



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

Tesis doctoral

**Factores clínicos,
epidemiológicos, anatomopatológicos y
genéticos asociados al
melanoma sobre nevo**

Autor: Begoña Echeverría García

Director: Carlos Ferrándiz Foraster

Co-Director: Eduardo Nagore Enguïdanos

Universitat Autònoma de Barcelona

Facultad de Medicina

Departament de Medicina

2014



Germans Trias i Pujol
Hospital



Universitat Autònoma
de Barcelona



ivo

FUNDACIÓN
INSTITUTO VALENCIANO DE ONCOLOGÍA

Universitat Autònoma de Barcelona

Facultad de Medicina

Departament de Medicina

Hospital Universitari Germans Trias i Pujol

Fundación Instituto Valenciano de Oncología

Carlos Ferrándiz Foraster, Doctor en Medicina y Facultativo especialista en Dermatología en el Hospital Germans Trias i Pujol y **Eduardo Nagore Enguídanos**, Doctor en Medicina y Facultativo especialista en Dermatología en la Fundación Instituto Valenciano de Oncología

CERTIFICAN:

Como Director y co-Director respectivamente, que el trabajo titulado **Factores clínicos, epidemiológicos, anatomopatológicos y genéticos asociados al melanoma sobre nevo**, reúne todos los requisitos científicos y formales para proceder a su lectura y defensa como tesis para acceder al grado de Doctor en Medicina.

Y para que conste a todos los efectos oportunos, firman el presente certificado en Barcelona

Carlos Ferrándiz Foraster

Eduardo Nagore Enguídanos

El trabajo desarrollado para la obtención del diploma de estudios avanzados (DEA) de la presente tesis fue publicado en la revista *Actas Dermosifiliográficas*: Echeverría B, Botella- Estrada R, Serra-Guillén C, Martorell-Calatayud A, Traves V, Requena C, Sanmartín O, Llombart B, Guillén C, Nagore E. Increased risk of developing a second primary cutaneous nevus-associated melanoma in patients previously diagnosed with the disease. *Actas Dermosifiliogr* 2010;101:710-6, y premiado con el **Premio Actas-Isdín 2010** en la sección de mejor Artículo Original.

Parte de los resultados del trabajo del diploma de estudios avanzados (DEA) fueron presentados en el 2011 annual meeting of the American Academy of Dermatology con el título de: Echeverría B, Guillén C, Nagore E, Botella-Estrada R. Risk factors associated with the development of a second melanoma associated with nevus. *Am Acad Dermatol* 2011;64:AB9

Para la realización de esta tesis, con anterioridad al estudio de los factores asociados específicamente al melanoma sobre nevo, se realizó un estudio de los factores asociados a múltiples nevos y a nevos atípicos así como de la búsqueda de un sistema de detección rápido del fenotipo nevogénico en la consulta dermatológica. Este trabajo fue presentado en la comisión de seguimiento del año 2012 y ha sido recientemente publicado en el *British Journal of dermatology*: Echeverría B, Builliard JL, Guillén 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.

Agradecimientos y dedicatoria

Son muchas personas a las que me gustaría agradecer su ayuda y apoyo en la realización de la presente tesis doctoral.

En especial agradecer a Carlos Ferrándiz y a Eduardo Nagore por sus aportaciones, sus correcciones y su inmejorable disposición a la hora de ayudarme a realizar este trabajo, ya fuera en un congreso o en un email de fin de semana a horas intempestivas. Gracias por cederme sin ninguna reticencia una gran parte de vuestro trabajo y esfuerzo diario. Sin él, esta tesis no habría sido posible.

Al servicio de Dermatología del Hospital Germans Trias i Pujol por contribuir con su trabajo en la recogida de datos, y en especial a Aram Boada por facilitarme las bases de datos y ayudarme en su interpretación.

Al servicio de Dermatología del Instituto Valenciano de Oncología por inculcarme durante toda mi residencia la constancia y la importancia del trabajo diario.

Al Biobanco de la Fundación Instituto Valenciano de Oncología por su meritorio trabajo diario con la recogida y procesamiento de muestras biológicas

A Jesús Borbujo por su apoyo constante y sus consejos prácticos. Gracias por depositar tanta confianza en mí diariamente.

A Olga Olmos por sus directrices y enseñanzas en el manejo del programa SPSS.

A todos mis compañeros del servicio de Dermatología del Hospital Universitario de Fuenlabrada por haberme animado a seguir adelante y no rendirme.

A mi familia y amigos, y en especial a Nacho, por su infinita paciencia y buen humor a pesar de haber escuchado de forma constante en los últimos meses “tengo que estudiar” “no puedo salir”.

Abreviaturas

IVO: Instituto Valenciano de Oncología

MSN: Melanoma sobre nevo

MDN: Melanoma *de novo*

MM: Melanoma

LMM: Lentigo maligno melanoma

LM: Lentigo maligno

MES: Melanoma de extensión superficial

MN: Melanoma nodular

MLA: Melanoma lentiginoso acral

SNPs: Polimorfismos aislados de nucleótidos

EES: Extremidades superiores

EEII: Extremidades inferiores

MC1R: Receptor de la melanocortina 1

CDKN2A: Ciclina dependiente de quinasa 2A

CDK4: Ciclina dependiente de quinasa 4

1. Justificación del tema	15
2. Antecedentes	21
2.1 Vías divergentes en el desarrollo del melanoma cutáneo.....	23
2.2. Factores epidemiológicos y ambientales asociados a la nevogenicidad.....	24
2.2.1. Nevogénesis y latitud	25
2.2.2. Nevogénesis y fotoexposición.....	27
2.2.3. Nevogénesis y características fenotípicas.....	28
2.2.4 Puntos clave de los factores ambientales y fenotípicos asociados a la nevogénesis.....	29
2.3. Factores genéticos asociados a la nevogénesis y al melanoma	30
2.3.1 Eventos oncogénicos primarios y secundarios en la nevogénesis y en la génesis del melanoma cutáneo.	30
2.3.2 Melanoma múltiple.....	34
2.3.3 SNPs asociados a nevogenicidad y a melanoma	37
2.3.4 gen MC1R y melanoma.....	40
2.3.5. Puntos clave de la genética de la nevogenicidad y del melanoma	48
2.4 Melanoma en asociación histológica a un nevo melanocítico.....	50
2.5. Nevogénesis y Melanoma según el sexo	52
2. 6 Situación de partida	53
3. Hipótesis	55
4. Objetivos	59
5. Material y métodos	63
5.1 Variables de estudio:	67
5.1.1. Variables demográficas	67
5.1.2 Variables clínicas.....	68
5.1.3. Variables anatomopatológicas.....	77
5.1.4. Variables genéticas	80
6. Resultados.....	83
6.1. Estudio descriptivo de las dos poblaciones afectas de un primer melanoma de novo y melanoma sobre nevo	85
6.1.1. Variables demográficas	85
6.1.2. Variables clínicas.....	87
6.1.3. Variables anatomopatológicas.....	100
6.1.4. Variables genéticas	105
6.2. Estudio descriptivo de las dos poblaciones afectas de un segundo MSN y MDN .	111
6.2.1. Estudio descriptivo de la población afecta de más de un melanoma del Instituto Valenciano de Oncología.....	111
6.2.3. Estudio descriptivo de la población afecta de más de un melanoma en las bases de datos conjuntas.....	123
6.3. Estudio analítico de los factores epidemiológicos, clínicos y genéticos asociados a la presencia de un primer MSN.....	127

6.3.1. Estudio analítico de la población del Instituto Valenciano de Oncología.....	127
6.3.2. Estudio analítico de la población del Hospital Germans Trias i Pujol.....	137
6.3.3. Estudio analítico de los factores asociados a la presencia de un primer MSN en la base de datos conjunta.	142
6.4. Estudio analítico de los factores epidemiológicos, clínicos y genéticos asociados a la presencia de un segundo MSN	148
6.4.1. Estudio analítico de la población del IVO.....	148
6.4.3. Estudio analítico de los factores asociados al segundo MSN de la población de la base de datos conjunta	151
7. <i>Discusión</i>	153
8. <i>Conclusiones</i>	177
9. <i>Anexos</i>.....	181
10. <i>Referencias</i>	193

1. Justificación del tema

***Factores clínicos, epidemiológicos, anatomopatológicos y genéticos
asociados al melanoma sobre nevo***

La clasificación que tradicionalmente se ha hecho del melanoma cutáneo ha sido una clasificación “estática”. Esta clasificación estática se basa fundamentalmente en sus fases de crecimiento radial o vertical (melanoma de extensión superficial, melanoma nodular) o en su localización (melanoma lentiginoso acral, melanoma mucoso).

El mayor conocimiento de la biología molecular y de la epidemiología del melanoma cutáneo gracias a los esfuerzos realizados por diversos grupos de trabajo a nivel europeo y mundial (SIGU- Italian Society of Human Genetics´ y genoMEL- Melanoma Genetics Consortiom) ha hecho que esta clasificación tradicional pase a un modelo mucho más dinámico [1, 2]. En este modelo dinámico interactúan variables clínicas, epidemiológicas, anatomopatológicas y genéticas que caracterizan mejor a los “diferentes tipos melanomas”[3-8]. Según este nuevo modelo existen al menos dos vías para el desarrollo de un melanoma cutáneo (**Figura 1**) [9]. Una vía se encuentra marcada por la inestabilidad de las células pigmentarias y se caracteriza por la afectación de sujetos jóvenes, con múltiples nevos melanocíticos y que desarrollan un melanoma generalmente del subtipo de extensión superficial en una zona expuesta al sol de manera intermitente. La otra vía se caracteriza por la afectación de sujetos más mayores, con marcado daño actínico y que desarrollan un melanoma en zona de exposición solar crónica.

Recientemente se han descrito variantes de genes involucrados en la pigmentación cutánea y en la capacidad protectora de la melanina (variantes del gen MC1R) y polimorfismos aislados de nucleótidos que afectan a genes involucrados en el proceso de la nevogenidad (SNPs nevogénicos). Puesto que la fotoexposición intermitente y el nevo melanocítico parecen dos puntos clave en la vía de la inestabilidad de las células pigmentarias, estas variantes y polimorfismos genéticos podrían tener un papel en la aparición del melanoma cutáneo según esta vía [10-17]

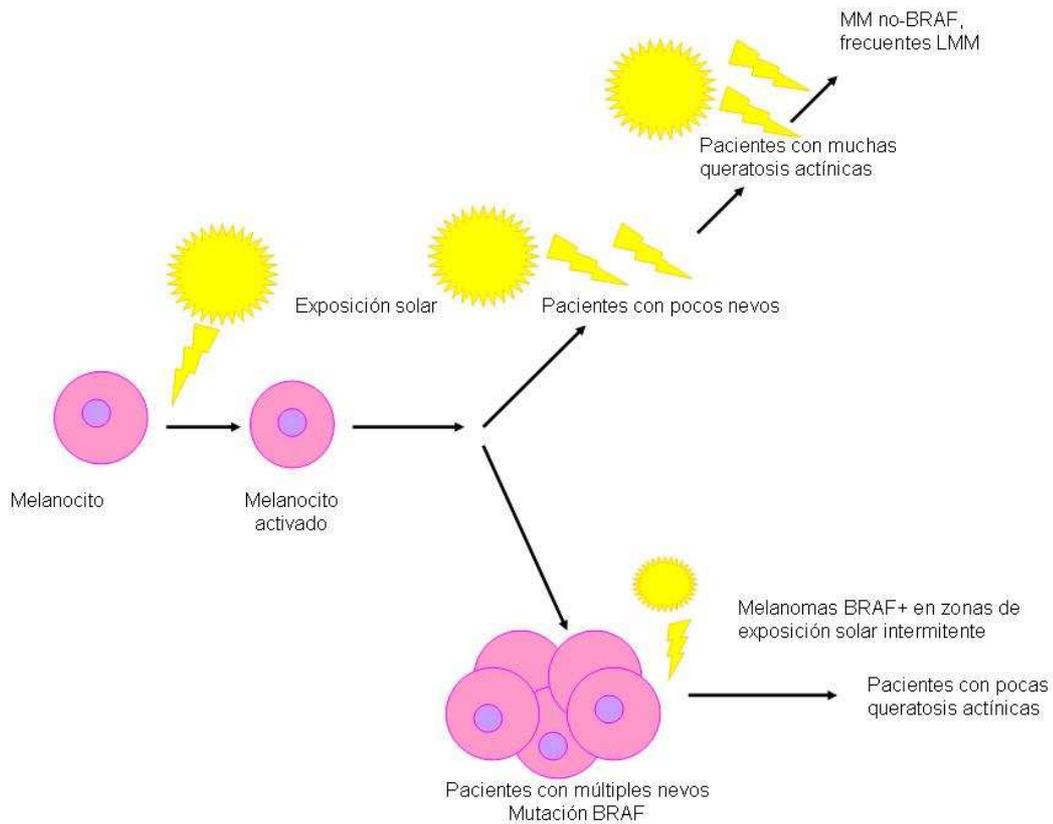


Figura 1: Vías divergentes para el desarrollo de un melanoma.

Desde el punto de vista histológico la gran mayoría de melanomas aparecen *de novo* (MDN), pero hay un porcentaje no despreciable y variable según los estudios contrastados de melanomas que aparecen en asociación histológica a un nevo melanocítico. En la actualidad hay escasos trabajos en la literatura médica que analicen los factores asociados al melanoma sobre nevo (MSN) y la situación que este tipo de melanoma puede ocupar en la vía de la inestabilidad de las células pigmentarias.

Finalmente, se sabe que los pacientes diagnosticados de un primer melanoma cutáneo tienen más riesgo que la población general de presentar un segundo melanoma primario. Al igual que hay escasos trabajos acerca de los factores asociados a la presencia de un primer MSN, no existen trabajos de los factores asociados a la presencia de un segundo MSN y de su papel en la vía de la inestabilidad de las células pigmentarias.

La completa caracterización de esta vía de la inestabilidad de las células pigmentarias simbolizada por el nevo melanocítico como resultado de la interacción de unas variantes

y/o polimorfismos genéticos con unas condiciones ambientales determinadas en un paciente concreto, contribuiría a la detección rápida de la población con un mayor riesgo del desarrollo de un melanoma cutáneo por esta vía. A su vez, una detección precoz de la población en riesgo conllevaría a un diagnóstico en estadios iniciales del melanoma cutáneo y a una reducción de sus tasas de mortalidad. Además, el mejor conocimiento de las diferentes variantes y polimorfismos de las que un paciente concreto puede ser portador conllevaría a un mejor despistaje entre sus familiares del riesgo de melanoma cutáneo [18-20].

La presente tesis irá dirigida a la mejor caracterización de los factores asociados a la presencia de un primer y un segundo MSN y a su ubicación en la vía de la inestabilidad de las células pigmentarias.

2. Antecedentes

*Factores clínicos, epidemiológicos, anatomopatológicos y genéticos
asociados al melanoma sobre nevo*

2.1 Vías divergentes en el desarrollo del melanoma cutáneo

En 1998 Whiteman y colaboradores sugieren que existen al menos dos vías para el desarrollo del melanoma cutáneo (hipótesis de las vías divergentes para el desarrollo del melanoma) [9]. Por una parte existe una vía marcada por la fotoexposición crónica que se caracteriza por la presencia de pacientes de edad avanzada, con marcado daño actínico y que desarrollan melanomas en zonas crónicamente expuestas como la cara o el cuello. Por otra parte está la vía de la inestabilidad de las células pigmentarias que afecta a pacientes más jóvenes, con tendencia a la proliferación melanocítica y que desarrollan un melanoma en zona de exposición solar intermitente como es el tronco.

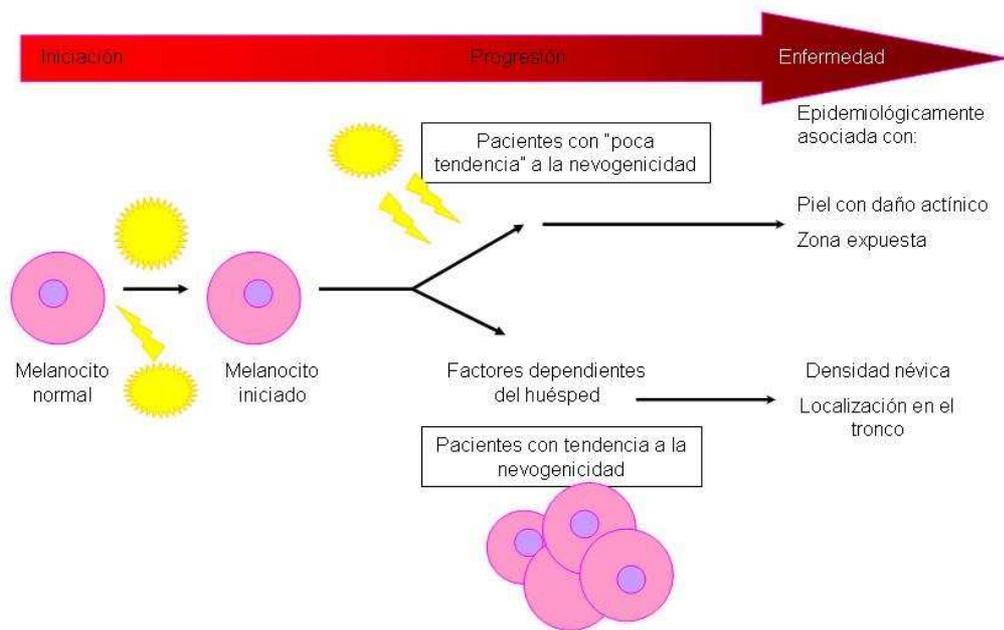


Figura 2: Vías para el desarrollo del melanoma de acuerdo a la fotoexposición y a la predisposición del paciente.

(Figura modificada de Whiteman y col. J Natl Cancer Inst 2003[21])

Con el fin de confirmar esta hipótesis, en 2003 estos autores realizan un estudio de casos-casos de pacientes diagnosticados de melanoma en Queensland en el periodo comprendido entre enero de 1998 y diciembre de 1999[21]. Para ello seleccionan tres grupos; por una

parte los pacientes diagnosticados de un melanoma nodular (MN) o de extensión superficial (MES) en el tronco, por otra los diagnosticados de un MES o MN en la cabeza o en el cuello, y finalmente los diagnosticados de un lentigo maligno (LM) o lentigo maligno melanoma (LMM). De estos grupos de pacientes seleccionan los antecedentes personales de exposición solar en la infancia, de exposición solar laboral, origen étnico, fototipo, color de pelo y ojos y tendencia a la presencia de efélides. De la entrevista personal y de la historia clínica recogen el antecedente de haber presentado queratosis actínicas, y una enfermera entrenada realiza el recuento del número de nevos de < 5 mm y ≥ 5 mm así como de queratosis actínicas. El número de nevos melanocíticos y la presencia de queratosis actínicas se clasifican según su localización en la cabeza y el cuello, las extremidades superiores (EES) y el tronco. Tras el análisis estadístico encuentran que los melanomas en la cabeza y en el cuello se asocian de manera significativa a pacientes con pocos nevos, con antecedentes de haber recibido tratamiento de queratosis actínicas y con la presencia de queratosis actínicas. Con estos hallazgos se da un mayor peso a la hipótesis previamente planteada de que al menos existen estas dos vías para el desarrollo del melanoma (MM) cutáneo y de que la exposición solar tiene un papel muy importante en su génesis, pero que en función de las características del individuo con respecto a su capacidad de proliferación melanocítica (características inherentes al propio paciente) los melanomas aparecen en el tronco (zona de exposición solar intermitente) o en la cabeza (zona de exposición solar crónica).

2.2. Factores epidemiológicos y ambientales asociados a la nevogenicidad

Desde hace al menos dos décadas se sabe que el número total de nevos melanocíticos comunes así como la presencia de nevos clínicamente atípicos son marcadores del riesgo de presentar un MM cutáneo [22-24]. Este riesgo se estima en 6,9 veces más para los pacientes que presentan un fenotipo de 101 a 120 nevos melanocíticos frente a aquellos que presentan menos 15, y en hasta 6 veces más para aquellos pacientes que tienen al menos 5 nevos atípicos frente a los que no tienen ninguno [25].

Según la hipótesis para las vías del desarrollo del MM cutáneo de Whiteman y colaboradores, la presencia de múltiples nevos melanocíticos es una característica propia de los pacientes que pertenecen a la vía de la inestabilidad de las células pigmentarias.

La aparición de un nevo melanocítico y de un MM cutáneo es un fenómeno complejo que viene determinado por múltiples factores que interactúan entre sí. Entre éstos se encuentran involucrados fundamentalmente factores ambientales (tipo e intensidad de exposición solar) y factores genéticos, que en algún caso se relacionan con características fenotípicas (mutaciones activadoras de oncogenes e inhibidoras de genes de supresión tumoral).

Estudios realizados en gemelos en el Reino Unido y en Australia hablan de que más del 68% de la variación en la densidad de los nevos melanocíticos puede explicarse por factores genéticos y que hasta el 25% puede venir explicada por factores ambientales, fundamentalmente la exposición solar. [26-28].

Con respecto a la búsqueda del peso de estos factores ambientales en la nevogénesis la gran mayoría de los trabajos se han realizado en población pediátrica. Esto se debe por una parte a que parece que la exposición solar por debajo de los 20 años es clave en la nevogénesis, y por otra a que en la población pediátrica la recogida de los antecedentes es más fácil ya que hay menos sesgos de memoria por parte de los padres. Dentro de los factores ambientales la nevogénesis se ha asociado a la latitud y a la exposición solar.

2.2.1. Nevogénesis y latitud

Dos estudios, uno realizado en Australia y otro en Alemania, relacionan específicamente la latitud con la nevogénesis.

En el estudio australiano, realizado en 1994, se relaciona la densidad de nevos con la latitud en 1156 niños de 6, 9, 12 y 15 años pertenecientes a Melbourne (38° Sur), Sydney (34° sur) y Townsville (19° Sur) [29]. En la realización de este estudio se exige que todos los niños estudiados hayan nacido en Australia y que tengan dos o más abuelos de origen europeo. Se recogen los datos de color de pelo y de ojos, así como del color de la piel y se consideran como nevos melanocíticos a todas aquellas máculas o pápulas de 2 ó más mm de diámetro y más oscuras que la piel circundante. Éstos se contabilizan y se subclasifican en un modelo de 32 regiones anatómicas. Adicionalmente se estiman cuantitativamente las efélides en la cara, los brazos y los hombros siguiendo los dibujos esquemáticos desarrollados previamente por Dubin y Gallagher [30] :

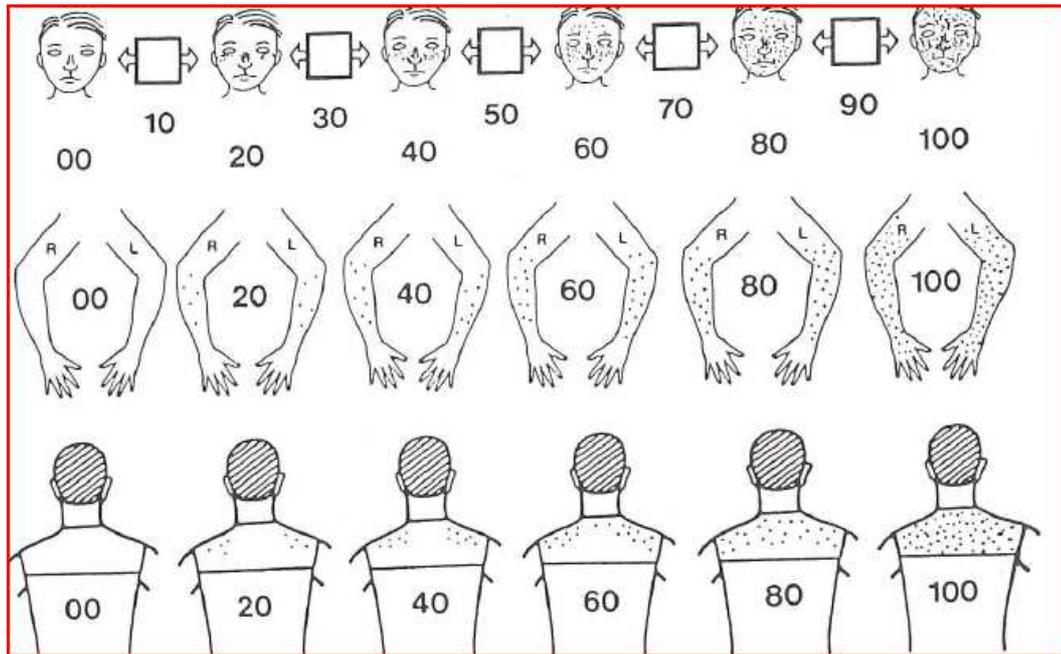


Figura 3.: Figuras anatómicas empleadas para la cuantificación de efélides.

Tras el estudio estadístico encuentran un aumento progresivo y de manera más precoz en el número de nevos a medida que se disminuye en la latitud, encontrándose un pico de mayor densidad de nevos más precoz en las poblaciones más próximas al ecuador. Esta asociación entre el número de nevos y la latitud se mantiene significativa cuando se ajusta por otras variables asociadas a la sensibilidad solar (piel clara, ojos claros, tendencia a la quemadura solar) al sexo y a la edad.

En el estudio realizado en población alemana se busca el efecto de las estancias vacacionales en latitudes inferiores a 48° Norte en niños de edades comprendidas entre los 5 y los 6 años, de origen caucásico y que vivan en la ciudad de Hamburgo (latitud 53°Norte) [31]. Para este estudio se recogen el número de nevos clasificados en 20 regiones anatómicas y los criterios de atipia (irregularidad de los bordes o de la forma, irregularidad o variedad de color) para aquellas lesiones de más de 3 mm de diámetro, y se rellena un cuestionario acerca de las características fenotípicas (color de pelo, ojos, efélides) y de los antecedentes vacacionales (frecuencia de vacaciones antes de los 6 años, área geográfica de vacación, uso de fotoprotector y exposición solar habitual durante el periodo vacacional). De forma similar al anterior trabajo, en el estudio estadístico se

obtiene que el número de nevos aumenta con el número de periodos vacacionales por debajo de la latitud de 48°Norte.

2.2.2. Nevogénesis y fotoexposición

El análisis específico de la exposición solar intermitente intensa y la nevogénesis se encuentra en dos trabajos, uno realizado en Australia (Queensland) y otro, más reciente, realizado en el Reino Unido [5, 32].

En el estudio realizado en Queensland se busca la asociación entre el número de nevos y los antecedentes de quemaduras solares y de uso de fotoprotector en 479 niños de edades comprendidas entre uno y seis años. Tras el análisis estadístico multivariado se obtiene que el número de quemaduras solares y la intensidad de éstas se relacionan de forma significativa con la presencia de nevos melanocíticos adquiridos de grandes dimensiones (mayores de 5 mm), y que la exposición solar habitual no muestra asociación estadísticamente significativa con este tipo de nevos [32].

