 34. Distribución de los pacientes en función de los antecedentes familiares de melanoma.....	119
Figura 35. Clasificación de los pacientes en función del estadio del melanoma .....	121
Figura 36. Distribución de los pacientes en función de la presencia o ausencia de recaída tras el diagnóstico inicial del melanoma .....	122
Figura 37. Distribución de los pacientes en función de la ocurrencia de muerte específica por melanoma .....	123
Figura 38. Distribución de los pacientes atendiendo al tipo histológico de melanoma ....	124
Figura 39. Distribución de los pacientes en función del índice de Breslow.....	125
Figura 40. Distribución de los pacientes en función de la ulceración histológica .....	126
Figura 41. Distribución de los pacientes en función del número de mitosis.....	127
Figura 42. Distribución de los pacientes en función del grado de elastosis histológica en la pieza del melanoma.....	128
Figura 43. Curvas de supervivencia libre de enfermedad comparando pacientes con MDN y MAN siguiendo el método de Kaplan-Meier .....	141
Figura 44. Curvas de supervivencia específica relacionada con el melanoma comparando los pacientes con MDN y MAN siguiendo el método de Kaplan-Meier .....	142
Figura 45. Curvas de supervivencia global comparando los pacientes con MDN y MAN siguiendo el método de Kaplan-Meier .....	144
Figura 46. Curvas de supervivencia libre de enfermedad comparando los pacientes con MANdis, MANcom y MDN empleando el método de Kaplan-Meier.....	145
Figura 47. Curvas de supervivencia específica relacionada con el melanoma comparando los pacientes con MANdis, MANcom y MDN empleando el método de Kaplan-Meier.....	147
Figura 48. Curvas de supervivencia global comparando los pacientes con MANdis, MANcom y MDN empleando el método de Kaplan-Meier .....	149