En el estudio realizado en el Reino Unido se incluyen 960 pacientes y 513 controles del área de Yorkshire (54° Norte) y del norte del Reino Unido (60° Norte). Se recogen los nevos de 2 ó más milímetros de diámetro en piel fotoexpuesta en un mapa anatómico de 18 regiones. Los nevos de más de 5 mm de diámetro y clínicamente atípicos (márgenes irregulares o difusos y pigmentación variable) se recogen por separado. En este estudio también se analizan los datos de hábitos de exposición solar diaria (horas/día en meses fríos y cálidos), de fines de semana (horas/día en meses fríos y cálidos) y de periodo vacacional (horas/año de exposición solar en regiones por debajo de la latitud de 45°Norte, y horas/año de exposición de 10 am a 2 pm por debajo de la latitud de 45°N). Tras el estudio estadístico, se obtiene que el mayor recuento de nevos comunes así como de nevos atípicos se asocia de manera significativa con el mayor número de horas/año de exposición solar estival en zonas por debajo de la latitud de 45° Norte, y que la relación entre exposición solar y nevogenicidad es más marcada en las zonas de exposición solar intermitente que en las zonas de exposición solar más crónica. También se encuentra una débil asociación entre una exposición solar más mantenida (de fines de semana) en los

meses calurosos y una menor cantidad de nevos en las zonas expuestas al sol de una manera continua [5].

Posteriores estudios poblacionales de los factores asociados a múltiples nevos también obtienen estos resultados de un aumento del número de nevos con la exposición solar intermitente intensa y cierto efecto protector de la exposición solar crónica [33-36].

2.2.3. Nevogénesis y características fenotípicas

Estudios realizados en la población pediátrica muestran que los niños con una tez más oscura presentan un menor recuento de nevos melanocíticos que los niños con una tez más clara. A su vez, dentro de los pacientes que tienen la tez clara, existe la controversia de si a una mayor capacidad de bronceado existe una mayor cantidad de nevos o viceversa. Según los estudios más antiguos los niños que tienen una mayor capacidad para broncearse presentan un menor recuento de nevos melanocíticos que aquellos que se queman fácilmente con la exposición solar [37, 38]. Según recientes trabajos basados en el estudio estadístico de la interacción entre factores fenotípicos y nevogenicidad, los pacientes con un fototipo claro pero con pelo oscuro presentan una mayor cantidad de nevos que los pacientes con un fototipo claro y con pelo claro. Esto último se cumple en las zonas de exposición solar intermitente pero no en las zonas de exposición solar crónica [39].

Por otra parte, diversos estudios muestran que los pacientes pelirrojos, a pesar de presentar una mayor tendencia a la quemadura solar, presentan un menor número de nevos melanocíticos corporales totales [38, 40, 41]

Finalmente, la presencia de efélides faciales también se relaciona en numerosos estudios con un mayor recuento de nevos corporales totales, e incluso en algunos se considera como el factor más fuertemente asociado al mayor recuento de nevos melanocíticos [37, 42, 43].

2.2.4 Puntos clave de los factores ambientales y fenotípicos asociados a la nevogénesis.

1. A menor latitud hay un aumento progresivo y de manera más precoz en el número de nevos melanocíticos. [29]

2. El número de quemaduras solares y la intensidad de éstas se asocia con la presencia de nevos melanocíticos adquiridos de más de 5 mm. [32]

3. El número de nevos aumenta con el número de periodos vacacionales por debajo de la latitud 48°Norte. [31]

4. La fotoexposición estival por debajo de la latitud 45°Norte se asocia a un aumento en el número de nevos comunes y atípicos, y la exposición solar de fines de semana mantenida en zonas fotoexpuestas de manera crónica puede tener un efecto protector frente a los nevos de mayores tamaños y atípicos. [5]

5. Los pacientes de piel clara y de pelo oscuro presentan una mayor cantidad de nevos melanocíticos en las zonas de exposición solar intermitente que los pacientes de piel clara y pelo claro [39].

2.3. Factores genéticos asociados a la nevogénesis y al melanoma

2.3.1 Eventos oncogénicos primarios y secundarios en la nevogénesis y en la génesis del melanoma cutáneo.

Desde el punto de vista genético la aparición de un nevo melanocítico y de un MM es un fenómeno complejo. Este fenómeno está influenciado por múltiples eventos oncogénicos primarios, normalmente activadores (protooncogenes que pasan a oncogenes), y eventos oncogénicos secundarios, normalmente supresores (genes involucrados en los procesos de senescencia celular y en la pigmentación de la piel).

Eventos oncogénicos primarios en neoplasias melanocíticas	
Gen	Neoplasia asociada
NRAS	Nevo congénito, DA, MM acrales, mucosos y de zonas sin DA
HRAS	Tumores spitzoides
BRAF	Nevos adquiridos, MM no-DA, MM acrales y de DA(V600K), tumores spitzoides
KIT	MM acrales, mucosos y de DA
GNAQ	Nevo azul, MM uveal y MM semejante a nevo azul
GNA11	Nevo azul, MM uveal y MM semejante a nevo azul
ALK	Tumores spitzoides y otros MM todavía por definir
ROS1	Tumores spitzoides y otros MM todavía por definir
RET	Tumores spitzoides y otros MM todavía por definir
NTRK1	Tumores spitzoides y otros MM todavía por definir

Tabla 1. Eventos oncogénicos primarios de genes activadores [44, 45]. MM: Melanoma. DA: Daño actínico

Eventos oncogénicos secundarios	
Gen	Neoplasia asociada
CCND1	MM acral, mucoso y de DA
CDK4	MM mucoso y acral
MITF	Nevo adquirido, MM de DA y no- DA,
TERT	MM exposición intermitente
MEK1 y MEK2	MM en el espectro de ser determinados
CTNNB1	Subtipo en el espectro de ser determinados
EZH2	Subtipo en el espectro de ser determinados
RAC1	Subtipo en el espectro de ser determinados
CDKN2A	Todos los tipos de MM, nevo displásico y tumor spitzoide
PTEN	MM acrales, mucosos y No-DA
BAP-1	MM uveal
TP53	MM DA
ARID1A, ARID1B y ARID2	Subtipo en el espectro de ser determinados
NF1	MM DA y MM desmoplásico
SMARCA4	Subtipo en el espectro de ser determinados
PPP6C	Subtipo en el espectro de ser determinados
SF3B1	MM uveal
STK19	Subtipo en el espectro de ser determinados

Tabla 2: Eventos oncogénicos secundarios [44, 45]. MM: Melanoma, DA: Daño actínico solar

A su vez, el nevo o el MM así formado se encuentra en interacción con otros fenómenos en el microambiente que lo rodea (fenómenos paracrinos y procesos de inmunidad celular) los cuales también pueden sufrir diversas modificaciones secundarias a la exposición solar o a otras situaciones (diversos tipos de inmunosupresión) [44].

Diversos autores sugieren que dada la monotonía de los melanocitos que constituyen los nevos, la simetría que muestran en la histología y la presencia de mutaciones idénticas en el mayor volumen de las células que los constituyen, estos proceden de una expansión clonal de una única célula [44]. Para que esta célula empiece a proliferar y a generar el nevo melanocítico o un MM deben existir diversas mutaciones genéticas. Mutaciones en el gen BRAF se encuentran hasta en el 20-80% de los nevos intradérmicos, de los nevos compuestos y de los nevos displásicos, y hasta en el 66% de los melanomas. Estas mutaciones también se asocian en algunos trabajos a la vía de la inestabilidad de las células pigmentarias [46, 47]. La mutación más frecuentemente encontrada de todas (en hasta el 92% de los casos) es la que implica una sustitución de un ácido glutámico por una valina en el codón 600 (V600E). La segunda mutación más frecuente (con una frecuencia mucho más inferior a la V600E) es la V600K. La gran disparidad en las frecuencias con las que se

encuentra esta mutación en los diferentes estudios se explica por una parte por la influencia que de nuevo puede volver a tener la fotoexposición y la localización geográfica, y por otra parte por las diferentes técnicas empleadas en la valoración de la mutación en BRAF.

Varios estudios demuestran que la exposición solar intermitente se correlaciona con la presencia de mutaciones en el BRAF en nevos y melanomas de pacientes de diferentes etnias, y a su vez la exposición solar intermitente también se asocia a la vía de la inestabilidad de las células pigmentarias [48-51]. Otros autores, por el contrario, encuentran una frecuencia similar con independencia de la localización, e incluso detectan la mutación en nevos melanocíticos congénitos donde no ha mediado la exposición solar en su aparición. En 2006 Ichhii-Nakato y colaboradores analizan la presencia de la mutación en el BRAF con dos técnicas. Por una parte usan la secuenciación directa que detecta cuando hay aproximadamente más del 20% de células mutadas, y por otra una técnica más sensible (*mutector complete Kit*) que detecta cuando hay únicamente un 5% de células mutadas. Buscan esta mutación en 120 nevos melanocíticos adquiridos de diversas regiones anatómicas y 62 nevos congénitos [52]. Con esta nueva técnica más sensible que la secuenciación directa, encuentran la mutación V600E del BRAF hasta en el 100% de los nevos localizados en zonas de exposición solar intermitente y en el 81,4% de los nevos localizados en la piel glabra. En el caso de los nevos congénitos pequeños con la técnica del *mutector* encuentran la mutación en el 88,1% de los casos, y en el caso de los nevos melanocíticos congénitos medianos, esta mutación sólo se encuentra en 6 casos (30% de los pacientes). Por tanto, dado que la mutación también se encuentra en lesiones no fotoexpuestas de manera intermitente y en lesiones congénitas, su presencia en los nevos no se explica únicamente por las diferentes zonas anatómicas y el tipo de exposición solar. Además hay que decir que la mutación V600E no comprende la alteración clásicamente asociada a los efectos de la exposición solar (cambio de citosina por timidina) sino que comprende un cambio de timidina por adenina, y que también se ha encontrado en cánceres no fotoexpuestos como son el de tiroides o el colorrectal [53, 54].

Según Ichhii-Nakato la exposición solar puede actuar de una manera directa (sin necesidad de la mutación en el BRAF) en la proliferación melanocítica. Esto lo hace por medio de la activación del receptor de la melanocortina 1 (MC1R), la activación de los factores de crecimiento de la superficie de la propia célula, y la producción de endotelina 1 y del factor

de crecimiento fibroblástico básico originado por los queratinocitos y los fibroblastos adyacentes en respuesta a la exposición solar.

Modelos sobre ratones muestran que el daño solar viene facilitado más que por mutaciones en el BRAF por variantes del gen de MC1R asociadas a pelirrojos. En pacientes con estas variantes la feomelanina en presencia de la exposición ultravioleta genera radicales libres que dañan a la melanina y que posteriormente pueden condicionar nuevas mutaciones [44].

Con respecto a la explicación de la expansión clonal de una única célula en la formación de un nevo melanocítico, estos autores realizan microdisecciones de aquellos nevos en donde se encuentran discrepancias con las dos técnicas y obtienen una gran heterogeneidad clonal de los melanocitos dentro de la misma lesión. Defienden por tanto que los nevos melanocíticos provienen de una expansión policlonal, no monoclonal.

Otra de las mutaciones relacionadas con la nevogénesis es aquella que implica al gen NRAS. Este gen se encuentra con más frecuencia en nevos congénitos que la mutación BRAF, y parece que a mayor tamaño del nevo congénito mayor probabilidad de la presencia de esta mutación [55] [52].

La gran mayoría de nevos así formados entran en un equilibrio entre la proliferación y la senescencia celular inducida por múltiples factores (acortamiento de los telómeros, actuación de las proteínas p16 y p21, fenómenos inmunitarios como los sucedidos en los casos de halonevos...) que hace que se mantengan estables en tamaño y que incluso lleguen a involucionar en la edad adulta. En aquellos nevos en los que los fenómenos de senescencia tardan un poco más, se adquieren unas mayores dimensiones (más de 5 mm) e incluso se convierten en nevos atípicos (nevos con al menos una parte macular e irregularidad de bordes y/o colores). Dicho de otra manera, cuantos más mecanismos involucrados en la senescencia celular fallan y más mutaciones iniciadoras se encuentran mayor tamaño tendrán los nevos e incluso algunos de ellos se convertirán en nevos clínicamente atípicos [44].

Como se extrae de lo anterior, no sólo la genética centrada en el BRAF/NRAS marca el número de nevos y el desarrollo de un MM. Existen muchas otras alteraciones genéticas arriba mencionadas involucradas en estos procesos.

2.3.2 Melanoma múltiple

Hasta un 10% de los pacientes afectos de un MM cutáneo tienen antecedentes familiares de MM.

Del 1,3 al 8,6 % de los pacientes diagnosticados de un primer MM desarrollan durante su seguimiento al menos otro MM. [6, 26, 56-58].

El riesgo de un segundo MM primario durante los 10 primeros años de diagnóstico asciende hasta el 14% cuando un paciente diagnosticado de un primer MM tiene a su vez antecedentes familiares de MM [57].

A parte de los antecedentes familiares, otros factores epidemiológicos (no genéticos) que tradicionalmente se han asociado al MM múltiple (sin especificar en MDN o MSN) son el sexo masculino, la complejión de piel clara, el color de pelo pelirrojo y la presencia de lentigos solares (complejión céltica), la historia de otro cáncer (sobre todo el carcinoma basocelular), las lesiones finas (bajo espesor de Breslow) y la presencia de nevos melanocíticos atípicos [57, 58]. Más recientemente (2011), Siskind y colaboradores, estudian los factores asociados a la presencia de un segundo MM primario en una cohorte de 1083 pacientes diagnosticados de MM en Queensland en el periodo comprendido entre 1982 y 1990, con una media de seguimiento de 16,5 años [59]. Del conjunto de pacientes, durante el seguimiento, 221 desarrollaron al menos un nuevo MM primario. Tras el estudio estadístico multivariado, estos autores encuentran que la variable predictiva más importante para el desarrollo del segundo MM primario es el número de nevos melanocíticos reportado por el paciente en el momento basal (al diagnóstico del primer MM). La recogida del número de nevos reportado por el propio paciente, la hacen siguiendo un modelo esquemático que clasifica a los nevos en “ninguno”, “pocos”, “moderados” o “muchos”. Así, según sus resultados, los pacientes con un primer MM que refieren tener una gran cantidad de nevos muestran tres veces más riesgo de desarrollar un

segundo MM primario durante su seguimiento. Aparte del número de nevos y al igual que en los estudios previos, obtienen que los antecedentes familiares, el fenotipo pelirrojo con piel clara y el sexo masculino son factores asociados al segundo MM primario.

Al analizar los factores asociados específicamente al melanoma múltiple sobre nevo en la literatura médica sólo se encuentra un trabajo. En esta publicación tras el análisis estadístico de los factores clínicos, anatomopatológicos y epidemiológicos asociados a la presencia de un segundo MSN primario sólo el haber presentado un primer MSN mantiene asociación estadísticamente significativa [60].

2.3.2.1 Factores genéticos asociados al melanoma múltiple

1. CDKN2A y CDK4

Desde el punto de vista genético las mutaciones que se relacionan con el MM hereditario y con el MM múltiple y que parecen tener una mayor penetrancia, son fundamentalmente aquellas que afectan **al inhibidor de la ciclina dependiente de kinasa 2A, CDKN2A** (OMIM# 600160) localizado en el cromosoma 9p21, y a la **ciclina dependiente de kinasa 4, CDK4** (OMIM# 123829) localizada en el cromosoma 12q13.

La CDKN2A codifica dos proteínas supresoras tumorales que son la p14ARF y la p16INK4a. Estas proteínas se encuentran involucradas en el paso de ciclo celular de G1 a S y en la posterior apoptosis celular. Las proteínas p14ARF y p16INK4a cumplen un papel importante en la senescencia celular.

Las mutaciones en el gen CDK4 son muy infrecuentes incluso en las poblaciones con un alto riesgo de MM hereditario. Este gen codifica una kinasa que es la diana de la p16ink4a, por lo que cualquier mutación que implique al CDK4 va a influir en la p16ink4a y va a estar involucrada en los procesos de senescencia celular. Se han descrito dos mutaciones del CDK4 involucradas en el melanoma, estas son Arg24His y Arg24Cys.

La p16 y la proteína resultado del gen de la CKD4 actúan por medio de la misma vía, que es la vía del retinoblastoma (Rb). La p14 actúa a través del gen p53, que codifica una proteína encargada de la función de la apoptosis o muerte celular programada.

En la gran mayoría de casos se encuentra mutado el CDKN2A y más en concreto la proteína p16. Esta mutación se encuentra hasta en el 20- 40 % de los familiares de pacientes afectados de MM [61].

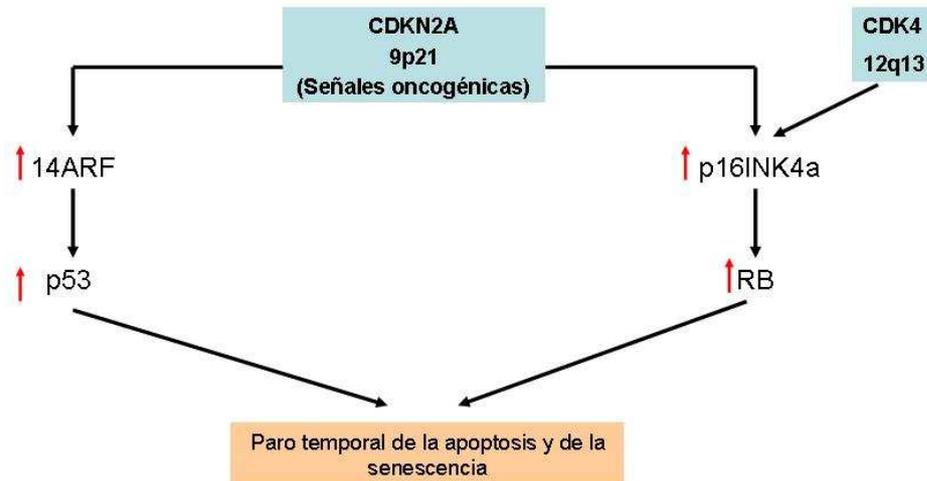


Figura 4 Vías supresoras del p53 y del retinoblastoma. Figura modificada de van Heemst, D y col.[62]

Clínicamente la presencia de la mutación en CDKN2A se asocia al desarrollo de múltiples melanomas primarios, de edad de presentación joven y con antecedentes familiares de al menos dos familiares afectados de MM y de cáncer de páncreas [63, 64] .

En los casos de melanomas múltiples asociados a esta mutación no parece existir una concordancia entre el lugar de la afectación del primer MM y del segundo MM. En estos casos el riesgo de padecer un segundo MM puede hasta casi duplicarse cuando el primer MM cutáneo aparece con anterioridad a los 40 años [64]. En los casos de melanomas múltiples no asociados a CDKN2A, sí que parece existir cierta concordancia entre el lugar de afectación del primer y del segundo MM. Esta concordancia llega a darse en más de la mitad de los casos (52.5%) y suele dominar en la cabeza y en el cuello (73.7%) (Vía de la exposición solar crónica).

La frecuencia en la que se encuentra la mutación en el gen CDKN2A es muy variable según regiones geográficas. En estudios realizados sobre datos de los años 80, la

frecuencia de esta mutación se cifra en torno a un 50% en Europa, un 70% en USA y hasta un 90% en Australia [61].

Recientes estudios realizados en Sicilia y en Brasil muestran una menor frecuencia de esta mutación [65, 66]. En Sicilia, a diferencia de los resultados obtenidos con anterioridad en Italia, tras estudiar a 18 familias afectas de MM múltiple sólo se encuentra la mutación en el 22% de los casos, y se encuentran mutaciones diferentes (R24P, A68L y R87W) a las clásicamente descritas (G101W) [2]. En Brasil, tras estudiar a una población de 33 pacientes con MM múltiple y 29 controles provenientes de poblaciones situadas al sur del país (zona de prevalencia de antepasados de piel clara del Norte de Europa y cuya incidencia acumulada de melanoma cutáneo es de las más altas), no se encuentran mutaciones funcionales en los genes CDKN2A y CDK4. Hay que decir que en este estudio de Brasil no se secuenció por entero el gen sino que sólo se buscan las mutaciones más frecuentemente descritas en el mismo.

Las mutaciones en el gen CDKN2A y en el gen CDK4 son autosómicas dominantes pero se encuentran moduladas por diversos factores, ya que su penetrancia no es completa.

- Entre los factores clínicos y epidemiológicos que se barajan como posibles moduladores de la penetrancia del gen CDKN2A se encuentra el número de nevos totales y de nevos displásicos así como el número de quemaduras solares [67] [68].
- Entre los factores genéticos que modulan la penetrancia del gen CDKN2A se encuentran variantes o polimorfismos genéticos en genes a priori de menor relevancia que el CDKN2A y CDK4, como son los SNPs de genes asociados a la nevogenidad y del gen MC1R.

2.3.3 SNPs asociados a nevogenidad y a melanoma

Cada vez más estudios hablan de la presencia de determinados polimorfismos de nucleótidos cromosómicos que pueden tener un peso más o menos importante en el desarrollo de los nevos melanocíticos y del MM cutáneo. Dada la alta prevalencia de estos polimorfismos en la población general se han descrito variantes consenso (*wild type*) y variantes no consenso en homocigosis y en heterocigosis.

Diversos estudios poblacionales (GWAS- Genomic wide association study) describen **polimorfismos aislados de nucleótidos** (SNP, single nucleotide polymorphisms) que se encuentran en genes de localización cromosómica muy próxima al gen CDKN2A y que pueden tener influencia sobre la pigmentación y sobre la nevogénesis mediando de forma protectora o como factor de riesgo en el desarrollo del MM.

Se señalan principalmente 4 regiones de SNPs asociados a la nevogenicidad:

2.3.3.1. Gen de Metiltioadenosina fosforilasa- MTAP (9p21) (OMIM 156540)

Este gen se encuentra en proximidad al gen CDKN2A y también en la localización 9p21. Se describen principalmente dos polimorfismos relacionados con la nevogenicidad y uno asociado a MM:

- El polimorfismo rs4636294 se asocia a un mayor recuento de nevos en poblaciones caucásicas australianas y del Reino Unido [10, 12, 17].
- El polimorfismo rs7023329 se vincula en diversos trabajos a la nevogénesis. En estudios realizados sobre población con antecedentes de MM familiar se observa que la asociación de este polimorfismo a los antecedentes familiares de MM y a la presencia de la mutación CDKN2A se relaciona con un mayor recuento de nevos [17]. J.Newton-Bishop obtiene que tanto la presencia en homocigosis como en heterocigosis del alelo A (AA y GA) para este polimorfismo se asocia a un menor número de nevos en general y de nevos comunes de 5 ó más mm. La presencia de estos alelos no muestra asociación con los nevos atípicos, pero la presencia del alelo GG en homocigosis con antecedentes personales de quemaduras solares sí que se asocia a un mayor número de nevos comunes y de nevos atípicos [5]. Este último polimorfismo también se ha visto que se asocia al carcinoma y al adenoma colorrectal y al osteosarcoma [69].
- El polimorfismo rs 10757257 en este gen se relaciona con el aumento del riesgo de MM [70].

3.3.3.2. Gen de la fosfolipasa A2- PLA2G6 (22q13) (OMIM 8398).

Según estudios realizados sobre población del Reino Unido y de Australia el polimorfismo rs2284063 se asocia a un mayor número de nevos. Además, el recuento de nevos parece ser todavía mayor cuando junto a este polimorfismo también se encuentra el rs4636294 en

el MTAP [71]. Ambos polimorfismos también se relacionan con el riesgo del desarrollo del MM cutáneo[70].

En el trabajo J Newton-Bishop encuentran algo de evidencia de la interacción entre este polimorfismo y las quemaduras solares a edades inferiores a los 20 años en la presencia de nevos atípicos y nevos de grandes dimensiones [5].

3.3.3.3 Gen regulador del interferón 4- IRF4 (6p25-p23) (OMIM 601900).

Parece que este gen está implicado en la protección frente al MM cutáneo [12, 72]. Estudios en población gemela australiana determinan una dualidad en la influencia de este gen en el recuento de nevos según la edad del paciente. En pacientes adolescentes portadores del polimorfismo rs12203592T se observa un mayor recuento de nevos y en pacientes adultos con este mismo polimorfismo un menor recuento de nevos. Por tanto se deduce que este polimorfismo está implicado en la nevogenicidad pero también en una senescencia más rápida de los nevos. Este polimorfismo también se asocia por igual con independencia de la edad con una mayor cantidad de efélides [12].

De forma paradójica a la inducción en la nevogénesis de este polimorfismo y probablemente debido a la también inducida senescencia celular, estudios en población española corroboran el posible papel protector de este gen frente al desarrollo del MM y lo asocian con rasgos fenotípicos que a priori serían de riesgo (color de ojos claro $p= 3.76 \times 10^{-4}$ y lentigos $p= 0.014$) [72].

3.3.3.4. Gen polidenosina difosfato-ribosa polimerasa-PARP1 (1q42.12) (OMIM: 173870)

Estudios en población española también muestran que este gen, y más en concreto el polimorfismo rs3219090, tiene efectos protectores sobre el desarrollo del MM ($p 0.027$) [72].

Kvaskoff M y colaboradores siguiendo la hipótesis de las vías divergentes para el desarrollo del MM de Whiteman estudian la relación entre los anteriormente citados SNPs asociados a la nevogenicidad, el subtipo histológico de MM y la localización del mismo. Analizan variantes de MTAP, PLA2G6 e IRF4 en 1028 pacientes del registro de Queensland y 1469 controles de un estudio previo de nevos en gemelos (Brisbane Twin

Naevus Study) [71]. Tras el análisis estadístico encuentran una asociación estadísticamente significativa entre el polimorfismo en el MTAP, en el alelo G (rs10757257G), y el MM en los pacientes adultos (OR: 1,32, IC al 95%:1,14-1,54) y ancianos (OR: 1,41 IC al 95% de 0,99-2,02). En el caso de los adolescentes y los niños no encuentran asociación estadísticamente significativa. Tampoco encuentran una asociación estadísticamente significativa entre el polimorfismo PLA2g6 rs132985C y la presencia de MM. En el caso del polimorfismo en el IRF4, alelo rs12203592T, obtienen que se asocia de una manera inversa a la presencia de MM en niños y en adolescentes (niños OR: 0,35, IC al 95%: 0,16-0,77, adolescentes OR: 0,61, IC al 95%: 0,42-0,91). Al analizar la presencia de estos polimorfismos con las diferentes zonas anatómicas y subtipos de MM, obtienen que los alelos de riesgo de MTAP rs10757257 se asocian más frecuentemente al MN y MES que en la población control. Además, encuentran tendencias no significativas entre variantes del PLA2G6 y el MM localizado en las EESS y variantes de IRF4 con el MM localizado en el tronco.

Siguiendo esta línea de estudio y puesto que parece que del análisis de polimorfismos de forma aislada no se obtienen resultados significativos, a finales de 2013 Fang y colaboradores publican un estudio basado en el análisis conjunto de polimorfismos [73]. Su hipótesis es que el análisis conjunto de polimorfismos puede detectar mejor que el análisis individualizado su efecto, y que además mejora los modelos convencionales del estudio de los factores de riesgo basados únicamente en el fenotipo. Para ello genotipan 11 SNPs que en estudios previos se habían asociado al riesgo del desarrollo del MM cutáneo en 494 casos y 5628 controles. Realizan un primer estudio de regresión logística de cada uno de los polimorfismos para ver su efecto de forma aislada, y posteriormente combinan múltiples polimorfismos y generan una escala de valoración para ver el efecto de esta sobre el desarrollo de un MM cutáneo. Como conclusión estos autores obtienen que el análisis conjunto de SNPs comunes y de baja penetrancia puede identificar individuos con una alta predisposición al MM cutáneo y suplementar las variables fenotípicas clásicamente descritas.

2.3.4 gen MC1R y melanoma

El gen MC1R se localiza en el cromosoma 16q24.3. Este gen codifica para una proteína que está constituida por una parte por el receptor extracelular de la hormona estimulante de

los melanocitos alfa (α MSH) y por otra por una proteína transmembrana de siete dominios. Cuando se produce la unión entre la hormona y el receptor se estimula a una proteína G, la cual a su vez actúa sobre una proteína adenilciclase cuyo estímulo induce la producción de AMPc. El aumento de AMPc favorece la transcripción y la traducción de las enzimas tirosinasa (TRP-1 y TRP-2). Las enzimas tirosinasa inducen en el melanocito la producción de feomelanina (color rojo-amarillo) o de eumelanina (marrón-negro) y la proliferación melanocítica [74].

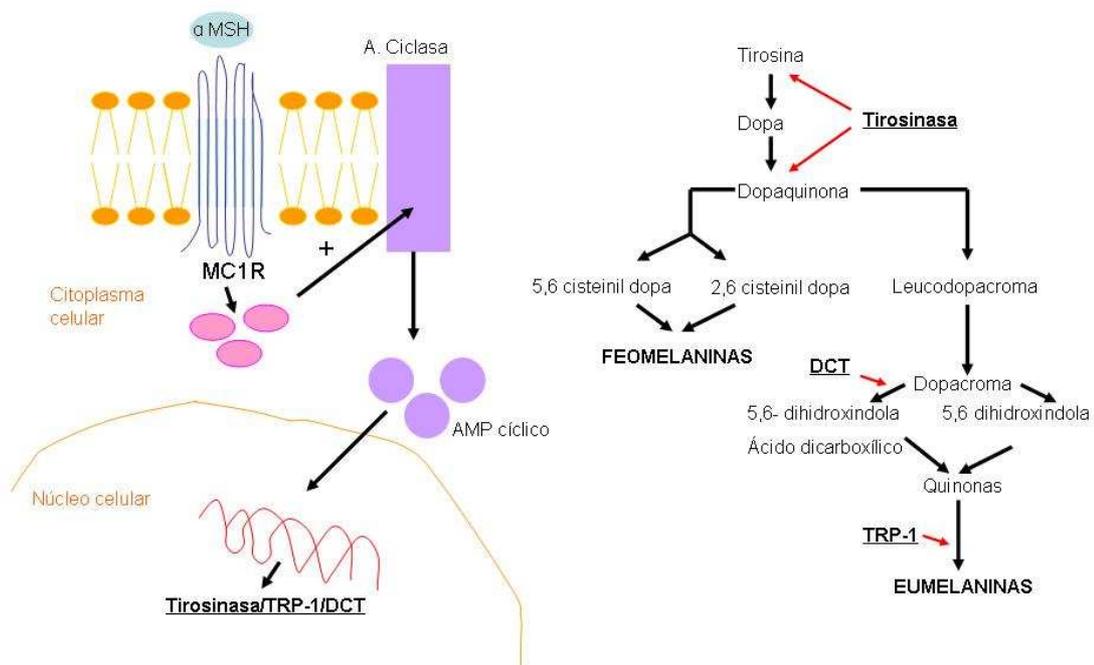


Figura 5 Situación del receptor MC1R y resultados de su activación

El gen MC1R es altamente polimorfo y se han descrito hasta 85 variantes del mismo. Estas variantes simplemente suponen un cambio de un aminoácido por otro en una posición determinada. Al igual que ocurre con otros genes, las variantes se clasifican según si producen cambio de aminoácido (variantes no sinónimas) o no (variantes sinónimas). De entre las primeras, además, se distinguen entre las que se asocian al fenotipo cutáneo más sensible al sol y, en particular, al pelo rojo. Éstas se conocen como variantes RHC del inglés 'red hair color'. Estas variantes son :R160W, D294H, R151C, R142H y D84E, y son las que condicionan una mayor alteración de la melanogénesis con una mayor producción

de feomelanina, responsable de ese fenotipo con pelo rojo, piel clara e incapacidad de broncearse y una mayor cantidad de efélides y de lentigos solares [16] [68]. La feomelanina tiene una menor capacidad de protección frente al daño producido por la radiación ultravioleta e incluso parece favorecer la producción de radicales libres y por ello acentuar dicho efecto nocivo. Las variantes RHC son las que más riesgo asocian para el desarrollo de un melanoma aunque las variantes no-RHC, mucho más prevalentes que las anteriores en la población general, parecen tener un papel relevante, especialmente en poblaciones con fenotipos más oscuros. El conjunto de estas características constituye un factor de riesgo para el MM y para el cáncer cutáneo no melanoma, especialmente cuando se combina con factores ambientales como son la exposición solar intensa a baja latitud [75].

En cualquier caso, estas variantes de MC1R son consideradas genes de baja penetrancia ya que son relativamente comunes en la población en comparación con la incidencia del MM cutáneo.

Recientes estudios respaldan la hipótesis de que la presencia de estas variantes RHC aumentan la penetrancia de las mutaciones en el gen CDKN2A y por tanto el riesgo de desarrollar un MM cutáneo [11, 16].

En 2005, Chaudru y colaboradores analizan la presencia de mutaciones en el gen CDKN2A y de variantes del gen MC1R en 20 familias afectas de MM familiar (con al menos dos familiares de primer o segundo grado afectados de un MM cutáneo con confirmación histológica del mismo) en combinación con otros factores de riesgo conocidos para el desarrollo del MM cutáneo (quemaduras solares, número de nevus, presencia de nevus displásicos). Estos autores encuentran que sólo las variantes RHC y la presencia de nevus displásicos aumentan de forma significativa la penetrancia de la mutación en el gen CDKN2A ($p= 0.03$ para las variantes RHC y $p< 0.01$ para la presencia de nevus displásicos). De forma adicional obtienen que existe un mayor número de pacientes afectados de MM entre los portadores de la mutación CDKN2A que tienen un mayor número de variantes de MC1R que entre aquellos portadores que tienen sólo una variante [68].

Este “efecto acumulativo” de las variantes del gen MC1R también lo encuentran posteriores autores que fijan el aumento del riesgo en hasta 5 veces más con la presencia de dos variantes RHC con respecto a la presencia de variantes no-RHC [11, 14].

Fargnoli y colaboradores en 2010 publican en su metanálisis una vinculación entre la edad de diagnóstico más temprana del MM y la presencia conjunta de mutaciones en el gen CDKN2A y variantes en el MC1R [13]. En dicho metanálisis se encuentra una edad de presentación del MM de 37 años en pacientes portadores de CDKN2A y de al menos una variante en el MC1R, frente a una edad de 47 años para pacientes portadores de la mutación en CDKN2A sin variantes en el MC1R. Al igual que en los anteriores trabajos, se intenta cifrar el riesgo estimado para el desarrollo de un MM según la presencia de al menos una variante MC1R, de dos o más variantes de MC1R o de al menos una variante RHC en portadores de la mutación CDKN2A. Para ello realizan una búsqueda de todas las publicaciones citadas hasta el 2009 en las bases de datos de Pubmed, ISI web of Science y Embase que presentasen las palabras clave “MC1R”, “melanocortin-1-receptor” y “Cyclin-Dependent Kinase inhibitor 2A“, solas o en combinación. De las 16 publicaciones que son seleccionadas inicialmente, sólo se incluyen en el metanálisis 7 [68, 76-81]. Del análisis conjunto de estos datos obtienen un aumento del riesgo (OR) de 2,2 con un intervalo de confianza al 95% de 1,1-4,5 para el desarrollo de un MM cutáneo en pacientes portadores del CDKN2A con al menos una variante del MC1R, sin evidencia de heterogeneidad o de riesgo de sesgos.

Dos metanálisis posteriores estudian el papel aislado (sin presencia de la mutación CDKN2A) de las variantes del gen MC1R en el desarrollo del MM [16, 82]:

- En 2008 Raimondi y colaboradores analizan las variantes de MC1R más estudiadas (V60L, D84E, V92M, R142H, R151C, I155T, R160 W, R163Q y D294H). Encuentran que las más frecuentemente asociadas al MM son la D84E, R142H, R151C, I155T, R160W, R163Q y D294H. Todas estas variantes, a excepción de I155T y R163Q, son variantes RHC. La que muestra en este estudio un mayor aumento del riesgo de presentar un MM es la variante I55T (OR: 2,45, IC 95%: 1,32-4,55).
- En 2011 Williams y colaboradores realizan un metanálisis de 20 artículos extraídos de 25 poblaciones diferentes. Tras el análisis estadístico encuentran que el riesgo estimado de las

variantes RHC es de 2,44, con un intervalo de confianza del 95% de 1,72-3,45, y de las variantes no RHC es de 1,29, con un intervalo de confianza del 95% de 1,10-1,51.

La primera referencia de estudio de variantes de MC1R en la población española se encuentra en 2010 [83]. Estos autores realizan un estudio caso- control con 390 pacientes y 254 controles de las variantes de MC1R, de CDKN2A y del gen OCA (gen del albinismo oculocutáneo) asociadas al MM en la población española. Tras el análisis estadístico obtienen al menos una variante del gen MC1R en el 55,1% de los pacientes y en el 46,1% de los controles e identifican dos nuevas variantes: V92L y T308M. Tras realizar el modelo multivariado de los factores de riesgo asociados al MM en esta población, obtienen significación estadística en el color de pelo, los lentigos solares, los antecedentes de quemaduras solares en la infancia y el número de variantes de MC1R.

Con posterioridad a este primer trabajo específicamente realizado en la población española, el grupo GenoMEL vuelve a destacar el papel de las variantes del MC1R como factor de riesgo en España y en Francia frente a otros países como Italia y Suecia[11].

Los mismos autores de la primera referencia española, en 2012 unifican la base de datos del trabajo anterior con otras procedentes de Italia y Francia con el fin de confirmar el papel de las variantes RHC como factor de riesgo del MM cutáneo en la población del sur de Europa [15]. Se analiza el impacto de las variantes RHC del gen MC1R, de las variantes del gen de la tirosinasa y del gen SLC45A2 sobre el riesgo del MM cutáneo en 1342 controles y 1639 casos. Tras el análisis estadístico se obtiene una fracción atribuible del riesgo del 21,4% para las variantes RHC del MC1R, del 29% para las variantes del gen SLC45A2 y del 1,89% para los polimorfismos del gen de la tirosinasa. Al analizar estos genotipos con diferentes fenotipos encuentran los siguientes resultados:

- Los polimorfismos RHC de MC1R se asocian al fototipo I y II, a la presencia de efélides y lentigos solares, y al color claro de ojos.
- Los polimorfismos del gen SLC45A2 se asocian al fototipo III y IV, y a los ojos y al pelo oscuro
- Los polimorfismos del gen de la tirosinasa se asocian al fototipo I y II, al color claro de pelo y al número de nevos melanocíticos.

Tras el análisis multivariado en este trabajo se mantienen como variables significativas las variantes RHC de MC1R y de SLC45A2. Al estratificarlo por fototipos obtienen que la presencia de variantes en el gen SLC45A2 tienen un efecto protector en los pacientes de fototipos claros, y que la presencia de variantes RHC sigue siendo factor de riesgo con independencia del fototipo del paciente.

De ahí se extrae que las variantes RHC del gen MC1R son factores de riesgo para el MM cutáneo en la población del sur de Europa con independencia de la presencia o no de la mutación en el gen CDKN2A y del fototipo del paciente.

Pasando del genotipo al fenotipo en la población de española, Avilés y colaboradores estudian las características histológicas y fenotípicas de aquellos pacientes que desarrollan un MM y muestran variantes del gen MC1R [56]. Estos autores encuentran que los pacientes con variantes en el gen MC1R tienen una mayor tendencia a las quemaduras solares ($p= 0.018$) y a la aparición de un MM en zona de exposición solar intermitente ($p = 0.019$) con respecto a los que no muestran variantes del gen de MC1R. Las variantes más frecuentemente encontradas en esta población son las V60L, V92M, I155T, D294H y T314T.

Por tanto, en la población española:

1. Las variantes del gen MC1R tiene más peso en el riesgo de melanoma que en otras poblaciones europeas como Suecia.

2. Las variantes RHC aumentan el riesgo de melanoma con independencia del fototipo del paciente.

3. Los pacientes con variantes en el gen MC1R tienen mayor tendencia a las quemaduras solares y al melanoma en zonas de exposición solar intermitente.

Fuera de España, Quin y colaboradores estudian la relación entre las variantes de MC1R y las mutaciones del gen CDKN2A con la aparición de los nevos melanocíticos. Estos autores, al igual que realizan con anterioridad Cuellar y colaboradores, buscan los cambios en la dermatoscopia y en el score dermatoscópico total de nevos atípicos y de melanomas en pacientes portadores de la mutación CDKN2A y de 0, 1 ó 2 variantes RHC del MC1R [84, 85] . Para ello seleccionan a 111 pacientes pertenecientes a familias con la mutación CDKN2A en los que la presencia de esta mutación se había confirmado, y realizan por una

parte la captura dermatoscópica con el sistema Molemax IITM de todos los nevos atípicos (lesiones parcialmente planas, con un diámetro al menos de 5 mm en una de las direcciones, con al menos dos de los siguientes criterios: borde borroso, color abigarrado o una tonalidad rojiza) y de los MM, y por otra parte la secuenciación del gen MC1R. Tras el análisis estadístico, estos autores no encuentran diferencias en estas lesiones con respecto al borde, al tamaño o a la asimetría en función de si presentan 0, 1 ó 2 variantes del MC1R. Sí que encuentran unos nevos atípicos de mayor cantidad de colores en los pacientes sin variantes del gen MC1R frente a los que tenían 2, y en general, un score dermatoscópico total mayor en aquellos pacientes con 2 variantes frente a los que tenían una única variante. Estos autores atribuyen esta última diferencia a un retraso en el diagnóstico del MM por presentar estos pacientes lesiones con menor cantidad de colores.

Fuera de Europa, Yoshizawa y colaboradores analizan el papel que pueden tener las distintas variantes del gen MC1R y de otros genes involucrados en la melanogénesis en el desarrollo de cáncer de piel en la población japonesa, población cuyo fototipo es claramente diferente del occidental [86]. Estos autores realizan un estudio caso- control con dos poblaciones diferentes (una de Yamagata y otra de Osaka) con diagnósticos de carcinoma basocelular, carcinoma escamocelular, MM y queratosis actínicas. Estudian por separado las dos poblaciones y posteriormente las unen para formar una única base de datos. Analizan las variantes más frecuentemente encontradas en esta población asiática del gen MC1R (R67Q, V92M, I120T, R163Q), del gen del albinismo oculocutáneo 2 (T387M, A481T, H615R) y del gen SCL45A2 (E272K, L374G, V507L, T500P). Tras el estudio estadístico encuentran que la variante del gen del albinismo oculocutáneo2 H615R se asocia a MM en la población de Yamagata y la A481T a carcinomas escamocelulares y queratosis actínicas en la población de Osaka. No encuentran una asociación estadísticamente significativa con el resto de genes involucrados en la melanogénesis. Al unir las dos poblaciones tampoco encuentran una asociación estadísticamente significativa entre ninguna de las variantes y los distintos cánceres de piel. Estos autores concluyen con que las diferencias encontradas entre las dos poblaciones asiáticas estudiadas pueden deberse a la distinta latitud a la que se hallan, y que por tanto esta latitud pueda ser la que influya en el mayor o menor peso de las variantes sobre el fenotipo. También estos autores recalcan en su trabajo que las variantes RHC de MC1R clásicamente descritas en la

población occidental no se encuentran en la población asiática, y que por tanto en esta población no están asociadas al aumento del riesgo del MM cutáneo.

De lo anterior se puede concluir que las variantes del MC1R pueden aumentar el riesgo de padecer un MM cutáneo por la vía de la pigmentación en el caso de las variantes red hair colour en la población occidental. No obstante, debido al desarrollo de melanomas en casos de variantes no-RHC y al hecho de que el aumento en el número de variantes aumente el riesgo del MM cutáneo, debe haber otra vía no marcada por la pigmentación en la que este gen influya.

Actualmente no hay ninguna variante que asocie un mayor perfil nevogénico a un mayor riesgo de melanomas múltiples o de melanoma sobre nevo [11]

2.3.5. Puntos clave de la genética de la nevogenidad y del melanoma

1. La nevogénesis y el desarrollo de un MM cutáneo están influenciados por múltiples eventos oncogénicos primarios, normalmente activadores, y eventos oncogénicos secundarios, normalmente supresores. [44]

2. Las mutaciones somáticas en el gen BRAF se han encontrado tanto en nevos como en melanomas y algunos trabajos las asocian a localizaciones en áreas de exposición solar intermitente. [51]

3. Las mutaciones somáticas en el gen N-RAS se han encontrado tanto en nevos congénitos como en MM [52]

4. Las mutaciones germinales en los genes de baja penetrancia CDKN2A y CDK4 (eventos oncogénicos secundarios) se han asociado a melanomas múltiples. La penetrancia de estos genes puede aumentar con la presencia de nevos displásicos, antecedentes de quemaduras solares, SNPs asociados a nevogenidad y variantes de MC1R [17, 68]

5. Existen al menos 4 polimorfismos aislados de nucleótidos localizados en el cromosoma 9, en el 22 y en el 6, que se han asociado tanto a la nevogenidad como a la presencia del MM cutáneo.[5]

6. El análisis conjunto de los SNPs comunes y de baja penetrancia podría identificar individuos con una alta predisposición al melanoma cutáneo y suplementar las variables fenotípicas clásicamente descritas. [73]

7. La presencia de variantes de MC1R asociadas a pelirrojos implica la formación de feomelanina. La feomelanina es menos protectora frente a los efectos de la radiación ultravioleta y ante su exposición puede generar mayores radicales libres que a su vez induzcan mayores mutaciones que se asocien tanto a la nevogénesis como al MM. [75]

8. Las variantes de MC1R asociadas al pelo rojo aumentan el riesgo de MM en población occidental y la penetrancia de la mutación en CDKN2A. [16, 82]

9. En la población española, las variantes RHC se asocian al MM cutáneo con independencia del fototipo del paciente, y estas variantes RHC se asocian a MM en zonas de exposición solar intermitente y a antecedentes de quemaduras solares. [56]

2.4 Melanoma en asociación histológica a un nevo melanocítico.

Desde un punto de vista histológico, la gran mayoría de melanomas aparecen *de novo* (MDN), y un porcentaje mucho menor, aunque muy variable según la bibliografía que se contraste, aparece en asociación histológica a un nevo melanocítico [87-96] (**Tabla 3**)

Las causas que se atribuyen a esta gran disparidad de porcentajes según el estudio son:

- Puesto que en el análisis histopatológico no se realizan cortes del 100% de la pieza, puede que sólo se hayan analizado secciones en las que específicamente no se encuentren restos de lesión melanocítica benigna, y la incidencia acumulada de MSN esté infradiagnosticada.
- En los trabajos iniciales del MSN los márgenes del MM se definían como proliferación melanocítica atípica y por tanto el porcentaje de MSN era mayor que en los trabajos más recientes.
- A causa del crecimiento del MM este oblitera por completo cualquier resto de lesión melanocítica benigna y por tanto en estudios donde se seleccionan melanomas más finos existe un mayor porcentaje de MSN que en los que no se tiene en cuenta el grosor del MM.

Autor	Año	Nº pacientes	% MSN
Ackerman [97]	1948	75	4%
Couperus [98]	1954	141	72%
Cochran [99]	1969	165	22%
Clark [100]	1969	209	9,60%
McGovern [101]	1970	202	26,70%
Ripley [102]	1977	54	22,20%
Larsen [103]	1978	60	18,30%
Ackerman [87]	1979		50%
Crucioli [90]	1982	129	10,90%
Rhodes [96]	1982	234	27,40%
Friedman [104]	1983	557	23,30%
Sondergaard [105]	1983	1916	9%
Clark [92]	1984	241	30,70%
Kopf [106]	1987	679	26% (<1,49 mm) 15% (1,5-3 mm)
Stolz [89]	1989	150	22%
Marks [107]	1990	1101	23,30%
Urso [108]	1991	233	22,70%
Kalnenas [95]	1995	289	51%
Massi [91]	1999	131	20,60%
Bevona [93]	2003	1606	26%

Tabla 3: Referencias en la literatura de la búsqueda del porcentaje del MSN

Existen muy pocos estudios analíticos de los factores asociados específicamente al MSN [60, 91, 93, 95, 96].

En estos trabajos se encuentran como factores asociados en forma de aumento del riesgo:

- La localización en el tronco frente al resto de localizaciones. [91, 93]
- La localización en el tronco frente a la cabeza y al cuello [95] [60]
- Una edad más joven de presentación del MM [93]
- El MES frente al resto de subtipos histológicos [93]
- El MES frente al LMM [95]

Se encuentran como factores asociados inversamente al MSN [96]:

- El MN frente al resto de subtipos
- La presencia de metástasis viscerales o linfáticas
- La muerte por MM
- La localización en EEII
- El grosor superior a 2,25 mm

El único trabajo que muestra los factores asociados específicamente a un segundo MSN es el de Echeverría y colaboradores [60]. En este se obtiene como único factor asociado a un segundo MSN el antecedente de un primer MSN.

2.5. Nevogénesis y Melanoma según el sexo

Diversos estudios demuestran una mayor densidad de nevos melanocíticos en el sexo masculino con respecto al sexo femenino con independencia de la edad, diferencias en la distribución corporal de los nevos según el sexo, y un mejor pronóstico del MM en mujeres con respecto a los hombres [35, 38, 109-113]. En la bibliografía contrastada se dan diferentes explicaciones para estas diferencias en cuanto al sexo:

- Algunos trabajos atribuyen estas diferencias a factores hormonales. Entre estos factores hormonales se encuentra la mayor expresión del receptor B estrogénico con efectos anti-proliferativos en las lesiones melanocíticas y en la piel de las mujeres. Si bien, en contra de esta teoría hay que decir que no se ha asociado el número de nevos melanocíticos con la toma de anticonceptivos orales o con la multiparidad [114, 115].
- La desigual distribución entre el sexo masculino y el femenino se ha vinculado al tipo específico de prendas de ropa utilizadas en la infancia y adolescencia según el sexo[116].
- Recientes trabajos hablan de una diferente toma de conciencia con respecto a los efectos nocivos del sol en la piel según el sexo tras el diagnóstico de un primer MM. Según estos trabajos, tras un diagnóstico de MM cutáneo las mujeres se preocupan más de la protección frente a la exposición solar y evitan los destinos vacacionales donde pueda existir una mayor irradiación solar [117]

2. 6 Situación de partida

En el momento actual y tras la revisión bibliográfica desarrollada para la elaboración de esta tesis doctoral, no se ha encontrado ningún trabajo que analice los factores genéticos (variantes del gen MC1R y de SNPs asociados a la nevogenicidad) asociados al MSN así como la introducción del MSN en la vía de la inestabilidad de las células pigmentarias.

Sólo se ha encontrado un estudio (el proyecto de investigación antesala de esta tesis) de los factores asociados a la presencia de un segundo MSN [60].

El mejor conocimiento de la interacción entre la exposición solar, las alteraciones genéticas asociadas a un fenotipo con una mayor sensibilidad cutánea a esta exposición solar (variantes RHC de MC1R) y en un área geográfica determinada, y los SNPS asociados a la nevogenicidad, podrán caracterizar mejor al MSN y a su lugar en la vía de la inestabilidad de las células pigmentarias.

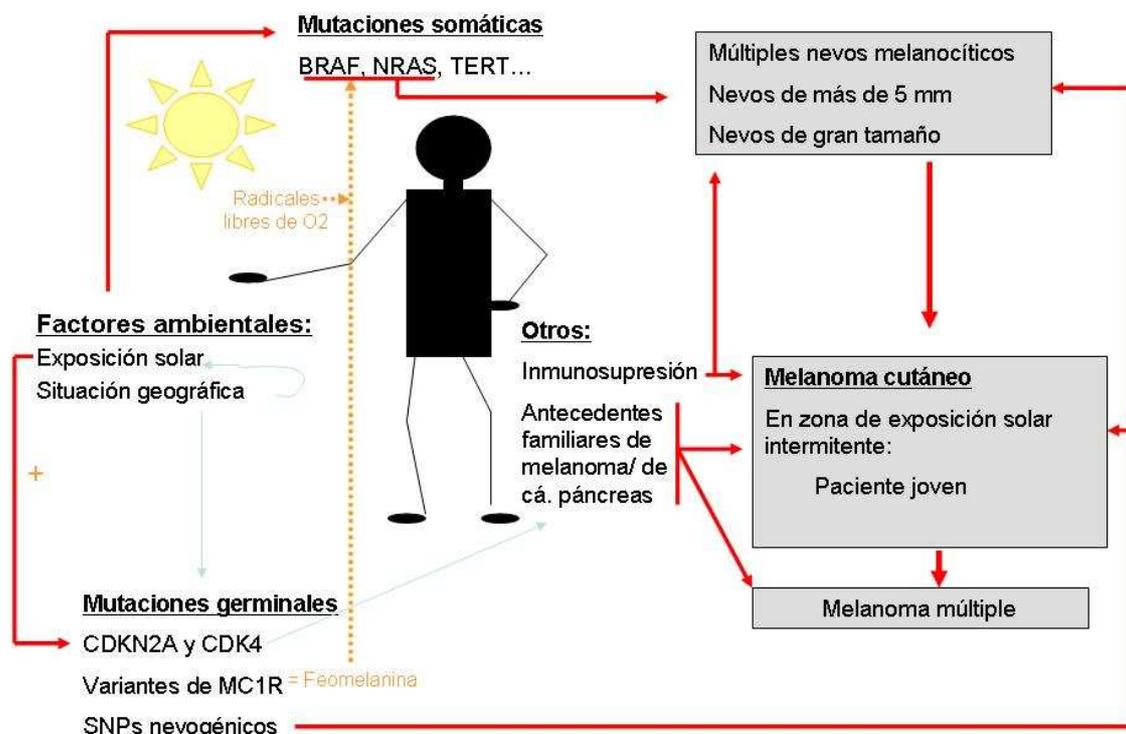


Figura 6: Esquema-resumen de los factores relacionados con los nevos melanocíticos y con el MM.

3. Hipótesis

*Factores clínicos, epidemiológicos, anatomopatológicos y genéticos
asociados al melanoma sobre nevo*

La vía de la inestabilidad de las células pigmentarias asume que los pacientes tienen una facilidad innata para la proliferación melanocítica. Esto se manifiesta con un mayor número de nevos melanocíticos adquiridos y con el desarrollo del melanoma en zonas de exposición solar intermitente. Debido a esta inestabilidad melanocítica estos pacientes tienen mayor probabilidad de presentar un melanoma sobre nevo. A su vez, puesto que el haber tenido un primer melanoma primario es factor asociado al desarrollo de un segundo melanoma primario, estos pacientes tienen mayor probabilidad de presentar un segundo melanoma sobre nevo.

4. Objetivos

*Factores clínicos, epidemiológicos, anatomopatológicos y genéticos
asociados al melanoma sobre nevo*

1. Conocer la prevalencia de melanoma sobre nevo en los pacientes que son diagnosticados de un melanoma cutáneo primario.
2. Conocer la incidencia acumulada de segundos melanomas cutáneos primarios y específicamente de segundos melanomas sobre nevo.
3. Evaluar la distribución corporal del primer y del segundo melanoma sobre nevo.
4. Identificar las variables epidemiológicas, clínicas, anatomopatológicas y genéticas asociadas a la presencia de un primer melanoma sobre nevo.
5. Identificar las variables epidemiológicas, clínicas, anatomopatológicas y genéticas asociadas a la presencia de un segundo melanoma sobre nevo.

5. Material y métodos

*Factores clínicos, epidemiológicos, anatomopatológicos y genéticos
asociados al melanoma sobre nevo*

Se realizó un estudio epidemiológico descriptivo y analítico de casos-casos. Para ello se recogieron los datos de forma prospectiva de 1432 pacientes afectados de uno o varios melanomas cutáneos atendidos en el servicio de Dermatología del Instituto Valenciano de Oncología (E. Nagore y B. Echeverría) y de 1370 pacientes atendidos en el servicio de Dermatología del Hospital Germans Trias i Pujol (C. Ferrandiz y A. Boada). Los datos del Instituto Valenciano de Oncología (IVO) comprendieron el periodo de tiempo desde el 1 de Enero de 2000 hasta Junio de 2013. Los datos del Hospital Germans Trias i Pujol comprendieron el periodo de tiempo desde Agosto de 1985 hasta Junio de 2013.

Los datos crudos de las dos poblaciones se encuentran en los **ANEXOS I y II**.

Se consideró criterio de inclusión en este estudio el diagnóstico de uno o varios MM cutáneos. Se consideró criterio de exclusión en este estudio el diagnóstico de un MM mucoso, de coroides o de origen primario desconocido.

Se realizó una clasificación en dos grupos: MSN y MDN. Se consideró MSN a todo aquel MM en el que se encontrasen nidos, cordones o hileras aisladas de células névicas citológicamente benignas en la dermis adyacente o por debajo del MM. En caso contrario se consideró que el nevo había aparecido de novo, sin lesión melanocítica asociada [118]. Para confirmar el diagnóstico de MSN en los casos que fueron diagnosticados en otros centros y remitidos al IVO para tratamiento y/o seguimiento se solicitó un bloque consulta de la lesión extirpada y se realizó de nuevo el estudio histológico en el propio centro.

Inicialmente se realizó un primer estudio epidemiológico descriptivo de las variables demográficas, clínicas y anatomopatológicas de los pacientes diagnosticados de un MM cutáneo en las dos poblaciones por separado. La selección de estas variables a estudio se realizó atendiendo a las variables analizadas en diversos metanálisis previamente publicados de los factores asociados al MM cutáneo [25, 33, 119] (**ANEXO III**). Cada población se subdividió en función de si el primer y el segundo MM fue *de novo* o sobre nevo.

En un segundo paso se realizó el estudio analítico de los factores asociados a la presencia de un primer y de un segundo MSN. Para ello se realizaron los estudios univariado y

multivariado en cada población por separado. La categorización de las variables así como la jerarquización de las que fueron significativas en el modelo univariado se realizó siguiendo la metodología CART (*Classification and regression trees*) y a los valores más altos obtenidos en el test de Wald.

La metodología CART es un sistema de organización de variables que permite analizar qué variables pueden servir como predictoras, sus interacciones y si el modelo resultante puede ser útil en la práctica asistencial. Esta metodología se plasma en una figura en árbol que a partir de nodos se va dividiendo en sucesivas ramas hojas. Cada nodo de cada rama del árbol contiene una pregunta sobre una variable predictora concreta y cada nodo hoja se refiere a un resultado. La serie de preguntas y de respuesta generadas constituye una regla de decisión, y el conjunto de reglas de decisiones definiría a un árbol concreto. Con todo esto, y a diferencia de en el modelo multivariado, se consigue una jerarquización de las variables significativas y una forma visual de analizar los factores asociados a un problema o una condición concreta.

Una vez obtenidos los resultados de los dos grupos (MSN y MDN) en las dos poblaciones por separado (IVO y Hospital Germans Trias i Pujol), y en vista de que eran muy semejantes, con el fin de ampliar el número de casos y obtener unos valores más cercanos a la realidad con unos intervalos de confianza más estrechos, se unificaron las dos bases de datos (estudio de bases de datos combinadas) y se realizó el estudio univariado, multivariado y árbol de decisiones de los factores asociados al primer y al segundo MSN para el conjunto de todos los pacientes. Para la realización del estudio multivariado se ajustó el modelo por la edad, el sexo, el índice de Breslow, las variables significativas en el modelo univariado y el centro sanitario de origen.

Para evitar sesgos por diferentes observadores (diferentes dermatólogos de diferentes centros hospitalarios) se seleccionaron en este estudio conjunto las variables que habían sido estudiadas por igual y con los mismos criterios en las dos poblaciones, y que habían obtenido unos datos muy semejantes en el estudio por separado.

5.1 Variables de estudio:

La categorización de todas las variables se encuentra en el **ANEXO IV**.

5.1.1. Variables demográficas

5.1.1.1. Edad: Se recogió el dato en cada paciente de manera cuantitativa para obtener la media, mediana y desviación típica.

Para el estudio de los factores asociados a la presencia de un primer MSN se categorizó la edad en menor o igual a 50 años y mayor de 50 años. Se seleccionó este punto de corte para la edad puesto que fue el que obtuvo un valor más alto en el test de Wald tras estudiar los años de 5 en 5 desde los 40 hasta los 55 años.

	Factores asociados a un primer MSN			
	Wald	P	OR	IC al 95%
Edad 40	13,829	<0,001	1,76	1,31-2,37
Edad 45	18,291	<0,001	1,81	1,38-2,37
Edad 50	23,522	<0,001	1,9	1,47-2,47
Edad 55	23,002	<0,001	1,9	1,46-2,47

Tabla 4: Valores de Wald para la presencia del primer MSN en las diferentes edades

Para el estudio de los factores asociados a la presencia de un segundo MSN, de igual manera que para el estudio del primer MSN, se estudió el valor del test de Wald de la edad categorizada de 5 en 5 años. Al igual que en el estudio del primer MSN se partió de la edad de 40 años, pero a diferencia de este y puesto que la edad de presentación del segundo MM suele ser mayor, se fijó el tope en los 65 años. Tras este estudio no se obtuvo significación estadística para la variable edad en ninguna de sus categorías.

	Factores asociados al segundo MSN			
	Wald	P	OR	IC al 95%
Edad 40	0,019	0,89	1,13	0,19-6,63
Edad 45	0,736	0,391	0,48	0,09-2,54
Edad 50	0,4238	0,508	0,614	0,14-2,61
Edad 55	0,03	0,856	0,89	0,25-3,16
Edad 60	0,045	0,832	0,87	0,25-3
Edad 65	0,328	0,567	0,69	0,20-2,43

Tabla 5: Valores de Wald para la presencia del segundo MSN en las diferentes edades

La aplicación de la metodología CART tampoco mostró ningún punto crítico para la categorización de la edad para el estudio del segundo MSN.

Finalmente, al ser una variable cuantitativa, se decidió la categorización para este estudio en base al valor de la edad mediana de los segundos melanomas. Esta edad mediana fue de 61 años, por lo que se categorizó en ≤ 60 años frente a > 61 años.

5.1.1.2 Sexo: Tanto para el estudio del primer MSN como para el estudio del segundo MSN el sexo se categorizó en Masculino vs. Femenino.

5.1.2 Variables clínicas

5.1.2.1. Nevos melanocíticos múltiples y nevos melanocíticos atípicos.

En la población del IVO se recogió el número de nevos melanocíticos de los pacientes de forma cuantitativa. Esta recogida de datos se hizo siempre por un dermatólogo. Se tuvieron en cuenta tanto los nevos de zonas visibles como los brazos, como aquellos localizados en zonas siempre cubiertas, como los de la zona mamaria en las mujeres y las nalgas en ambos sexos. Para estudiar estadísticamente el número de nevos se categorizó esta variable en menos de 20, de 21 a 50, de 51 a 100 y más de 100 nevos[60]. Se siguió el mismo criterio que en otros estudios a la hora de distinguir los nevos melanocíticos de las efélides: se consideraron nevos melanocíticos a aquellas máculas o pápulas pigmentadas con un diámetro superior a 2 mm que no fueran lentigos ni efélides. Las lesiones maculares con tendencia a confluir y desaparecer en invierno, localizadas en las zonas fotoexpuestas se consideraron efélides [3]. Para este estudio no se subdividieron los nevos melanocíticos comunes en de 2-5 mm y en ≥ 5 mm.

La definición de nevo clínicamente atípico se estableció en base a criterios clínicos (no anatomopatológicos) ya establecidos por otros autores en estudios previos. Se consideró como nevo atípico a toda lesión con al menos una parte macular, de 5 ó más milímetros y con contornos irregulares y/o color irregular [120, 121].

En la población del Hospital Germans Trias i Pujol se recogió el número de nevos múltiples de forma categórica en 50 ó más nevos frente a menos de 50 nevos melanocíticos. Debido a esto y puesto que también se disponía del dato, al estudiar las

bases de datos conjuntamente se volvió a categorizar el número de nevos en la población del IVO en 50 ó más nevos frente a menos de 50.

En el grupo de población del Hospital Germans Trias i Pujol no se recogió en la exploración física la presencia o ausencia de al menos un nevo clínicamente atípico, es por esto por lo que esta variable no se pudo incluir en el estudio conjunto.

5.1.2.2. Color de ojos

En la población del IVO se recogió el color de ojos en verdes, azules, marrones o negros. Para el estudio de los factores asociados a la presencia de uno o más de un MSN, y del mismo modo que ya se realizó en estudios previos, estas variables se categorizaron en verdes/azules (ojos claros) frente a marrones/ negros (ojos oscuros) [60].

5.1.2.3. Color de pelo

En la población del IVO se recogió específicamente el dato del color de pelo a los 20 años. Este se clasificó en color de pelo rubio, pelirrojo, castaño claro, castaño oscuro y moreno. Para el estudio analítico, al igual que se realizó en estudios previos, se agruparon las variables en color pelirrojo, color rubio y castaño claro, y color moreno y castaño oscuro [60].

5.1.2.4. Presencia de efélides

En la población del IVO se recogió este dato en forma de presencia frente ausencia. Como ya se ha comentado anteriormente, se consideraron efélides a aquellas lesiones maculares de menos de 2 mm, en zonas fotoexpuestas, que tienden a aparecer tras la exposición solar y en invierno desaparecen. Se dividió en Sí vs. No. La recogida del dato de las efélides en la cara se realizó de acuerdo a la figura de Gallager y colaboradores [30].

5.1.2.5. Lentigos solares.

En la población del IVO se recogió este dato. Se consideró lentigo solar a aquella lesión pigmentada macular con tendencia a confluir y que no desaparece en periodos no estivales. Para el estudio estadístico de los factores asociados a la presencia de un primer MSN, se categorizó esta variable en tener abundantes vs. Escasos/ ningún lentigo solar. Se realizó esta categorización de acuerdo a lo obtenido en el modelo CART de árbol de decisiones. Para el análisis de los factores asociados al segundo MSN específicamente en la población del IVO (ya que en el Hospital Germans Trias i Pujol no se recogió esta variable), también

se realizó la metodología CART para establecer el mejor punto de corte de la variable. En esta ocasión no se encontró ningún punto crítico por lo que se mantuvo la misma categorización que para el primer MSN (Abundantes vs. Escasos/ninguno)

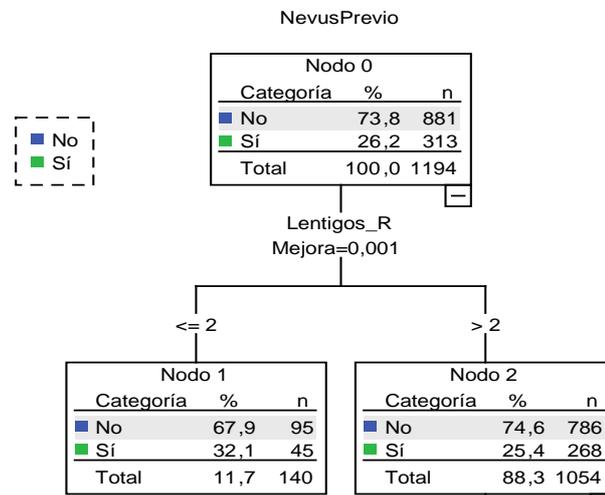


Figura 7: Árbol de decisiones para la presencia de un primer MSN. Se categorizó en 1: Ausencia de lentigos solares, 2: escasos lentigos solares y 3: abundantes lentigos solares.

5.1.2.6. Fototipo de acuerdo a la clasificación de Fitzpatrick.

En el Hospital Germans Trias i Pujol no se recogieron los datos de color de pelo a los 20 años ni del color de ojos, pero sí que se recogieron los datos del fototipo de acuerdo con la clasificación de Fitzpatrick.

De la misma manera que en estudios precedentes para el estudio del primer y el segundo MSN en la población del Hospital Germans Trias i Pujol se categorizó la variable en I/II vs. III/IV/V[60]. No se recogió este dato para este estudio en la población del IVO.

5.1.2.7. Antecedentes de quemaduras solares intensas.

Se consideró quemadura solar intensa a aquella que se sigue de la aparición de ampollas o eritema y molestias/dolor en la piel durante dos o más días.

En el IVO se recogió este dato en: “nunca”, “de 1 a 5 veces”, “de 5 a 10 veces” y “más de 10 veces”. Para el estudio analítico de los factores asociados al primer MSN en la población del IVO se realizó la metodología CART. Tras este sistema de clasificación se obtuvo que el valor que estaba en el primer nodo del árbol de decisiones y que mejor

discriminaba esta variable era la ausencia de antecedentes de quemaduras solares frente a la presencia de estos antecedentes. Para el estudio de los factores asociados al segundo MSN también se realizó la metodología CART. No se encontró ningún punto de corte adecuado para la presencia del segundo MSN por lo que al igual que en el estudio del primer MSN se mantuvo la presencia vs. La ausencia de estos antecedentes.

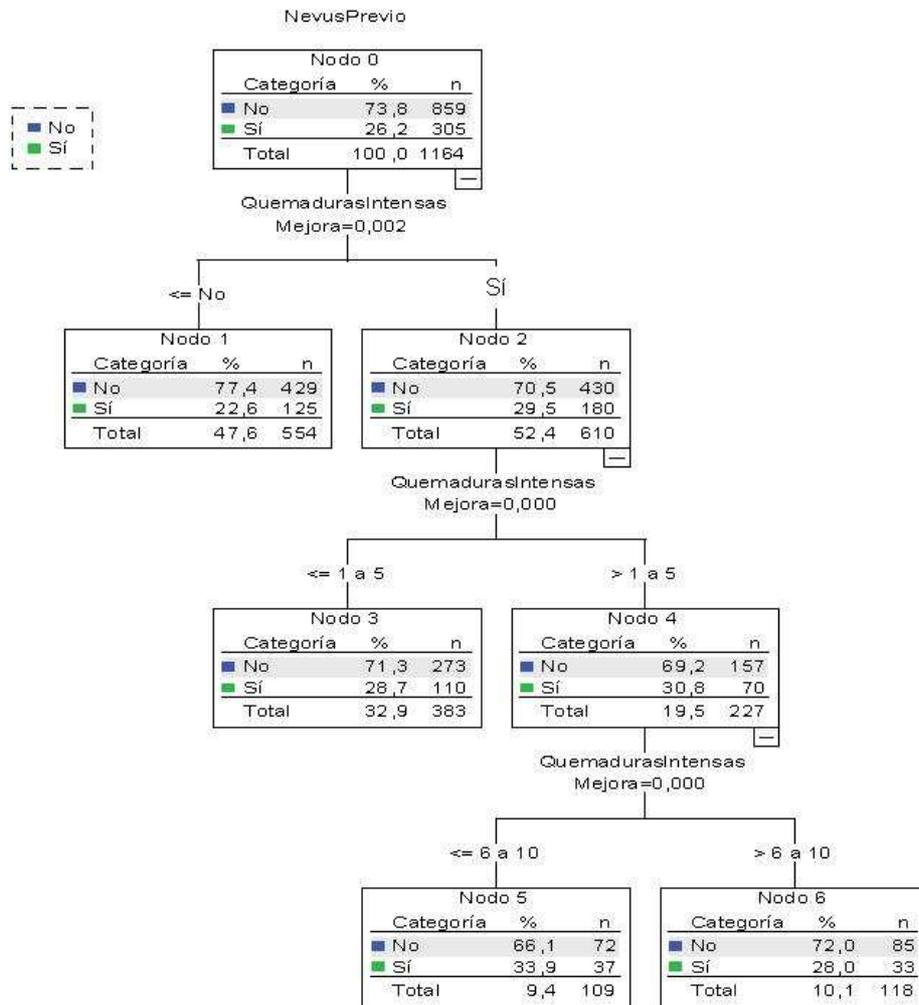


Figura 8: Árbol de decisiones para la variable quemaduras solares intensas en la presencia del primer MSN

5.1.2.8. Antecedentes personales de quemaduras solares en el área del MM.

En el IVO se recogió el antecedente de las quemaduras solares en el área del MM. Esta variable tenía tres opciones: “ausencia de antecedentes”, “antecedentes de quemaduras solares leves en la zona” y “quemaduras solares intensas en la zona”. Para el estudio de los factores asociados al primer MSN se categorizó en antecedentes de quemaduras en la zona vs. Ausencia de estos. La decisión de tomar este punto de corte se realizó en base a los resultados obtenidos en la metodología del CART.

Para el estudio de los factores asociados al segundo MSN también se realizó la metodología CART, pero no se obtuvo ningún punto de corte. Es por esto por lo que se mantuvo la misma categorización que el primer MSN.

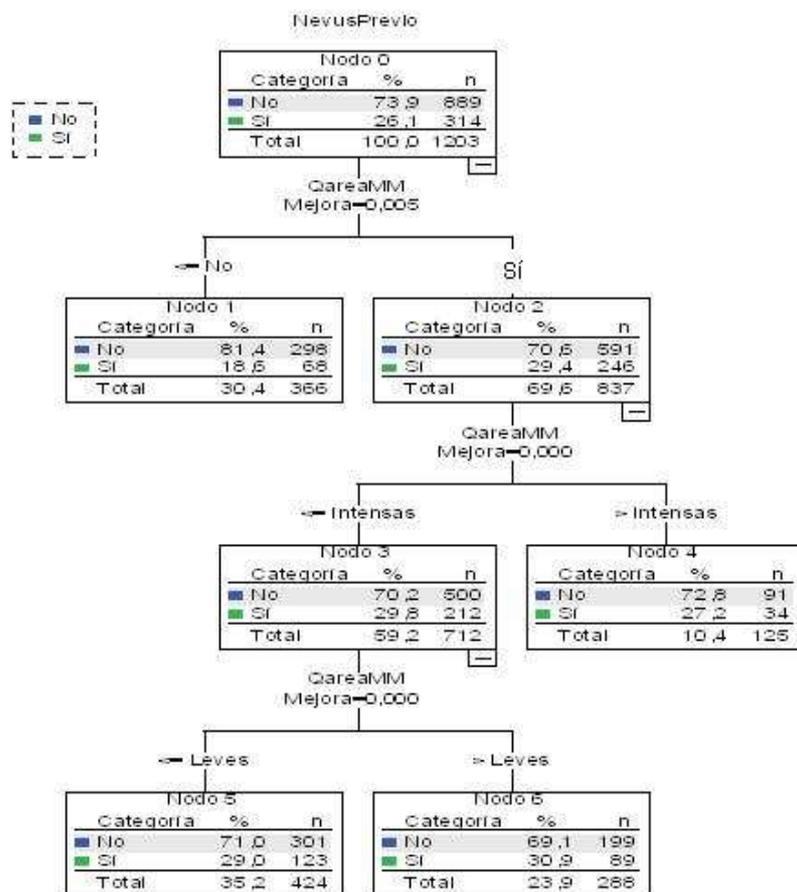


Figura 9: Árbol de decisiones para los antecedentes de quemaduras en el área del MM y el primer MSN

5.1.2.9. Antecedentes personales de exposición solar laboral.

En el IVO se recogieron los antecedentes de años de exposición solar laboral. Este dato se recogió de manera cuantitativa. Tras analizar el conjunto de años con la metodología CART y ver que en el primer nivel se encontraban 16 años o menos de exposición solar laboral frente a más de 16, se decidió tomar como punto de corte redondeado los antecedentes de 15 ó menos años de exposición solar laboral frente a más de 15 años de exposición solar laboral.

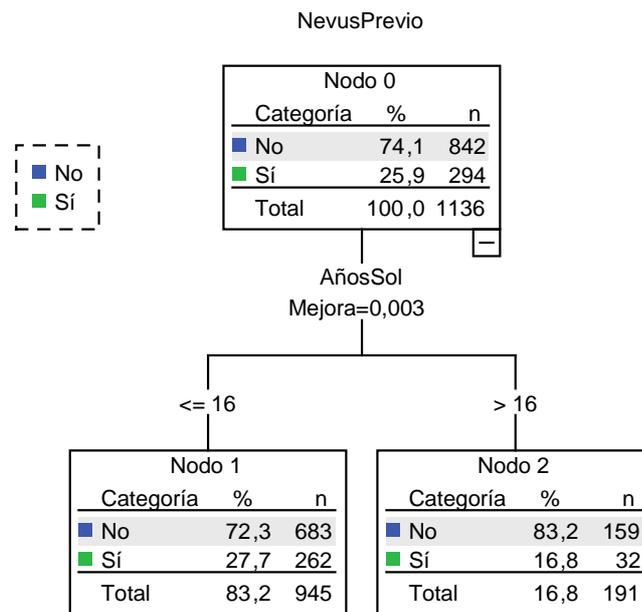


Figura 10: Árbol de decisiones para los años de exposición solar laboral y la presencia de un primer MSN

Para el estudio de los factores asociados al segundo MSN también se realizó la metodología CART para categorizar esta variable. La metodología CART no encontró ningún punto crítico. Al ser esta variable al igual que la edad una variable cuantitativa, se decidió seleccionar la mediana de años de exposición solar laboral de los segundos MM como punto de corte de la categorización. La mediana de años fue 0, por lo que se categorizó en ningún año de fotoexposición laboral crónica vs. ≥ 1 año de exposición solar laboral.

5.1.2.10 Antecedentes de uso de rayos UVA artificiales.

En el IVO se recogieron los datos de antecedentes del uso de rayos UVA artificiales. Para el estudio analítico se clasificaron en Sí vs. No.

5.1.2.11 Antecedentes de queratosis actínicas.

En el IVO se recogieron los antecedentes de la historia clínica de haber presentado con anterioridad queratosis actínicas valoradas y/o tratadas por un dermatólogo del servicio. Para el estudio de regresión logística se categorizó en Sí vs. No.

5.1.2.12 Antecedentes familiares de melanoma.

En las dos poblaciones a estudio se recogieron los antecedentes familiares de MM. En la población del IVO se incluyó en esta variable a todo aquel paciente con antecedente de al menos un familiar de primer o segundo grado diagnosticado de MM. Para considerar este diagnóstico de antecedente familiar como válido se exigió que el paciente aportara un informe anatomopatológico o clínico con el diagnóstico de su familiar.

En el Hospital Germans Trias i Pujol también se incluyó en la variable de antecedente familiar a todo aquel paciente con antecedentes de al menos un familiar únicamente de primer grado diagnosticado de MM. Este diagnóstico se basó en la comunicación oral por parte del paciente y en algunos casos en la aportación de informes clínicos y anatomopatológicos.

5.1.2.13. Antecedentes familiares de cáncer de páncreas.

En la población del IVO se recogieron los antecedentes de presencia de familiares de primer y/o segundo grado diagnosticados de cáncer de páncreas. Al igual que para el caso de los antecedentes familiares de MM, para el cáncer de páncreas también se exigió que el paciente aportara un informe clínico o anatomopatológico con el diagnóstico de su familiar.

5.1.2.14. Localización del melanoma.

El estudio descriptivo de la localización del primer y del segundo MSN y MDN se realizó de tres formas distintas en el IVO y dos formas en el Hospital Germans Trias i Pujol. La primera forma se basó en las 5 localizaciones clásicamente empleadas en la gran mayoría de estudios epidemiológicos. La segunda se basó en la localización de la zona específica del MM (según la región anatómica específica). La última forma, realizada únicamente en el IVO, se basó en agrupación de regiones según la localización del MM descrita por el dermatólogo en la exploración física y el grado de exposición solar que haya tenido esa zona de acuerdo a la anamnesis realizada al paciente.

Localizaciones clásicas:

En ambas poblaciones se recogió el dato de la localización del MM en un modelo simple de localización en cinco zonas corporales: cabeza y cuello, tronco, EESS, EEII, manos y pies. Se realizó un estudio descriptivo de la frecuencia de primer y segundo MSN y MDN de acuerdo a esta clasificación en las dos poblaciones por separado.

Para el estudio analítico de regresión logística de los factores asociados al primer MSN se comparó cada localización de manera aislada frente al resto: cabeza/ cuello frente al resto, tronco frente al resto, extremidades superiores frente al resto etc.

Dado el reducido número de casos de pacientes diagnosticados de un segundo MM, se realizó la metodología CART con la variable localización para comprobar si alguna localización de las 5 posibles era un buen punto de corte frente al resto. Tras la realización de este modelo, no se obtuvo ninguna como punto crítico discriminatorio, por lo que se incluyeron en el análisis aquellas localizaciones que mostraron una frecuencia más elevada en el estudio descriptivo de la población afectada de más de un melanoma cutáneo.

Localizaciones específicas:

En la población del IVO se recogió la localización exacta del MM en un modelo de 16 zonas anatómicas: cuero cabelludo, cara, cuello y región auricular, tórax, abdomen y pubis, hombros, brazos, antebrazos, muslos, piernas, nalgas, pies, manos, dedos, zona escapular y línea media de la espalda.

En el Hospital Germans Trias i Pujol se recogió la localización específica en un modelo de 11 zonas anatómicas: cara (incluyendo cuero cabelludo y cara), cuello y región auricular, tronco anterior, tronco posterior, brazo, antebrazo, muslos, piernas, manos y pies.

En estos modelos anatómicos de zonas específicas de cada población se estudió la frecuencia del primer MSN y de MDN de dos maneras diferentes. Por una parte se estudió en el conjunto de todos los MSN y de MDN qué porcentaje correspondía a cada zona anatómica, y por otra de cada zona corporal qué porcentaje era MSN y qué porcentaje era MDN.

Esta clasificación de localización específica no se incluyó en el estudio analítico del primer y del segundo MSN.

Localización según exposición solar

Puesto que en la base de datos del IVO se tenía el dato de si el MM se encontraba en zona de fotoexposición intermitente, crónica o nunca fotoexpuesta de acuerdo a la anamnesis del paciente (tipo de ropa que suele llevar, si suele exponer esa zona en cuestión de forma crónica o intermitente al sol), así como la localización específica de cada MM, se reagruparon las localizaciones anatómicas atendiendo a un nuevo modelo nunca antes empleado en la literatura contrastada.

Para generar este modelo se consideraron por una parte las zonas corporales de exposición solar crónica, por otra parte las zonas que nunca están fotoexpuestas, y por último tres grados intermedios de fotoexposición intermitente:

- Zona 1: La zona con la exposición solar más crónica en nuestra población mediterránea: cara, cuero cabelludo en pacientes calvos, cuello, dorso de manos y antebrazos.
- Zona 2: Zona de exposición solar intermitente intensa, que frecuentemente se ve sometida a la quemadura solar: brazos, deltoides, supraescapular, escapular, tórax y mamas en mujeres que exponen esta región anatómica al sol.
- Zona 3: Zona de exposición solar intermitente moderada que ocasionalmente sufre quemadura solar: Abdomen, línea media de la espalda, piernas y dorso del pie.
- Zona 4: Zona de exposición solar intermitente leve, que muy raramente sufre quemadura solar: Muslos.

- Zona 5: Zona no expuesta al sol: cuero cabelludo en pacientes con pelo, nalgas, zonas del pubis, mamas en mujeres que no exponen esta región al sol, palmas y plantas.

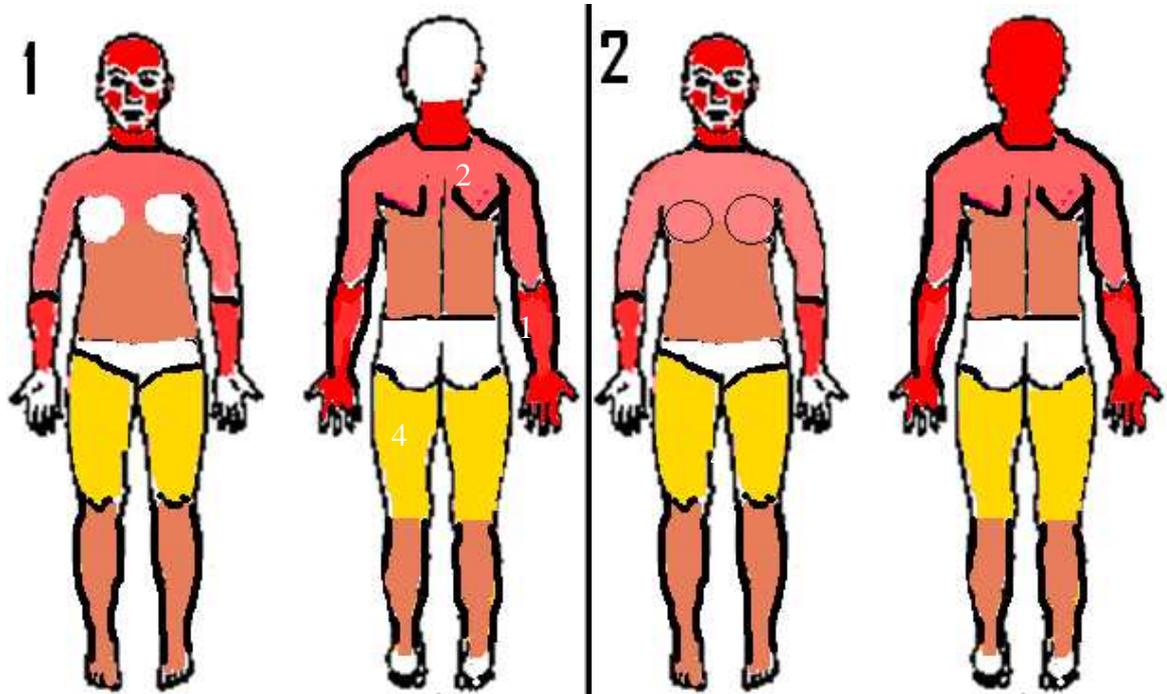


Figura 11: Nueva clasificación de acuerdo a la localización del MM y la fotoexposición de esa zona según la anamnesis del paciente. 1) En pacientes con pelo el cuero cabelludo se clasifica como zona no fotoexpuesta al igual que las mamas en las mujeres que no exponen esta zona al sol. 2) En pacientes calvos el cuero cabelludo se clasifica como zona de exposición solar crónica y en mujeres que exponen la zona mamaria al sol en periodo estival esta se clasifica como zona de exposición solar intermitente intensa.

Puesto que no son el objetivo de este estudio y son criterios de exclusión del mismo se consideraron como perdidos por el sistema los casos de MM mucosos, de origen primario desconocido y de coroides.

De las tres formas de clasificar la localización, para la generación del modelo multivariado y del árbol de decisiones de los factores asociados al primer y segundo MSN, se seleccionó la clasificación cuyas variables presentaban un mayor valor del test de Wald y por tanto una mayor capacidad predictiva (ANEXO V)

5.1.3. Variables anatomopatológicas

5.1.3.1. Restos de nevo melanocítico en el estudio histológico del MM.

En el presente trabajo de tesis con el fin de aportar datos objetivos, y aún con el riesgo de infradiagnosticar los MSN, a diferencia de otros autores que sí contemplan los

antecedentes de lesión melanocítica previa contada por el paciente se decidió considerar como MSN en las dos poblaciones únicamente a aquellos casos en los que se encontrasen restos de lesión melanocítica en el estudio histopatológico. El dato del tipo histológico de nevo asociado al MM fue recogido en la población del IVO, no en el hospital Germans Trias i Pujol [91, 93, 104, 122].

5.1.3.2. Subtipo histológico de MM.

En las dos poblaciones se recogieron en las bases de datos el subtipo histológico de MM. Se clasificaron en lentigo maligno melanoma (LMM), melanoma de extensión superficial (MES), melanoma nodular (MN), melanoma lentiginoso acral (MLA), melanoma mucoso, melanoma de origen primario desconocido, melanoma de coroides y otros melanomas (melanoma amelanótico, melanoma desmoplásico, otros). Para el estudio de los factores asociados a la presencia de un primer MSN y puesto que eran criterios de exclusión, se consideraron como perdidos por el sistema los melanomas mucosos, coroides y de origen primario desconocido. Con el fin de conseguir unas bases de datos lo más homogéneas posibles y evitar la introducción de melanomas que cumplieran los criterios de exclusión dentro del grupo considerado como “otros melanomas”, esta categoría también fue considerada como perdida por el sistema. De esta manera, para este estudio en particular de los factores asociados al primer y segundo MSN y al igual que lo realizado en la mayoría de las publicaciones revisadas, se seleccionaron únicamente los subtipos histológicos de LMM, MN, MLA y MES.

Para el estudio de regresión logística se generó una variable para cada subtipo histológico frente al resto de subtipos, por ejemplo MES *vs.* Resto de subtipos, MN *vs.* Resto de subtipos etc.

Para el estudio de los factores asociados al segundo MSN, se realizó la metodología CART con la variable “subtipo histológico” que incluía a todos los subtipos. No se encontró ningún subtipo que fuera punto crítico frente al resto, por lo que debido al reducido número de casos de pacientes con más de un MM se seleccionaron para este estudio analítico los subtipos más frecuentes en el estudio descriptivo.

5.1.3.3. Índice de Breslow.

Tanto en la población del IVO como en la población del hospital Germans Trias i Pujol se recogió el valor cuantitativo del índice de Breslow. Este índice se recogió por ser uno de los principales factores pronósticos del MM y porque en múltiples estudios del MSN se hace referencia a su importancia en el porcentaje de MSN ó MDN [106]

Al igual que en estudios previos el índice de Breslow se categorizó en ≤ 1 mm, de 1,01 a 4,00 mm, y $\geq 4,01$ mm [60].

5.1.3.4. Mitosis por mm².

En el IVO se pudo recoger este dato de la historia clínica de un total de 982 pacientes. En el resto de casos no se pudo saber el número de mitosis por mm² bien porque no se especificaba en el informe anatomopatológico, bien porque no se había obtenido. Una vez introducidos los datos disponibles en la base de datos de MM, se volvió a hacer la metodología CART para saber qué número de mitosis era el punto crítico que mejor predecía la presencia del primer MSN. Se encontró en el primer nodo del árbol de decisiones la presencia de 4 ó menos mitosis frente a más de 4 mitosis por milímetro cuadrado.

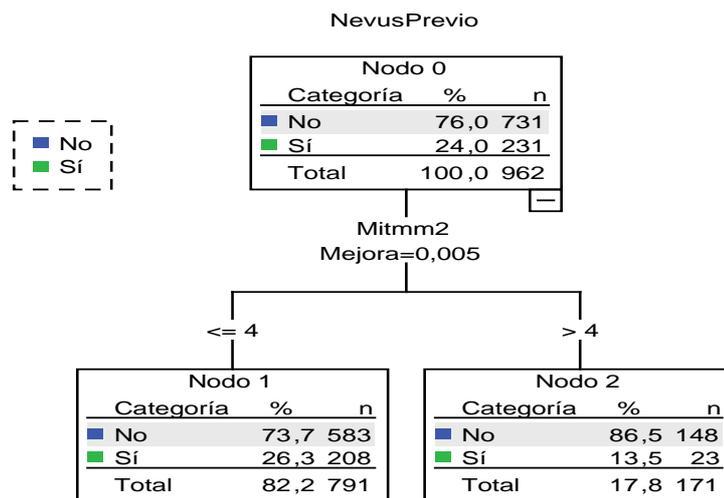


Figura 12: Árbol de decisiones del número de mitosis por mm² para la presencia de un primer MSN.

Para el estudio analítico de los factores asociados a la presencia de un segundo MSN también se siguió la metodología CART para volver a estudiar la variable de “número de

mitosis por mm^2 ” y establecer cual podría ser el punto crítico que mejor discriminase el segundo MSN frente al segundo MDN.

El árbol de decisiones no mostró ningún punto crítico para la presencia de un segundo MSN. Al ser una variable cuantitativa, para su categorización se escogió el valor de la mediana del número de mitosis por mm^2 para el segundo MM. Esta mediana fue de 1, por lo que para el estudio de los factores asociados al segundo MSN se categorizó en ausencia de mitosis por mm^2 vs. Presencia de mitosis por mm^2

5.1.3.5. Ulceración microscópica

En el IVO se recogió el dato de la presencia frente a la ausencia de la ulceración histológica. Se definió ulceración histológica como la pérdida completa de la epidermis en ausencia de trauma o de un procedimiento quirúrgico reciente [123]. Tanto para el estudio del primer MSN como del segundo MSN, se categorizó en Sí vs. No

5.1.4. Variables genéticas

Las variables genéticas fueron estudiadas únicamente en la población del IVO. Las muestras utilizadas para estos estudios genéticos (germinales o somáticas) fueron obtenidas del Biobanco del IVO.

En el momento del inicio de este trabajo se contó con las muestras genéticas de aproximadamente el 40% de los pacientes diagnosticados de MM. Los restantes casos no fueron incluidos en el estudio bien por carecer de la técnica en el momento del diagnóstico y tratamiento del MM bien por no tener el consentimiento informado.

Se realizó la búsqueda de la mutación más frecuentemente encontrada en el gen BRAF (V600E), de las variantes de MC1R y de los SNPs asociados a nevogenicidad:

- Con respecto al BRAF, se realizó el estudio descriptivo de la frecuencia de casos mutados y no mutados en los pacientes con diagnóstico de un primer y de un segundo MSN o MDN. En un segundo paso se analizó por regresión logística si la presencia de la mutación era factor asociado al primer MSN frente a la ausencia de la misma. Al ser tan pocos los casos de segundos melanomas en los que se pudo estudiar la presencia/ ausencia de esta mutación, esta variable no se incluyó en el estudio de regresión logística de los factores asociados al segundo MSN.

- Con respecto a las variantes del gen MC1R, se realizó el estudio descriptivo tanto del número de variantes que presentaban los pacientes como de la frecuencia de cada una de ellas en homocigosis, heterocigosis o forma consenso para el primer y para el segundo MSN/MDN. También se generó una variable comparativa de tener al menos una variante RHC frente a tener al menos una variante no-RHC.

- Como variantes RHC se seleccionaron la R160 W y D294H (asociadas a piel clara y pelirrojo), D84E, R142H y R151C (asociadas solo a pelirrojos) [16].

- Como variantes no-RHC se estudiaron la V60L, la V92M, la I155T, V156L y R163Q.

Para el estudio analítico de los factores asociados al primer MSN, se estudiaron todas las combinaciones posibles para ver cuál era la que podría mostrar una mejor asociación estadística.

Para el estudio analítico de los factores genéticos asociados al segundo MSN, debido al reducido número de casos se analizó únicamente la variable comparativa de tener al menos una variante RHC frente a tener al menos una variante no-RHC.

- Para el estudio de los polimorfismos nevogénicos, se seleccionaron los polimorfismos mencionados en la literatura contrastada, la mayor parte de los cuales se localizan en los cromosomas 21 y 22 próximos al gen CDKN2A y al del INF4, estos fueron:

1. **rs10757257**, localización cromosómica 21796564, implica un cambio G>A, localización genética en el intrón 1 del gen MTAP

2. **rs7023329**, localización cromosómica 21806528, implica un cambio A>G, localización genética en el intrón 2 del gen MTAP.

3. **rs1011970**, localización cromosómica 22052134, implica un cambio G>T, localización genética en el intrón 9 del ANRIL.

4. **rs2284063**, implica un cambio de A>G localizado en el gen de la fosfolipasa A2

Para el estudio de estos polimorfismos asociados a nevogeneidad, al igual que se realizó con las variantes de MC1R, se realizó inicialmente el estudio descriptivo de la frecuencia de cada uno en cada forma (consenso, homocigosis o heterocigosis) en la población afecta

de un primer y de un segundo MSN o MDN. En un segundo paso y mediante regresión logística, se estudiaron todas las posibilidades para el análisis de los factores asociados al primer MSN. De la misma forma que sucedió en el análisis de las variantes del gen MC1R, dado el reducido número de casos de pacientes diagnosticados de un segundo MSN, para el estudio analítico de los polimorfismos aislados de nucleótidos asociados a neovogénicidad, se seleccionó el polimorfismo que mostró una mayor diferencia de frecuencia entre las formas consenso y no consenso.

Todos los datos fueron analizados estadísticamente con el programa SPSS versión 15. Para considerar la existencia de una significación estadística se exigió un valor de $p < 0,05$.

6. Resultados

*Factores clínicos, epidemiológicos, anatomopatológicos y genéticos
asociados al melanoma sobre nevo*

6.1. Estudio descriptivo de las dos poblaciones afectas de un primer melanoma de novo y melanoma sobre nevo

La base de datos del IVO recogía un total de 1432 pacientes. De estos cumplieron el criterio de inclusión 1374. Se excluyeron 32 casos por ser melanomas de origen primario desconocido y 26 casos por ser melanomas de otras localizaciones.

La base de datos del Hospital Germans Trias i Pujol comprendía un total de 1370 casos. De éstos, cumplieron el criterio de inclusión 1340 casos. Se excluyeron 12 casos por ser melanomas de origen primario desconocido y 18 por ser melanomas de otras localizaciones.

6.1.1. Variables demográficas

6.1.1.1. Edad y sexo

La población del IVO incluía 691 mujeres (50,3%) y 683 hombres (49,7%).

La población del Hospital Germans Trias i Pujol estaba constituida por 760 mujeres (56,8 %) y de 578 hombres (43,2%). En esta última base de datos se careció del dato del sexo en dos casos.

200 pacientes del Hospital Germans Trias i Pujol (14,9% de los casos) y 313 pacientes del IVO (26,2%) desarrollaron un primer MSN. No hubo diferencias significativas de edad entre las poblaciones de ambos centros. Destacó una mayor frecuencia de edad más joven en los pacientes afectos de MSN en las dos poblaciones frente a los pacientes afectos de MDN (6 años de media más joven en el IVO y 4 años de media más joven en el Hospital Germans Trias i Pujol) (**Tabla 6**). Al unir las dos bases de datos (2714 casos) y categorizar la edad en dos grupos según lo obtenido tras la metodología CART (menor o igual a 50 años frente a mayor de 50 años), se obtuvo que en el grupo de MSN predominaban muy ligeramente los pacientes edad igual o menor a 50 años (257 pacientes, un 50,3%) frente a los mayores de 50 años (254 pacientes, 49,7%) y en el grupo de MDN predominaba claramente la edad superior a 50 años (1276 pacientes, 63,1%) frente a los de edad igual o menor a 50 años (747 pacientes, 36,9%)

		Edad			
		Media	Mediana	Mínimo	Máximo
MSN	IVO	50,63 (± 15,931)	50	15	88
	Germans Trias i Pujol	52,05 (± 16,908)	52,32	20	93
MDN	IVO	56,76 (± 16,715)	58	6	96
	Germans Trias i Pujol	56,22 (± 17,207)	57,12	15	96

Tabla 6: Distribución de edad en los pacientes con MSN y MDN en las dos poblaciones. Entre paréntesis la desviación estándar

		Sexo			
		Masculino		Femenino	
		N	%	N	%
MSN	IVO	155	49,5	158	50,5
	Germans Trias i Pujol	85	42,5	114	57
MDN	IVO	429	48,7	452	51,3
	Germans Trias i Pujol	493	43,3	646	56,7

Tabla 7: Distribución de los pacientes según el sexo en el grupo de MSN y de MDN de las dos poblaciones.

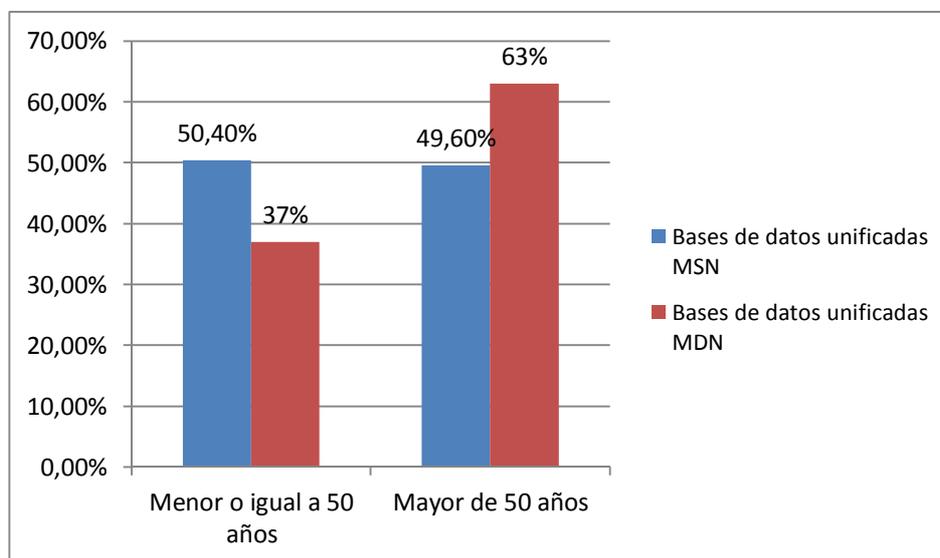


Figura 13: Distribución de los pacientes de acuerdo a la edad del diagnóstico en la base de datos conjunta

6.1.2. Variables clínicas

6.1.2.1. Número de nevos corporales

La distribución de los pacientes según el número de nevos corporales se puede observar en la **tabla 8**. Este dato se recogió en los 1340 pacientes de la población del Hospital Germans Trias i Pujol y en 1214 casos del IVO. En este último hospital no se recogió el dato en 160 pacientes. En el análisis por grupos esta pérdida supuso un 4,5 % del grupo de MSN y un 4,2% del grupo de MDN. En ambas poblaciones y en ambos grupos (MSN/MDN) predominó el fenotipo con menos de 50 nevos frente al de más de 50 nevos.

		≥50 nevos comunes		< 50 nevos comunes	
		N	%	N	%
MSN	IVO	24	7,6	290	92,4
	Germans Trias i Pujol	29	14,5	171	85,5
MDN	IVO	98	11,1	699	79,3
	Germans Trias i Pujol	132	11,6	1008	88,4

Tabla 8: Distribución de los pacientes según el fenotipo nevogénico en 50 ó más nevos frente a menos de 50 nevos

En el caso del IVO, también se recogió el dato del número de nevos en menor o igual a 20 frente a mayor de 20. Se pudo analizar este dato en un total de 1214 pacientes. Se careció de este dato en 160 pacientes, los cuales se distribuyeron en un 7,3% de los casos perdidos en MSN y en un 9,5% de los casos perdidos pertenecientes al grupo de MDN. En ambos grupos predominó el fenotipo de menos de 20 nevos, pero en el grupo de MSN la frecuencia del fenotipo de 20 ó más nevos ascendió del 26,1% del MDN al 39,7%.

IVO	≥20 nevos comunes		< 20 nevos comunes	
	N	%	N	%
MSN	115	39,7	175	60,3
MDN	209	26,2	588	73,8

Tabla 9: Distribución de los pacientes según el fenotipo nevogénico en ≥ 20 nevos vs. < 20 en la población del IVO

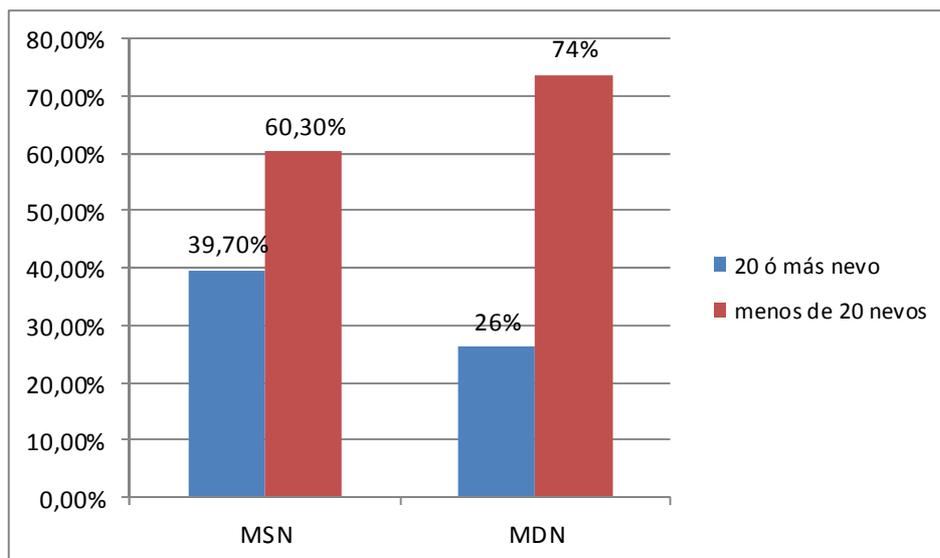


Figura 14: Distribución de la población del IVO según el fenotipo de ≥ 20 nevos vs. < 20 nevos en los dos grupos.

Al unificar las bases de datos del IVO con el Hospital Germans Trias i Pujol se observó un predominio del fenotipo de menos de 50 nevos en los dos grupos (MSN/MDN). Destacó que en el grupo de MSN la frecuencia del fenotipo de 50 ó más nevos fue algo mayor que la del grupo del MDN (**Figura 15**)

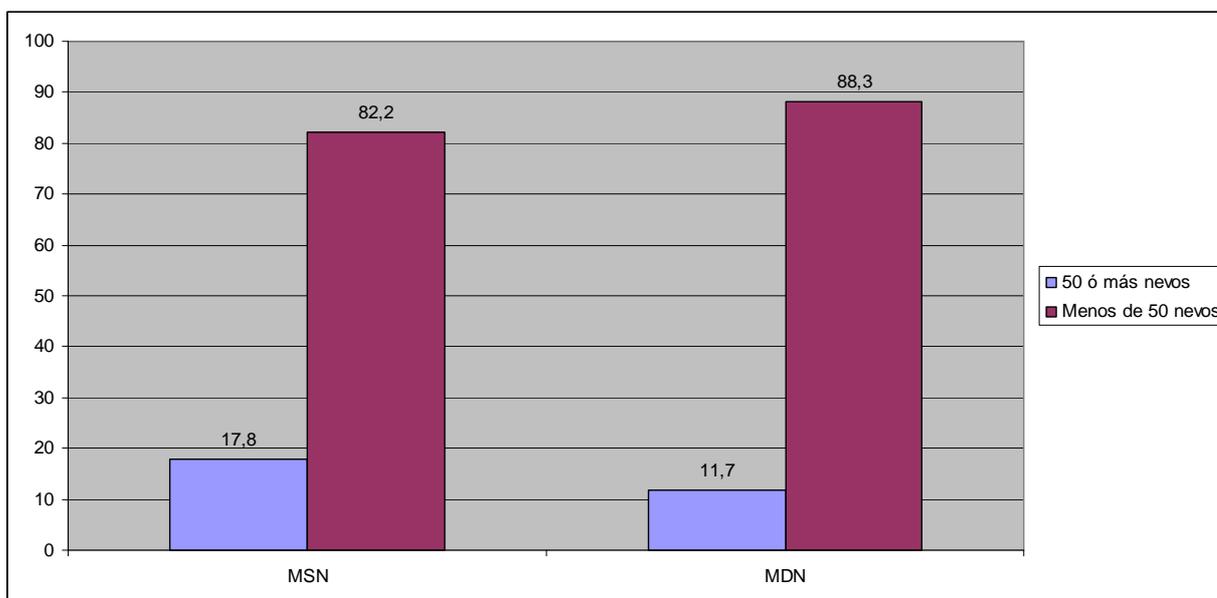


Figura 15: Distribución del fenotipo nevogénico (≥ 50 nevos melanocíticos vs. < 50) en el grupo de MSN y de MDN en la base de datos conjunta

6.1.2.2. Nevos melanocíticos clínicamente atípicos.

En la población del IVO se recogió en la exploración física la presencia o no de algún nevo clínicamente atípico en 1299 casos. Este dato no se encontró en 75 pacientes. La distribución de estas pérdidas fue de un 4,1% del grupo de MDN y un 2,9% del grupo de MSN.

Se pudo observar como en los dos grupos predominó la ausencia del nevo atípico, pero en el grupo de pacientes con MSN la frecuencia fue de un 30,6% frente al 17,6% de los casos de MDN.

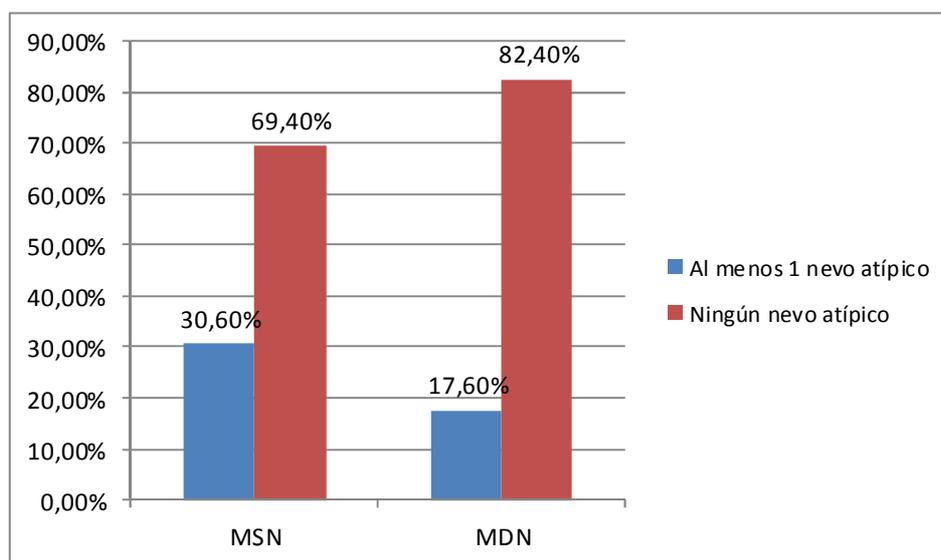


Figura 16: Distribución de los pacientes según el fenotipo de al menos un nevo clínicamente atípico en la población del IVO en los casos de MSN y MDN

6.1.2.3. Color de ojos y pelo

En el IVO se recogió el color de pelo en 1330 pacientes y el color de ojos en 1266 pacientes. Se careció del dato en 44 pacientes. La distribución de las pérdidas fue de un 22% de los casos para el color de ojos y un 3% de los casos para el color de pelo en los casos de MSN, y un 6,4% para el color de ojos y un 2,5% para el color de pelo en los grupos de MDN.

Tanto en el grupo de los pacientes con MSN como en el grupo de los pacientes con MDN se encontró una mayor frecuencia de color de ojos oscuros y de pelo oscuro. No se registró ningún paciente pelirrojo.

IVO	Color de ojos				Color de pelo			
	Verdes/azules		Marrones/negros		Rubio/cast claro		Cast oscuro/Moreno	
	N	%	N	%	N	%	N	%
MSN	104	35,7	187	64,3	19	6,1	291	93,9
MDN	346	41,6	485	58,4	31	3,6	833	96,4

Tabla 10: Frecuencia de color de ojos y pelo en los dos grupos (MSN/ MDN) en la población del IVO

6.1.2.4. Fototipo

En la población del Hospital Germans Trias i Pujol se recogió el dato del fototipo en 1321 pacientes. En 19 pacientes se careció del dato. En el grupo de MDN se careció del dato en un 1,5% de los pacientes y en el grupo del MSN se careció del dato en un 1% de los pacientes.

En los dos grupos (MSN y MDN) el fototipo que se encontró con más frecuencia fue el fototipo III.

H. Germans Trias i Pujol	Fototipo I		Fototipo II		Fototipo III		Fototipo IV		Fototipo V	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
MSN	13	1,1	316	27,7	545	47,8	148	13,2	101	9
MDN	1	0,5	65	32,8	106	53,5	19	9,6	7	3,5

Tabla 11: Frecuencia de fototipos en los dos grupos (MSN/ MDN) del Hospital Germans Trias i Pujol

6.1.2.5. Lentigos solares y efélides

En la población del IVO se pudo obtener el dato de la presencia de efélides en 1028 pacientes y de la presencia de lentigos solares en 998 pacientes. No se recogieron estos datos de efélides y lentigos solares en 346 y 376 pacientes respectivamente.

En el grupo de MDN las pérdidas de datos supusieron un 20,7% del total para la variable de efélides y un 22,7% del total para la variable de lentigos.

En el grupo de MSN las pérdidas de datos supusieron un 20,8% del total para la variable de efélides y de un 22,4% del total para la variable de lentigos.

En los dos grupos a estudio se encontró una frecuencia algo superior de los pacientes sin efélides y con escasos o ningún lentigo solar

IVO	Presencia de efélides				Presencia de lentigos			
	Sí		No		Abundantes		Escasos/ ninguno	
	N	%	N	%	N	%	N	%
MSN	93	37,5	155	62,5	116	47,7	127	52,3
MDN	223	31,7	480	68,3	127	52,3	366	53,6

Tabla 12: Frecuencia de efélides y lentigos solares en los dos grupos (MSN/MDN) en el IVO

6.1.2.6. Quemaduras solares intensas y quemaduras en el área del melanoma.

En el IVO se recogieron los datos de antecedentes de quemaduras solares intensas en un total de 1315 pacientes y de quemaduras solares en el área del MM en 1202 pacientes.

No se recogieron los datos de la variable quemaduras solares intensas en 59 casos y de la variable quemaduras solares en el área del MM en 172 casos. En el grupo de MSN las pérdidas en la variable de los antecedentes de quemaduras solares intensas supusieron un 2,6% de los pacientes y de quemaduras en el área del MM un 10,5% de los pacientes. En el grupo del MDN, las pérdidas del dato de la variable de quemaduras solares intensas supusieron un 3,1% del total, y las pérdidas de la variable de quemaduras en el área del MM supusieron un 9,8% del total.

En los dos grupos (MSN/MDN) se encontró una frecuencia ligeramente mayor de los pacientes que no tenían antecedentes de quemadura solar intensa. En el grupo restante de los pacientes con antecedentes de alguna quemadura solar se observó una mayor frecuencia de MSN que de MDN.

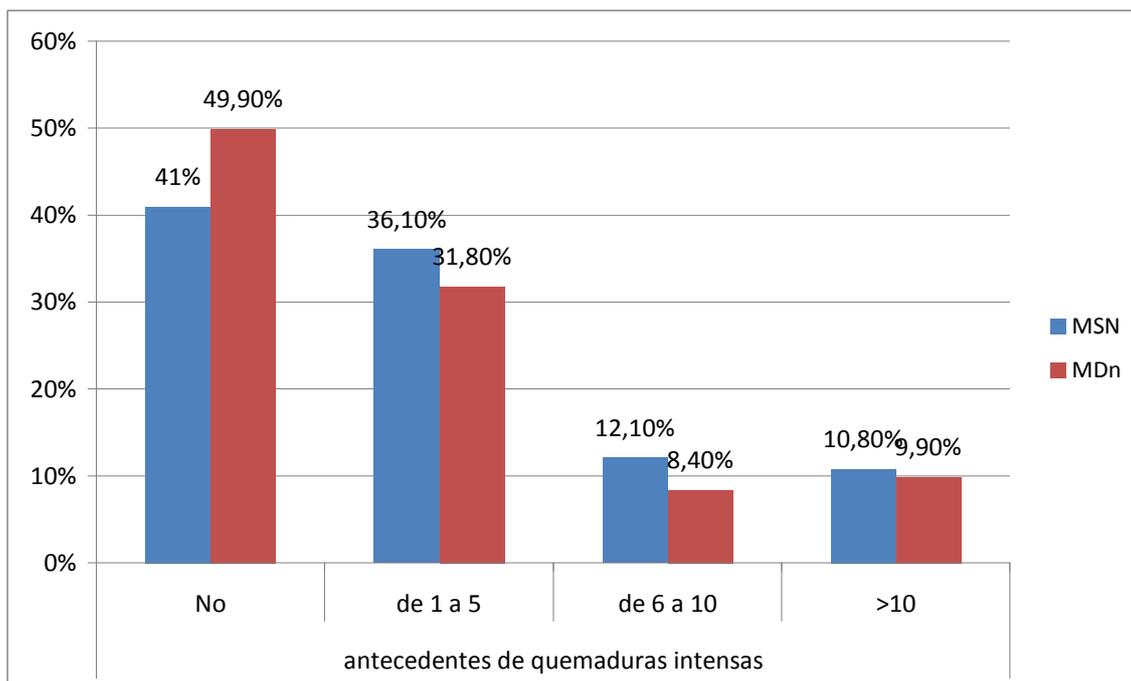


Figura 17: antecedentes de quemaduras solares intensas en los dos grupos (MSN/MDN) en el IVO

La gran mayoría de pacientes refería antecedentes de quemaduras solares en el área del MM (leves o graves). Al subdividir en los dos grupos (MSN/MDN) la frecuencia de antecedentes de cualquier tipo de quemadura en el área del MM fue mayor en el grupo del primer MSN (75,7%) que en el grupo del primer MDN (62,7%)

IVO	Quemaduras solares en el área del melanoma			
	No antecedentes		Sí antecedentes	
	N	%	N	%
MSN	68	24,3	212	75,7
MDN	298	37,3	500	62,7

Tabla 13: Distribución de las quemaduras en el área del MM en los dos grupos (MSN/ MDN) del IVO

6.1.2.7. Antecedentes del uso de rayos UVA artificiales.

En la población del IVO se recogió el dato del uso de rayos UVA en 1256 pacientes. No se pudo recoger este antecedente en 118 pacientes. Las pérdidas supusieron un 6,8% del total de los pacientes en el grupo del MDN y un 7% del total de los pacientes pertenecientes al grupo de MSN.

En los dos grupos se encontró una frecuencia similar de exposición a rayos UVA artificiales.

IVO	Uso de rayos UVA			
	Sí		No	
	N	%	N	%
MSN	40	13,7	251	86,3
MDN	91	11,1	730	88,9

Tabla 14: distribución de las frecuencias de rayos UVA artificial en MSN y MDN

6.1.2.8. Antecedentes de queratosis actínicas.

En 1224 pacientes del IVO se analizó el dato de los antecedentes personales de queratosis actínicas. No se pudo recoger el dato en 150 pacientes. Estas pérdidas supusieron un 6,7% del grupo de pacientes pertenecientes al MSN y un 8,9% del grupo de los pacientes pertenecientes al MDN.

En los dos grupos de población predominó la ausencia de antecedentes de queratosis actínicas.

IVO	Antecedentes de queratosis actínicas			
	Sí		No	
	N	%	N	%
MSN	31	10,6	281	89,4
MDN	124	15,4	679	84,6

Tabla 15: Distribución de las frecuencias de antecedentes personales de queratosis actínica en los dos grupos a estudio (MSN/ MDN) en la población del IVO

6.1.2.9. Antecedentes familiares de melanoma y de cáncer de páncreas.

El antecedente familiar de MM se recogió en 1338 casos del IVO y en 1099 casos del Hospital Germans Trias i Pujol. En el IVO se careció del dato en 36 casos y en el Hospital Germans Trias i Pujol en 241 casos, bien por desconocimiento del paciente de estos antecedentes (pacientes adoptados o pacientes sin contacto con familiares), bien por no aportar informe clínico o anatomopatológico de los mismos.

En los dos grupos (MSN y MDN) de las dos poblaciones predominó la ausencia de antecedentes familiares de MM. En el grupo poblacional del Hospital Germans Trias i Pujol se encontró una diferencia marcada de la frecuencia de antecedentes familiares entre el grupo de MSN y el de MDN. Los antecedentes familiares en esta población pasaron de un 7,2% en el grupo de MDN a un 12,1% en el grupo de MSN. En el grupo poblacional del IVO no se encontraron diferencias llamativas en la frecuencia de antecedentes familiares de MM en el grupo de MSN y de MDN.

		Antecedentes familiares de melanoma			
		Sí		No	
		N	%	N	%
MSN	IVO	18	5,90%	289	94,10%
	H. Germans Trias i Pujol	20	12,10%	141	87,90%
MDN	IVO	45	5,20%	826	94,80%
	H. Germans Trias i Pujol	69	7,20%	884	92,80%

Tabla 16: Antecedentes familiares de melanoma en las dos poblaciones a estudio

En 1325 pacientes del IVO se pudo recoger el dato de los antecedentes familiares de cáncer de páncreas. Se careció de este dato en 49 pacientes. Las pérdidas supusieron un 2,7% del grupo de MDN y un 2,6% del grupo del MSN.

Se encontró con más frecuencia en ambos grupos la ausencia de antecedentes familiares de cáncer de páncreas que la presencia de los mismos. Las frecuencias en los casos de MSN y de MDN fueron muy similares.

		Antecedentes familiares de cáncer de páncreas			
		Sí		No	
		N	%	N	%
MSN		13	4,30%	292	95,70%
MDN		21	2,40%	842	97,60%

Tabla 17: Distribución de las frecuencias de antecedentes familiares de cáncer de páncreas

6.1.2.10. Localización del melanoma

La localización del MM se recogió en todos los casos del IVO y del Hospital Germans Trias i Pujol.

Como se ha mencionado en el apartado correspondiente de material y métodos en las dos poblaciones se recogieron los datos en una clasificación clásica basada en 5 zonas: cabeza y cuello, EESS, tronco, EEII y manos y pies. Posteriormente se hizo un análisis en un modelo anatómico específico de 16 regiones corporales en la población del IVO y de 11 regiones corporales en la población del Hospital Germans Trias i Pujol. Finalmente, y dado que en el IVO se tenía el dato exacto de si la zona en concreto estaba fotoexpuesta o no de acuerdo a la anamnesis del paciente, se generó una nueva clasificación basada en la agrupación de zonas corporales de acuerdo a los hábitos de exposición solar del paciente y a la exploración física realizada por el dermatólogo.

1. Clasificación según 5 zonas corporales

La clasificación en las 5 zonas corporales mostró unas frecuencias muy semejantes en el grupo de MSN y de MDN en las dos poblaciones. En ambas poblaciones y en ambos grupos se observó que la localización más frecuente del MM cutáneo era el tronco y las menos frecuentes eran las manos y los pies.

Al analizar las frecuencias de acuerdo a si el MM era de novo o sobre nevo, la frecuencia de la localización en el tronco pasó de un 33,7-38,7% de los casos en el MDN a un 57,5-51,5% de los casos en el MSN. En el caso de la cabeza y el cuello la frecuencia pasó de un 21,3-18,9% en el caso del MDN a un 9,3-11% en el caso del MSN.

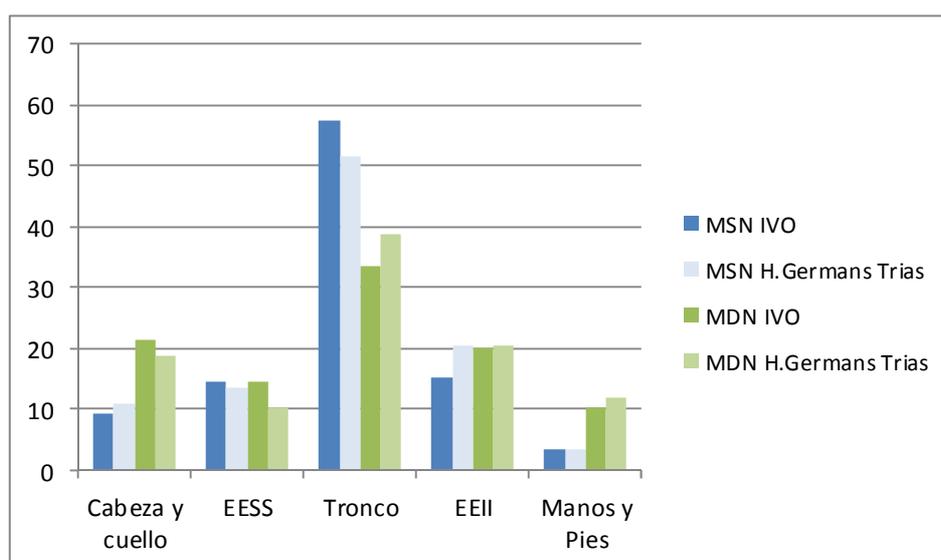


Figura 18: distribución del MM en las dos poblaciones según si era MSN o MDN

2. Clasificación según regiones anatómicas específicas

El análisis del modelo anatómico de 16 regiones corporales del IVO mostró los siguientes datos de frecuencias del MSN y del MDN:

- Al dividir el 100% de los MSN en las 16 zonas anatómicas descritas se observó que a exposición solar más crónica la frecuencia de MSN era menor, y a exposición solar más intermitente la frecuencia de MSN era mayor:
 - o La cara (zona clásica de exposición solar crónica) y el antebrazo presentaron una frecuencia de MSN muy similares, del 3,5% y 3,2% respectivamente.
 - o El brazo, que está muy expuesto al sol en estas zonas mediterráneas pero menos que el antebrazo y la cara, presentó una frecuencia del 6,4% de todos los MSN.
 - o El tórax y el escote mostraron una frecuencia de MSN del 7,3%,
 - o La zona escapular mostró una frecuencia de MSN del 10,90%
 - o La espalda, que es la zona clásica de exposición solar intermitente, mostró una frecuencia del 27,5% del total de los MSN.
 - o Las EEII obtuvieron una frecuencia algo mayor que las EESS (muslos: 5,10% y piernas un 9,9% de la frecuencia total de MSN), los brazos y pies (7,10% en ambos)
 - o La distribución de frecuencias en los casos de MDN fue mucho más repartida. La mayor frecuencia del total del grupo de MDN se obtuvo en la zona escapular (15,9% de los melanomas de novo), seguido de las piernas (12,9% de los melanomas de novo), la cara (11,6%) y los muslos (7,8%)

- Desde otro punto de vista se calculó para cada región corporal qué porcentaje suponía el MSN y el MDN, es decir, del 100% de una región anatómica qué porcentaje suponía el MSN y qué porcentaje suponía el MDN.
 - o La gran mayoría de melanomas fueron *de novo*, y por tanto para cada región corporal la frecuencia siempre fue mayor para el MDN.

- Se observaron fluctuaciones en las frecuencias del MSN. Estas frecuencias del MSN fueron menores en zonas de fotoexposición crónica (cara, cuello) y mayores en las de fotoexposición intermitente (espalda y escapular). El antebrazo presentó unas frecuencias más similares a la cara y al cuello que al brazo.
- En el cuero cabelludo se obtuvo una frecuencia de MSN mayor que en la cara pero menor que en los brazos. Esto se debe a que para esta clasificación en concreto, el dato del cuero cabelludo no se subdividió en si el paciente era calvo (fotoexposición crónica) o tenía pelo (sin fotoexposición).

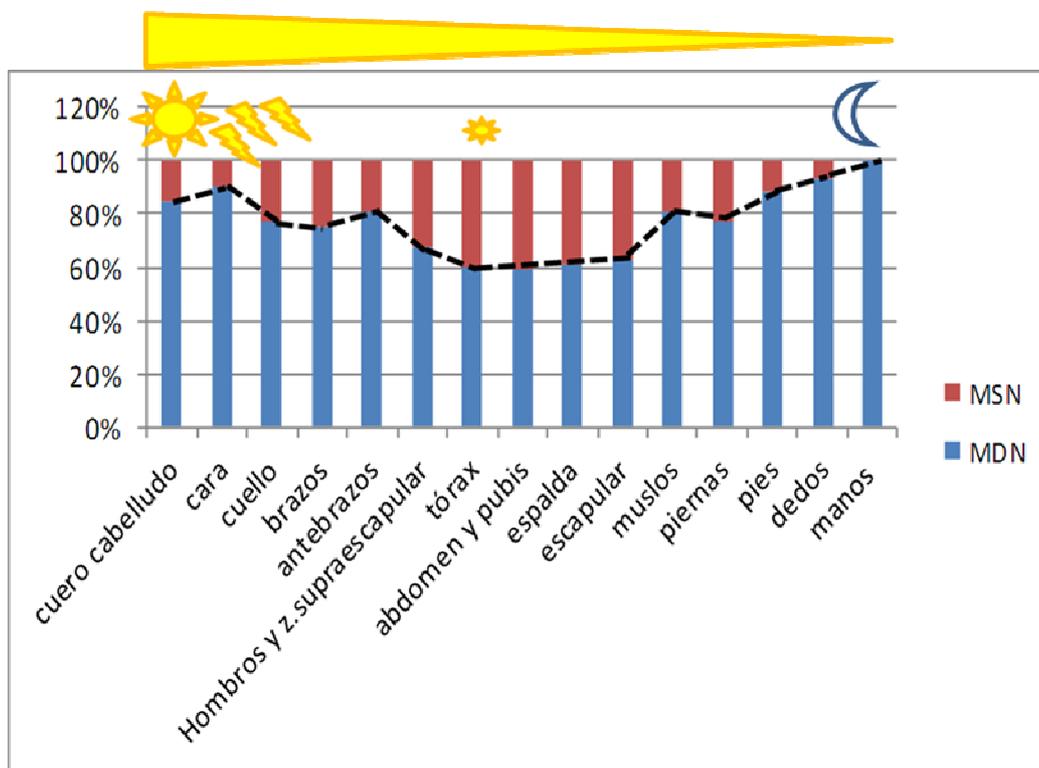


Figura 19: Distribución de MSN y MDN en cada región anatómica en la población del IVO. La figura del sol con rayos simboliza la fotoexposición crónica. El sol de pequeño tamaño sin rayos simboliza la fotoexposición intermitente. La luna simboliza la no exposición solar de palmas y plantas* (* Debe tenerse en cuenta que en esta última localización el dorso de pies y manos es de fotoexposición crónica en dorso de manos e intermitente en dorso de pies)

La distribución de las frecuencias del MSN y del MDN en el modelo anatómico de 11 localizaciones del Hospital Germans Trias i Pujol mostró que al igual que sucedía en la población del IVO se producía un aumento progresivo en la frecuencia de MSN a medida que la exposición solar era más intermitente. Esto se cumplió así excepto en la región codificada como “cara”, ya que en esta población englobando el término “cara” se

encontró en muchos casos la cara (exposición solar crónica) y el cuero cabelludo (poco expuesto en pacientes con pelo y fotoexpuesto de manera crónica en pacientes calvos).

Al realizar el análisis del porcentaje por área corporal en esta población, al igual que en la población del IVO, se observó un predominio del MDN en todas las áreas corporales. Con respecto al MSN, se produjeron unas fluctuaciones mucho más sutiles que en los datos de la población del IVO en su frecuencia.

- En la cabeza dado que no se diferenció entre cuero cabelludo y cara, se obtuvo una distribución de porcentajes muy similar a la del tórax anterior.
- Las zonas en donde se encontró un ascenso de la frecuencia del MSN fueron la espalda y el tórax anterior.
- La zona en donde se encontró una menor frecuencia de MSN fueron las nalgas.
- En los pies (dorso de fotoexposición intermitente y planta no fotoexpuesta) se obtuvo una frecuencia de MSN algo mayor que en las manos (dorso de fotoexposición crónica y palma no fotoexpuesta).

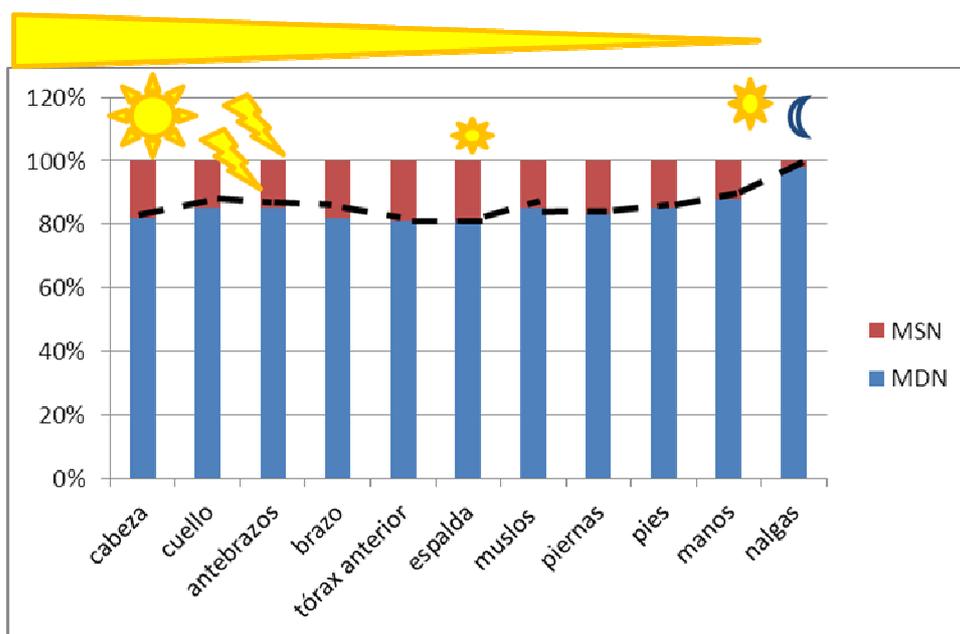


Figura 20: Distribución de MSN y MDN en cada región anatómica en la población del Hospital Germans Trias i Pujol. La figura del sol con rayos simboliza la fotoexposición crónica. El sol de pequeño tamaño sin rayos simboliza la exposición intermitente. La luna simboliza la no exposición solar de palmas y plantas* (* Debe tenerse en cuenta que en esta última localización el dorso de pies es fotoexposición intermitente y el dorso de manos es fotoexposición crónica)

3. Clasificación por agrupación de regiones según el patrón de exposición solar.

La clasificación por zonas agrupadas según el mismo patrón de fotoexposición de acuerdo a los datos de fotoexposición obtenidos de la exploración física realizada por el dermatólogo y de la anamnesis del paciente en la población del IVO, mostró las siguientes frecuencias de MSN y MDN:

- La zona 1 (fotoexposición crónica por excelencia) presentó una frecuencia de MSN de un 15,9%. Esta frecuencia se elevó al 22,4 % para los MDN.
- La zona 2 (fotoexposición intermitente intensa) presentó una frecuencia de MSN de un 31,7% y de MDN de 27,4.
- La zona 3 (fotoexposición intermitente moderada) presentó una frecuencia de MSN de un 39,8% y de MDN de 31,2%.
- La zona 4 (fotoexposición intermitente leve) mostró una frecuencia de MSN de un 6,8% y de MDN de un 7.3%.
- La zona 5 (no fotoexposición) mostró una frecuencia de un 15 % de MSN y de un 85% de MDN.

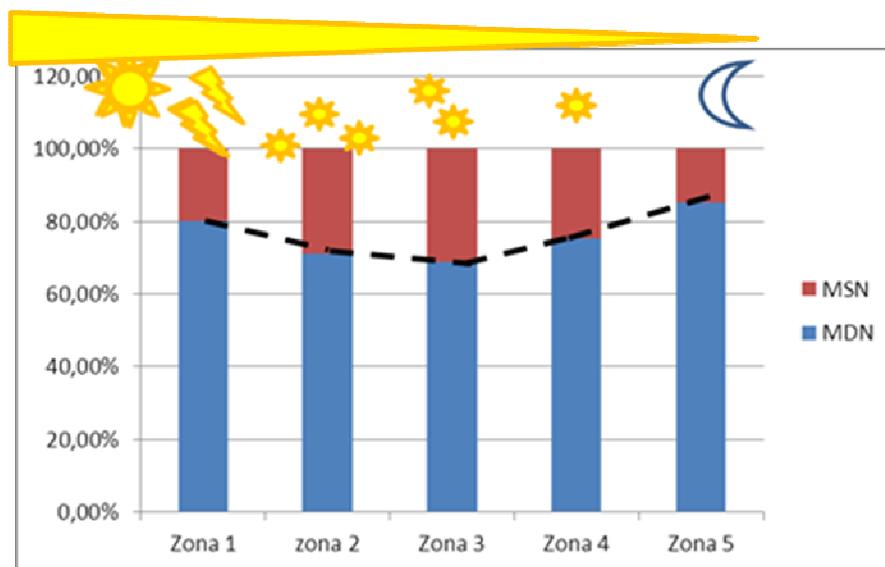


Figura 21: proporción de MSN y de MDN en cada zona generada según el tipo de fotoexposición en la población del Instituto Valenciano de Oncología. Zona 1: Sol y rayos Fotoexposición crónica, Zona 2: 3 soles: Fotoexposición intermitente intensa, zona 3: 2 soles: Fotoexposición intermitente moderada, Zona 4: 1 sol: Fotoexposición intermitente leve y Zona 5: 1 luna: No fotoexposición.

6.1.3. Variables anatomopatológicas.

6.1.3.1. Primer MSN VS MDN

Del total de la población del IVO, en un 73,8% de los casos se encontró un primer MDN. El 26,2% restante (314 casos) fueron MSN. Del total de la población del Hospital Germans Trias i Pujol un 85,1% de los casos fueron MDN. El 14,9% restante fueron NSN. Al unir las dos bases de datos, se obtuvo que un 20,2% de los MM cutáneos mostraban asociación histológica a un nevo melanocítico.

En la población del IVO se recogió el dato específico del tipo histológico de nevo asociado a MM. La gran mayoría se asociaron a nevos displásicos seguidos de nevos melanocíticos comunes. En 25 de los casos de MSN el melanoma se asoció a un nevo congénito. No se especificó en la recogida del dato el tamaño del nevo congénito.

		MSN (N= 314)
Tipo histológico de nevo asociado	Nevo displásico	156
	Nevo común	132
	Nevo congénito	25
	Nevo spilus	1

Tabla 18: Tipo histológico de nevo asociado al primer MM en la población del IVO

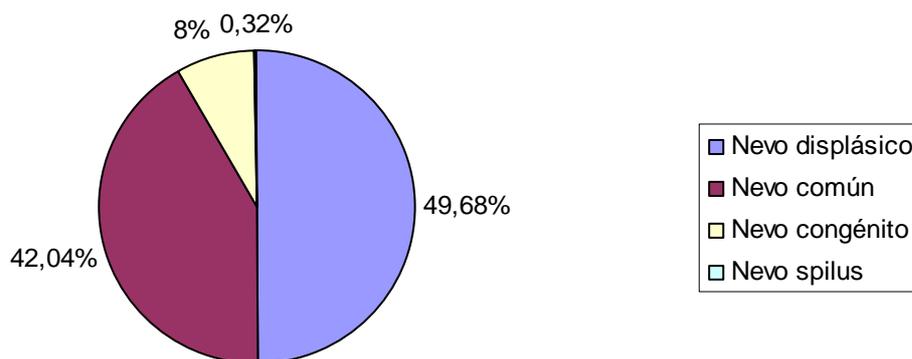


Figura 22: Distribución del tipo histológico de nevo asociado al primer MSN en el IVO

6.1.3.2. Subtipo Histológico

Del conjunto de pacientes del Hospital Germans Trias i Pujol se tuvo el dato exacto del subtipo histológico de MM en 1210 casos (90,3% del total). Se consideraron como perdidos por el sistema a 130 casos (9,7% del total). Estas pérdidas se debieron a estar estos melanomas clasificados como melanomas desmoplásicos (14 casos), melanomas inclasificables (37 casos), o no presentar ninguna clasificación en la base de datos (79 casos). Estas pérdidas supusieron un 20% del grupo de MSN y un 7,9% del grupo de MDN.

Del conjunto de pacientes del IVO se tuvo el dato del subtipo histológico de MM en 1293 casos. Tras depurar la base de datos y eliminar los casos considerados como “otros” (melanoma desmoplásico, melanoma inclasificable, melanoma mucoso y primario desconocido) se consideraron perdidos por el sistema 81 casos (5,9% del total). Estas pérdidas supusieron un 6,2% de los casos de MDN y un 1,9% de los MSN.

		Subtipo histológico							
		LMM		MES		MN		MLA	
		N	%	N	%	N	%	N	%
MSN	IVO	4	1,3	261	85	39	12,7	3	1
	H. Germans Trias i Pujol	6	3,8	126	78,8	26	16,3	2	1,3
MDN	IVO	118	14,3	480	58,1	178	21,5	50	6,1
	H. Germans Trias i Pujol	102	9,7	578	55	285	27,1	85	8,1

Tabla 20: Distribución del subtipo histológico de MM en las dos poblaciones y en los dos grupos (MSN/ MDN)

En los dos grupos (MSN y MDN) se encontró con más frecuencia el subtipo histológico de MES. Las frecuencias de MES en las dos poblaciones en los casos de MSN fueron mucho mayores (83,7% y 78,8%) que en los casos de MDN (58,1% y 55%). El MN fue mucho más frecuente en el grupo del MDN en ambas poblaciones que en el grupo de MSN.

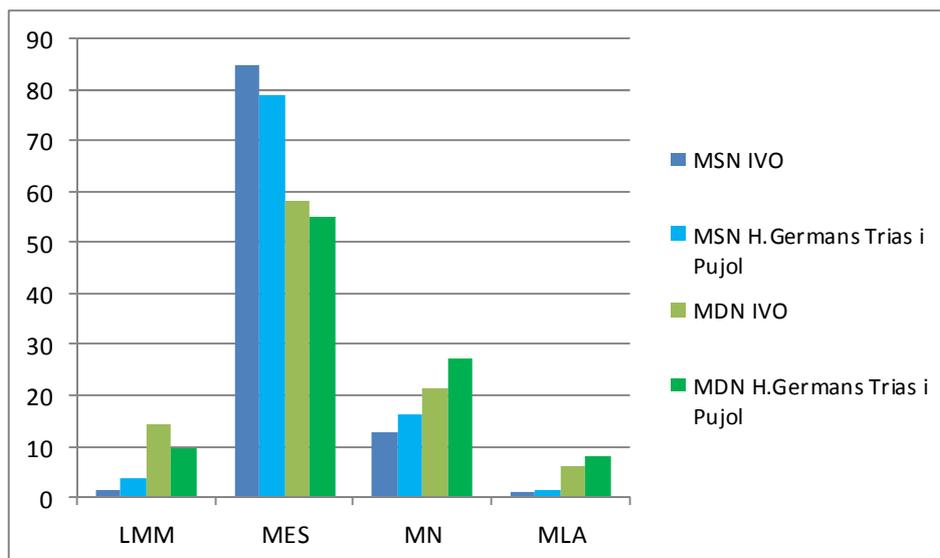


Figura 23: Distribución del subtipo histológico de MM en las dos poblaciones y en los dos grupos a estudio.

6.1.3.3. Índice de Breslow

En 1147 pacientes del IVO y en 1331 pacientes del hospital Germans Trias i Pujol se tuvo el dato cuantitativo del índice de Breslow. Se careció del dato en 227 casos del IVO (un 16,3% perteneciente al grupo de MSN y un 13,8% del grupo de MDN) y en 9 casos del Hospital Germans Trias i Pujol (un 0,8% del grupo de MDN y ningún caso del MSN).

Lo más frecuente en ambas poblaciones fue el MM con un índice de Breslow igual o inferior a 1 mm. De un 41,2% a un 53,4% de los MDN presentaron un índice de Breslow ≤ 1 mm. Esta frecuencia se elevó hasta un 56,1-75,5% en el grupo del MSN.

		Subtipo histológico					
		≤ 1 mm		1,01-4,00 mm		$\geq 4,01$ mm	
		N	%	N	%	N	%
MSN	IVO	147	56,1	99	37,8	16	6,1
	H. Germans Trias i Pujol	151	75,5	41	20,5	8	4
MDN	IVO	313	41,2	318	41,9	128	16,9
	H. Germans Trias i Pujol	604	53,4	382	33,8	145	12,8

Tabla 21: Distribución del índice de Breslow en las dos poblaciones y en los dos grupos a estudio (MSN/ MDN)

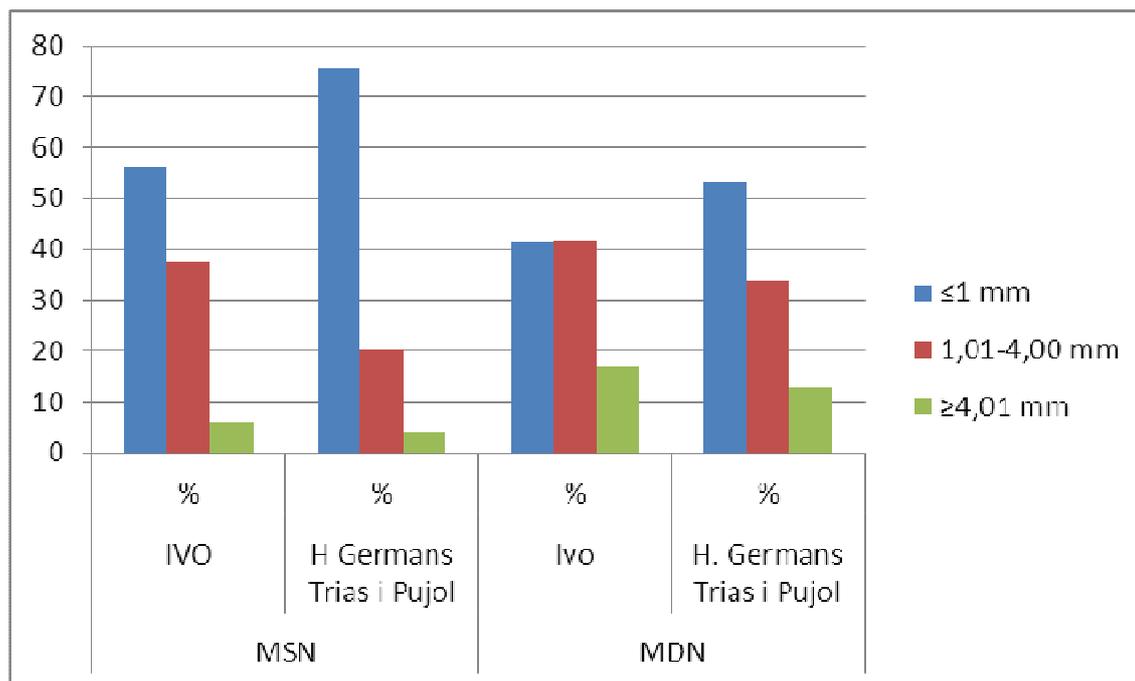


Figura 24: Distribución del índice de Breslow en las dos poblaciones y en los dos grupos a estudio

6.1.3.4 Número de mitosis por mm^2

Del total de la población del IVO se obtuvo el dato del número de mitosis en 982 casos. No se recogió el dato en 392 casos. Estos casos perdidos supusieron un 17,6% de los casos de MDN y un 26,2% de los casos de MSN.

Tras categorizar la variable en 4 ó menos mitosis por mm^2 y más de 4 mitosis por mm^2 de acuerdo a la metodología CART, se observaron unas frecuencias muy similares en los casos de MSN y de MDN.

IVO	Número de mitosis por mm^2			
	≤ 4 mm		> 4 mm	
	N	%	N	%
MSN	208	66,5	105	33,5
MDN	580	65,8	301	34,2

Tabla 22: Distribución del número de mitosis en la población del IVO en los dos grupos a estudio (MSN/MDN)

6.1.3.5. Ulceración microscópica.

De los 1374 pacientes del IVO se pudo analizar el dato de la ulceración histológica en 1328 casos. En 46 casos se perdió el dato. Estos casos perdidos supusieron un 0,6% del conjunto de MDN y un 1% del grupo de MSN.

En los dos grupos se encontró con mayor frecuencia el MM sin ulceración histológica. Esta frecuencia fue aún mayor en el grupo del MSN que en el grupo del MDN

IVO	Ulceración histológica			
	Sí		No	
	N	%	N	%
MSN	34	11	276	89
MDN	212	24,2	664	75,8

Tabla 23: Distribución de la ulceración histológica en la población del IVO en los dos grupos a estudio (MSN/MDN)

6.1.3.6 Satelitis microscópicas.

En 1164 casos del IVO se recogió el dato de la presencia de satelitis microscópicas. Se careció de este dato en 210 casos. Estas pérdidas supusieron un 5,8% del total de casos de MDN y un 10,2% del total de casos de MSN.

En los dos grupos se observó una mayor frecuencia de la ausencia de satelitis microscópicas frente a la presencia de estas. La frecuencia de satelitis fue algo mayor en el grupo de MDN que en el grupo de MSN.

IVO	Satelitis microscópicas			
	Sí		No	
	N	%	N	%
MSN	1	0,4	280	99,6
MDN	28	3,4	802	96,6

Tabla 24: Distribución de las satelitis microscópicas en la población del IVO en los dos grupos a estudio (MSN/MDN)

6.1.4. Variables genéticas

6.1.4.1. SNPs nevogénicos:

El análisis de la frecuencia de los SNPs asociados a la nevogenicidad en la población diagnosticada al menos de un MM cutáneo, mostró que la variante consenso más frecuentemente encontrada en estos pacientes fue la del SNP rs1011970 del gen MTAP. El SNP rs7023329 localizado también en el gen MTAP fue el que con mayor frecuencia se encontró en una variante no consenso tanto en homocigosis como en heterocigosis.

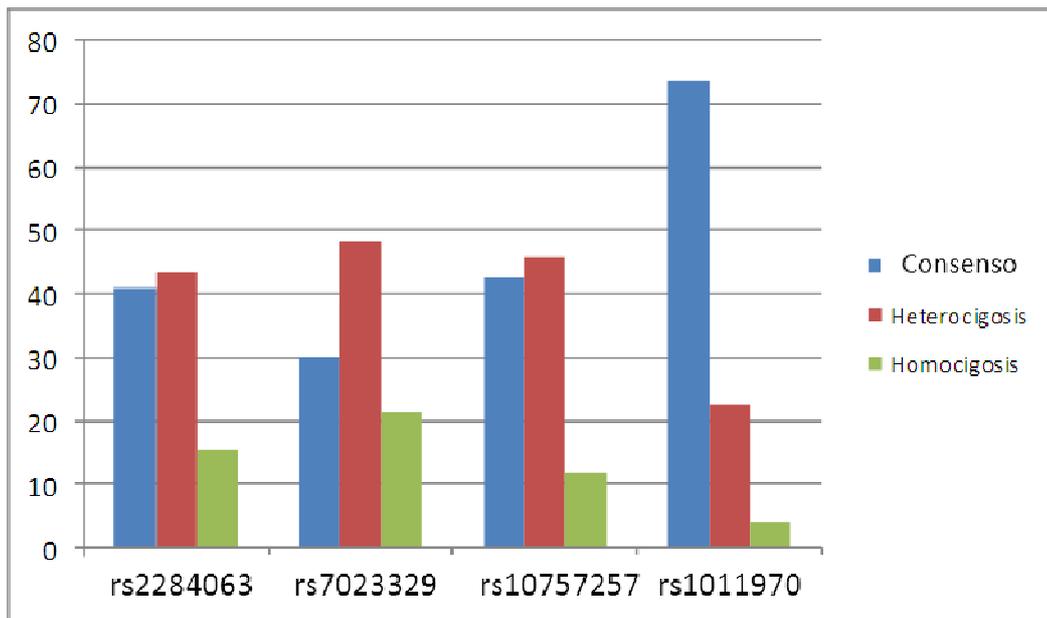


Figura 25: Distribución de los SNPs nevogénicos en la población afecta de al menos 1 MM cutáneo

El análisis por grupos (MSN/ MDN) mostró los siguientes resultados:

- Se encontraron sutiles diferencias en la frecuencia de formas consenso en los casos de MSN frente al MDN para los SNPs rs7023329, rs10757257 y rs1011970. En el SNP rs2284063 no se encontraron prácticamente diferencias en la frecuencia de las formas consenso en los MSN y los MDN.
- El SNP rs7023329 fue el que con más frecuencia presentó una variante no consenso en homocigosis y en heterocigosis en los casos de MSN y MDN.

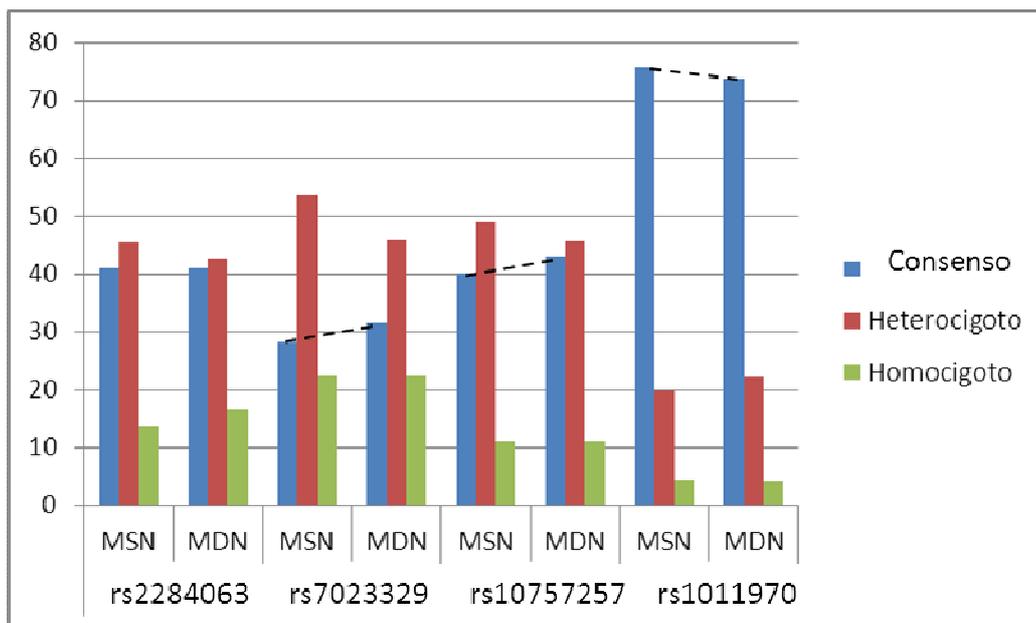


Figura 26: Distribución de los SNPs nevogénicos según si el melanoma es *de novo* o sobre nevo

6.1.4.2. Mutación V600E del BRAF

Del conjunto de pacientes diagnosticados de al menos un MM cutáneo en 474 casos (un 33% del total) se tuvo el dato de la presencia o ausencia de la mutación V600E del BRAF. En el momento de la recogida de la base de datos se careció de este dato en 963 casos. Estos casos se distribuyeron en un 67,4% de pérdidas en el grupo del MSN y un 61% en el grupo de MDN.

Al analizar la presencia /ausencia de la mutación en el conjunto de los pacientes afectados de un MM cutáneo, ésta se encontró mutada en 147 casos (un 31% del total estudiado) y no mutada en 327 casos (un 69% del total)

Las frecuencias en la distribución de la mutación en BRAF fueron muy similares en los dos grupos a estudio:

IVO	Mutación V600E de BRAF			
	Sí		No	
	N	%	N	%
MSN	32	31,4	70	68,6
MDN	109	31,7	235	68,3

Tabla 25: Distribución de la mutación V600E en BRAF del MSN y MDN en la población del IVO

6.1.4.3. Variantes de MC1R

En 1124 pacientes se tuvo el dato de presencia de variantes consenso/homocigosis/heterocigosis del gen MC1R.

a) Distribución de variantes en la población afecta de MM cutáneo

Al analizar el conjunto de pacientes diagnosticados de al menos un MM cutáneo (tanto de MDN como MSN) se observó que la variante no consenso más frecuentemente encontrada en heterocigosis y homocigosis era la R142H (variante RHC), seguida de la V92M (variante no-RHC)

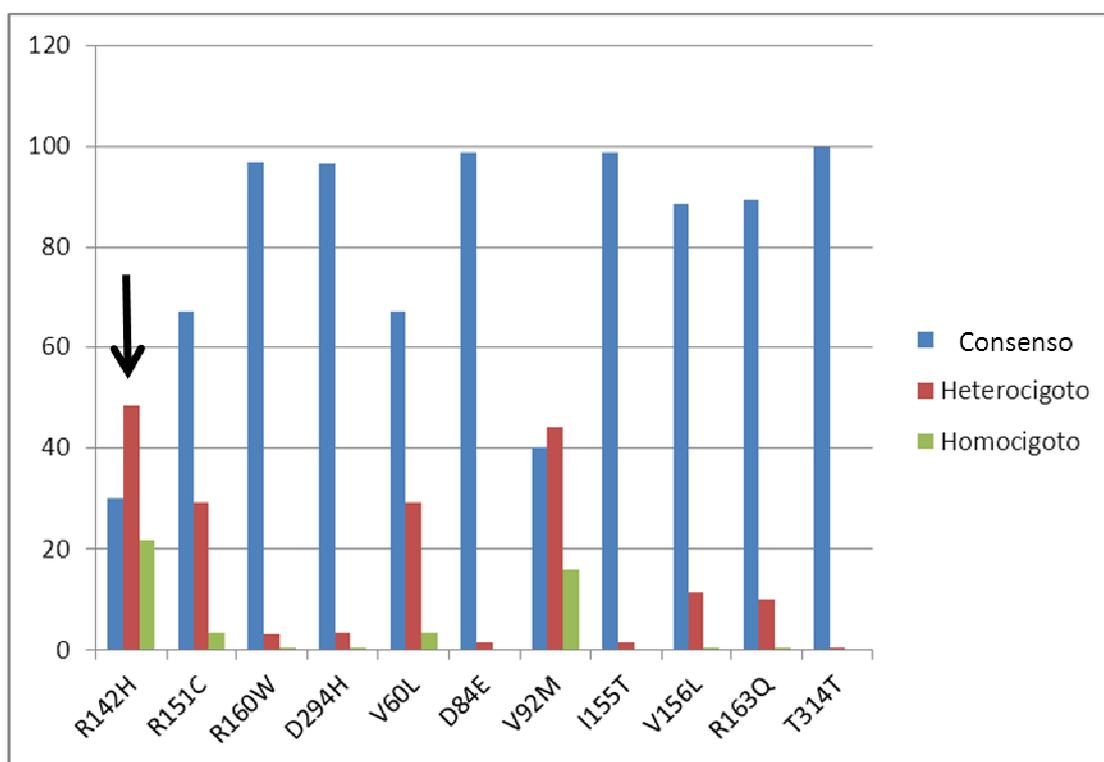


Figura 27: Distribución de las formas consenso y las variantes en homocigosis y heterocigosis de MC1R en la población afecta de al menos un MM cutáneo (sin distinción entre MSN o MDN)

Al analizar el número de variantes RHC, se observó que la gran mayoría de pacientes presentaba 1 única variante (522 pacientes), seguida de dos variantes (158 pacientes). Sólo en 6 pacientes se encontraron 3 variantes RHC.

b) Distribución de variantes RHC/no-RHC en los dos grupos a estudio

Al analizar la presencia de variantes de MC1R según el MM fuera MDN/ MSN y según si eran RHC o no-RHC, se observó que en los dos grupos había una mayor frecuencia de

variantes RHC y que esta frecuencia de variantes RHC era ligeramente mayor en el grupo de MSN que en el grupo de MDN.

	Variante RHC		Variante no-RHC	
	N	%	N	%
MSN	179	67,3	87	32,7
MDN	430	57,8	314	42,2

Tabla 26: Distribución de la presencia de variantes RHC en los dos grupos en el IVO

Al subclasificar las distintas variantes RHC de MC1R en función de si el MM fue sobre nevo o *de novo* las diferencias de frecuencias más llamativas (aunque sutiles) se encontraron en las variantes R142H y R151C

Variantes RHC		Consenso		Heterocigosis		Homocigosis	
		N	%	N	%	N	%
R142H	MSN	43	28,1	82	53,6	28	18,3
	MDN	113	33,4	166	46,1	81	22,5
R151C	MSN	171	64,5	86	32,5	8	3
	MDN	503	67,8	201	29,1	23	3,1
R160W	MSN	254	95,8	11	4,2		
	MDN	722	97,3	19	2,6	1	0,1
D294H	MSN	254	95,8	11	4,2		
	MDN	717	96,6	22	3	3	0,4
D84E	MSN	261	98,5	4	1,5		
	MDN	732	98,7	10	1,3		

Tabla 27: Distribución de variantes RHC en los dos grupos a estudio (MSN/MDN) del IVO

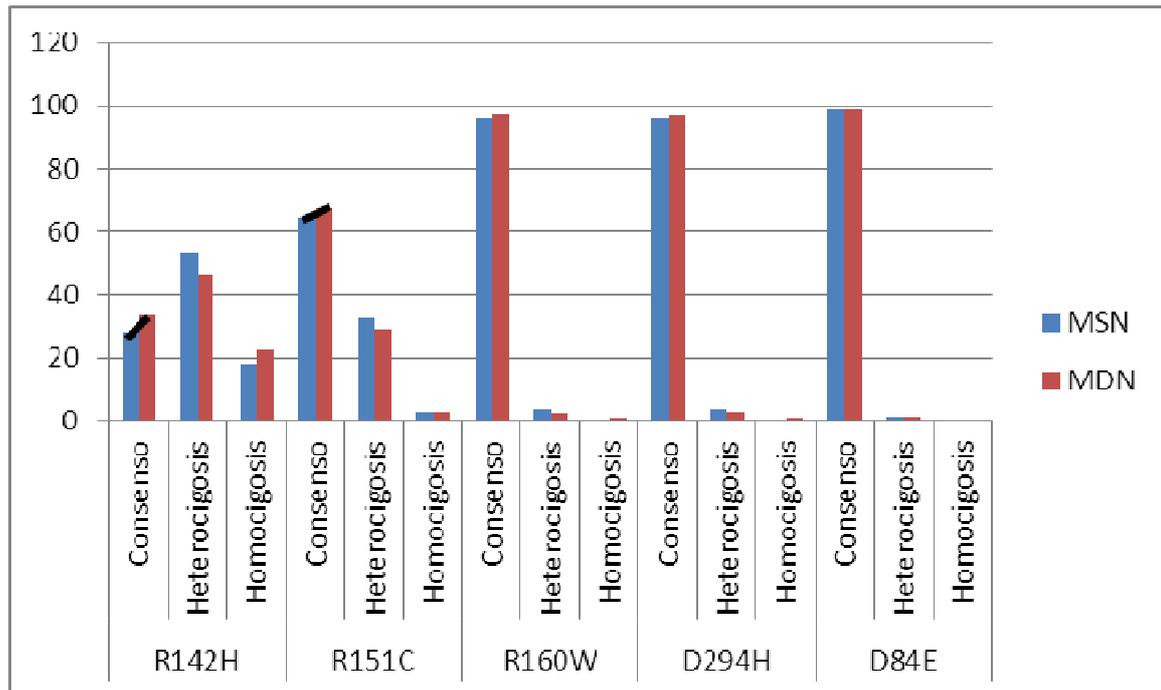


Figura 28: Distribución de las variantes RHC en los dos grupos a estudio (MSN/MDN) del IVO

Al subclasificar las distintas variantes no-RHC de MC1R en función de si el MM fue sobre nevo o *de novo* las diferencias de frecuencias más llamativas (aunque sutiles) se encontraron en la variante V60L y V156L

Variantes no RHC		Consenso		Heterocigosis		Homocigosis	
		N	%	N	%	N	%
V60L	MSN	171	64,5	86	32,5	8	3
	MDN	503	67,8	216	29,1	23	3,1
V92M	MSN	58	38,7	71	47,3	21	14
	MDN	149	40,6	158	43,1	60	16,3
I155T	MSN	261	98,5	4	1,5		
	MDN	732	98,7	10	1,3		
V156L	MSN	228	86	36	13,6	1	0,4
	MDN	668	90	74	10		
R163Q	MSN	235	88,7	28	10,6	2	0,8
	MDN	670	90,3	70	9,4	2	0,3

Tabla 28: Distribución de las variantes no-RHC en los dos grupos a estudio (MSN/MDN) del IVO.

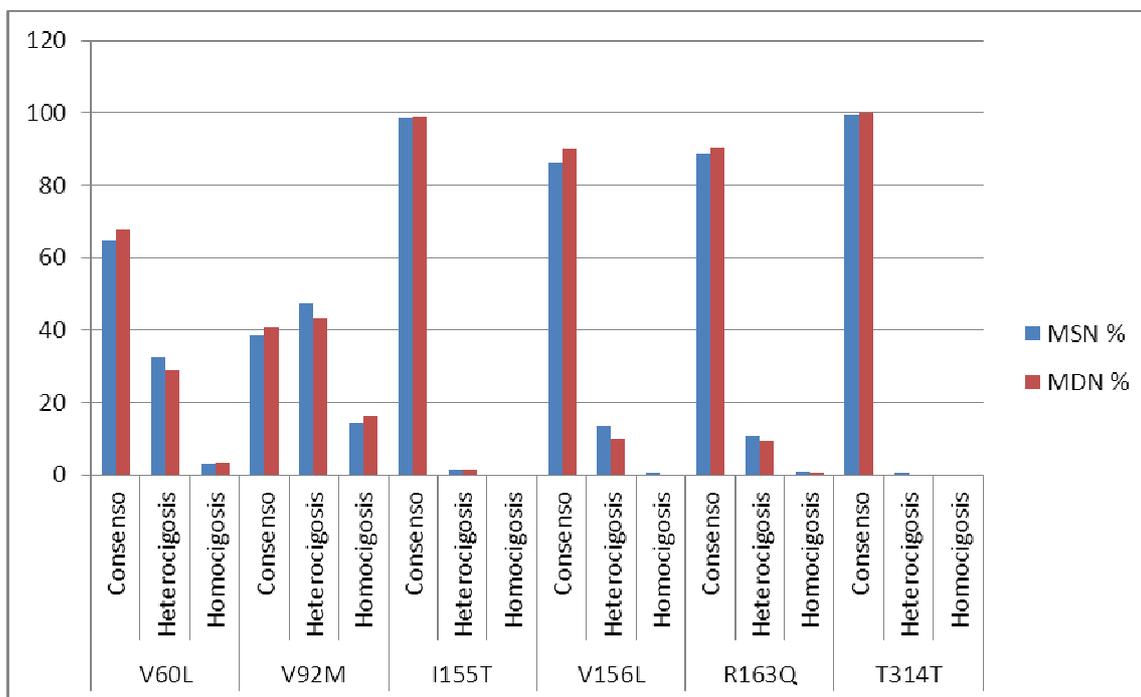


Figura 29: Distribución de las variantes No-RHC en los dos grupos a estudio (MSN/MDN) del IVO

6.2. Estudio descriptivo de las dos poblaciones afectas de un segundo MSN y MDN

Del total de pacientes procedentes del IVO, 49 (3,4% del total) desarrollaron un segundo MM. Se pudo analizar la presencia o no de restos de nevo en la pieza histológica en 43 casos. En 12 de estos 43 casos (27,9%) se encontraron restos de nevo en el estudio histológico del MM. En 6 casos el nevo asociado fue un nevo displásico y en los otros 6 el nevo asociado fue un nevo melanocítico común. Los 31 casos restantes fueron MDN (72,1% del total).

Del total de pacientes del Hospital Germans Trias i Pujol 14 desarrollaron un segundo MM (1,4%). De estos 14 casos, en 10 se pudo analizar si el segundo MM era *de novo* o sobre nevo. En 8 casos el melanoma fue *de novo* y en 2 casos el melanoma fue sobre nevo. Se careció del dato de si estos dos segundos MSN se asociaron a un nevo displásico o común.

En un primer paso se estudiaron por separado todas las variables de la población afecta de más de un MM cutáneo primario del IVO. Los datos del Hospital Germans Trias i Pujol no se estudiaron de forma aislada debido al reducido número de casos de segundos MSN (sólo dos casos). En un segundo paso se estudiaron de forma conjunta las variables recogidas con los mismos criterios en las dos poblaciones a estudio (base de datos combinada).

6.2.1. Estudio descriptivo de la población afecta de más de un melanoma del Instituto Valenciano de Oncología

El análisis por separado de la población con el diagnóstico de un segundo MM en el IVO mostró los siguientes resultados:

6.2.1.1. Edad

La edad media y mediana de diagnóstico del segundo MSN fue algo mayor que la del segundo MDN. La edad máxima de diagnóstico del segundo MM así como el primer y el tercer cuartil fueron mayores en el grupo de segundo MSN que en el de segundo MDN.

Edad de los pacientes con al menos dos melanomas en la población del IVO						
	Media \pm DS	Mediana	Máximo	Mínimo	Primer cuartil	Tercer cuartil
2ºMSN	61,25 \pm 14,15	63	80	30	53,5	70
2ºMDN	56,9 \pm 14,38	61	79	31	42	67

Tabla 29: Distribución de la edad en los dos grupos a estudio de los casos de segundos MM

6.2.1.2. Sexo

En el segundo MSN predominó el sexo masculino sobre el femenino. En el segundo MDN se observó una frecuencia ligeramente mayor del sexo femenino.

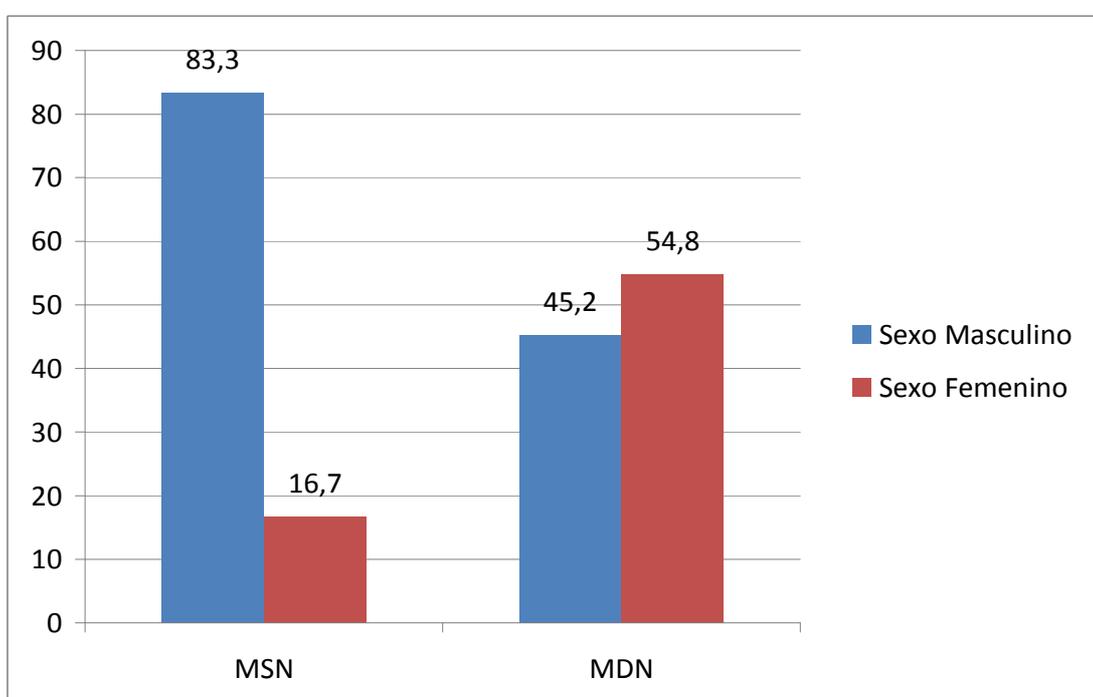


Figura 30: Distribución por sexo de los dos grupos (segundos MSN/MDN) en la población del IVO

6.2.1.3. Fenotipo nevogénico

Tanto en el segundo MDN como en el segundo MSN se observó con más frecuencia un fenotipo de menos de 50 nevos. La frecuencia del fenotipo con más de 50 nevos se elevó ligeramente en los casos de segundo MSN.

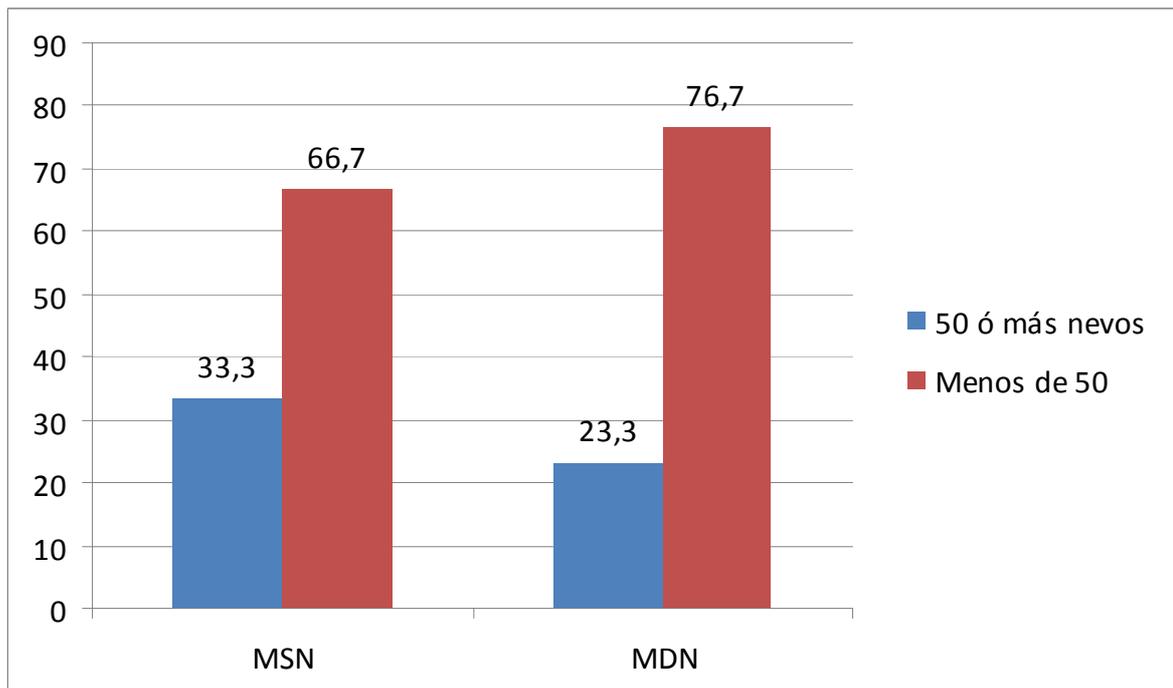


Figura 31: Distribución del fenotipo nevogénico en los dos grupos a estudio (segundo MSN/MDN) en la población del IVO

Al analizar la presencia de al menos un nevo clínicamente atípico, se observó un ligero predominio de este antecedente en los pacientes con diagnóstico de un segundo MDN.

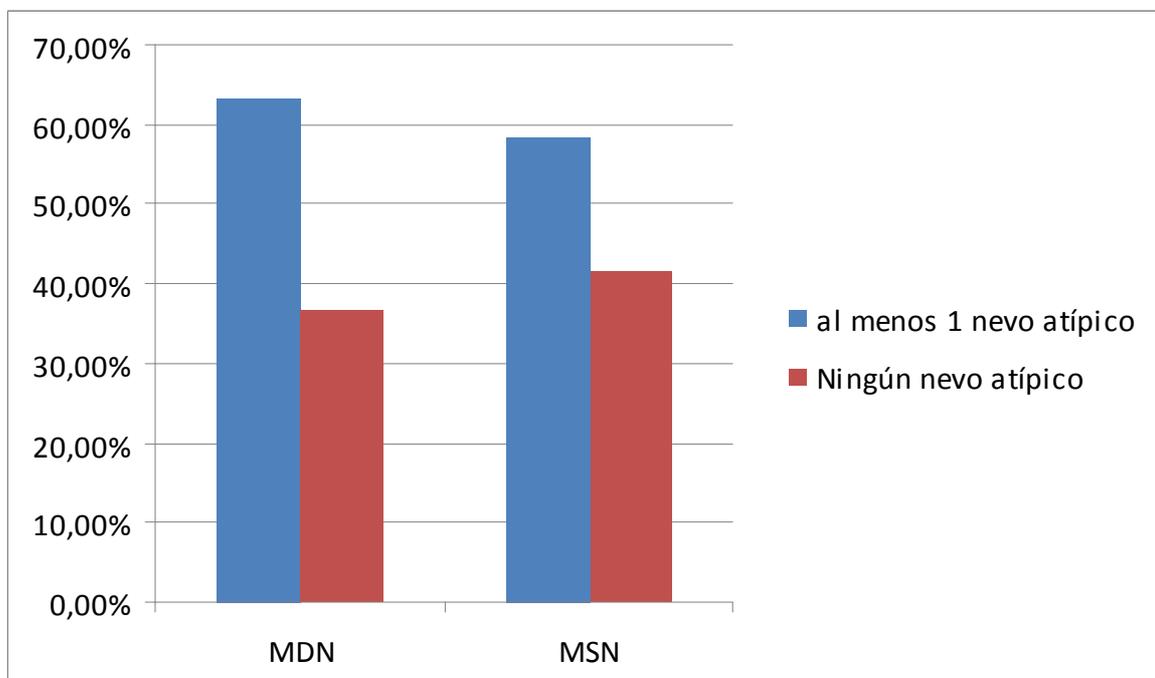


Figura 32: Presencia de algún nevo clínicamente atípico en los dos grupos a estudio (segundo MSN/MDN) en el IVO

6.2.1.4. Color de ojos y pelo

En los dos grupos (segundos MSN/MDN) predominó el fenotipo de ojos oscuros con pelo oscuro.

	Color de ojos			
	Claros		Oscuros	
	N	%	N	%
2º MSN	3	33,3	6	66,7
2º MDN	12	38,7	19	61,3

Tabla 30: Color de ojos en los dos grupos (segundos MSN/MDN) en el IVO

	Color de pelo			
	Claro		Oscuro	
	N	%	N	%
2º MSN			12	100
2º MDN	4	12,9	27	87,1

Tabla 31: Color de pelo en los dos grupos (segundos MSN/MDN) en el IVO

6.2.1.5. Presencia de efélides

En los dos grupos a estudio predominó la ausencia de efélides frente a la presencia de éstas.

	Efélides			
	Sí		No	
	N	%	N	%
2º MSN	2	33,3	4	66,7
2º MDN	10	37	17	63

Tabla 32: Efélides en los dos grupos (segundos MSN/MDN) en el IVO

6.2.1.5 Presencia de lentigos solares

En los dos grupos a estudio, a diferencia de lo encontrado en el caso del primer MM donde predominaba la ausencia o presencia de algún lentigo solar (Pág. 91, tabla 12), predominó la presencia de abundantes lentigos solares frente a escasos/ ninguno.

Lentigos solares					
		Abundantes		Escasos o ninguno	
		N	%	N	%
2º MSN		4	66,7	2	33,3
2º MDN		19	76	6	24

Tabla 33: Lentigos solares en los dos grupos a estudio (segundos MSN/MDN) en el IVO

6.2.1.6. Antecedentes personales de quemaduras solares intensas

A diferencia del estudio descriptivo del primer MM (Pág.92, Fig.17), en el caso del segundo MM en los dos grupos a estudio predominaron los antecedentes de quemaduras solares intensas. Estos antecedentes se observaron con una frecuencia algo superior en el grupo de segundo MDN.

Quemaduras solares intensas					
		Sí		No	
		N	%	N	%
2ºMSN		7	58,3	5	41,7
2ºMDN		22	73,3	8	26,7

Tabla 34: Antecedentes de quemaduras solares intensas en los dos grupos a estudio (segundos MSN/MDN) en el IVO

6.2.1.7. Antecedentes de quemaduras solares en el área del melanoma

En los dos grupos a estudio predominaron los antecedentes de quemaduras solares (incluyendo leves e intensas) en el área del MM.

Quemaduras en área del MM					
		Sí, leves/intensas		No	
		N	%	N	%
2ºMSN		9	75	3	25
2ºMDN		20	64,5	11	35,5

Tabla 35: Antecedentes de quemaduras solares en el área del MM en los dos grupos a estudio (segundos MSN/MDN) en el IVO

6.2.1.8. Exposición solar laboral

En los dos grupos a estudio predominó la ausencia de antecedentes de exposición solar laboral de 1 ó más años de duración.

	Exposición solar laboral			
	≥1 año		< 1 año	
	N	%	N	%
2ºMSN	3	25	9	75
2ºMDN	10	32,3	21	67,7

Tabla 36: Antecedentes de exposición solar laboral en los dos grupos a estudio (segundo MSN/MDN) en el IVO

6.2.1.9 Uso de rayos UVA artificiales

En los dos grupos a estudio predominó la ausencia de los antecedentes de los rayos UVA artificiales.

	Uso de rayos UVA artificiales			
	Sí		No	
	N	%	N	%
2ºMSN	1	8,3	11	91,7
2ºMDN	3	10	27	90

Tabla 37. Antecedentes del uso de rayos UVA artificiales en los dos grupos a estudio en el IVO

6.2.1.10 Antecedentes de queratosis actínicas

En los dos grupos a estudio predominó la ausencia de queratosis actínicas, si bien en el grupo de segundos MDN el porcentaje de estas fue algo mayor que en el grupo de segundos MSN.

	Queratosis actínicas			
	Sí		No	
	N	%	N	%
2ºMSN	1	8,3	11	91,7
2ºMDN	7	24,1	22	75,9

Tabla 38: Antecedentes de queratosis actínicas en los dos grupos a estudio en el IVO

6.2.1.11 Antecedentes familiares de MM

En los dos grupos predominó la ausencia de antecedentes familiares de MM. En el grupo de segundo MSN no se encontró ningún antecedente familiar de MM.

Antecedentes familiares de melanoma					
		Sí		No	
		N	%	N	%
2ºMSN				12	100
2ºMDN	5	16,1		26	83,9

Tabla 39: Antecedentes familiares de MM en los dos grupos a estudio (segundo MSN/MDN) en la población del IVO

6.2.1.12 Antecedentes familiares de cáncer de páncreas

En los dos grupos a estudio predominó la ausencia de los antecedentes familiares de cáncer de páncreas. Sólo se encontró un caso de un paciente con un segundo MDN con antecedentes familiares de cáncer de páncreas

Antecedentes familiares de cá. Páncreas					
		Sí		No	
		N	%	N	%
2ºMSN				12	100
2ºMDN	1	3,2		30	96,8

Tabla 40: Antecedentes familiares de cáncer de páncreas en los dos grupos a estudio del IVO

6.2.1.13 Localización del segundo MM

La localización más frecuente en los casos de segundos MSN y segundos MDN fue el tronco, si bien la frecuencia de esta localización se elevó algo más en el caso del segundo MSN. La segunda localización más frecuente fue la cabeza y el cuello en los casos de MSN y las extremidades superiores en los casos de segundo MDN.

Localización del segundo MM en el IVO											
		Tronco		EEII		EESS		Manos/Pies		Cabeza	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
2º MSN		7	58,3	1	8,3	1	8,3	1	8,3	3	25
2º MDN		14	45,2	3	9,7	8	25,8	1	3,2	5	16,1

Tabla 41: Distribución según la localización del segundo MM en el IVO

Al clasificar los segundos MM de acuerdo a la nueva clasificación según la zona de fotoexposición, se observó que la zona más frecuente para el segundo MSN fue la zona de fotoexposición intermitente intensa. La localización más frecuente para el segundo MDN fue la zona de fotoexposición intermitente moderada seguida de la zona de fotoexposición crónica. No se encontraron segundos MSN en los muslos (zona 4) ni segundos MDN en las zonas nunca fotoexpuestas (zona 5)

Localización del segundo MM en el IVO según zona de fotoexposición										
	Zona 1		Zona 2		Zona 3		Zona 4		Zona 5	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
2º MSN	2	18,2	4	36,4	2	18,2			3	27,3
2º MDN	8	25,8	7	26,2	15	48,4	1	3,2		

Tabla 42: Distribución de los segundos MM de acuerdo a la clasificación basada en los tipos de fotoexposición

6.2.1.14. Asociación del primer MM a un nevo melanocítico

En todos los casos de segundos MM (tanto MSN como MDN) se encontró una mayor frecuencia de antecedentes de primer MDN, pero esta frecuencia de primer MDN fue menor en los casos de segundo MSN que de segundo MDN:

- El 41,9% de los pacientes que presentaron un segundo MSN tenían antecedentes de un primer MSN.
- El 17,9% de los pacientes que presentaron un segundo MDN tenían antecedentes de un primer MSN.

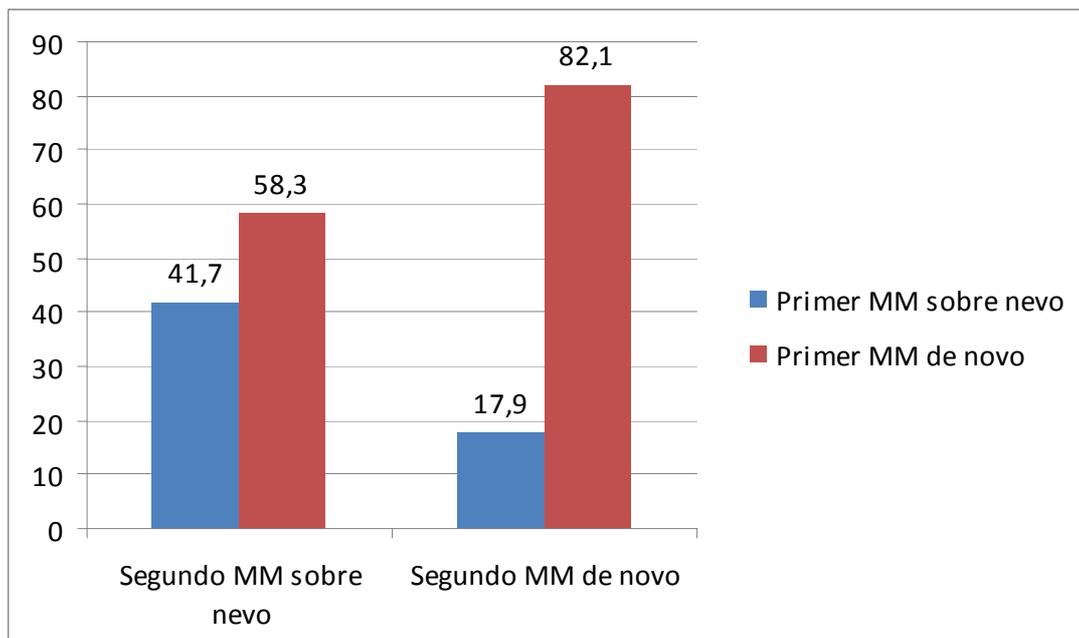


Figura 33: Antecedentes de primer MSN en los dos grupos (segundo MSN/MDN) de la población del IVO

6.2.1.15. Subtipo histológico

En los dos grupos (MSN/MDN) predominó el subtipo histológico de MES.

	Subtipo histológico en el segundo melanoma					
	MES		MN		LMM	
	N	%	N	%	N	%
2º MSN	8	72,7	2	18,2	1	9,1
2º MDN	21	70	6	20	3	10

Tabla 43: Subtipo histológico en los dos grupos a estudio (segundo MSN/MDN) en la población del IVO

6.2.1.16. Índice de Breslow

En los casos de segundo MSN se observó una menor frecuencia de índice de Breslow inferior a 1 mm y superior a 4 mm con respecto a los casos de segundo MDN. En los casos de segundo MSN se observó una mayor frecuencia que en los casos de segundo MDN de un índice de Breslow entre 1,01 y 4 mm.

	Índice de Breslow en el segundo melanoma					
	0-1 mm		1,01-4mm		> 4 mm	
	N	%	N	%	N	%
2º MSN	5	45,5	5	45,5	1	9,1
2º MDN	16	59,3	8	29,6	3	11,1

Tabla 44: Índice de Breslow en los dos grupos a estudio (segundos MSN/MDN) en la población del IVO

6.2.1.17. Mitosis por mm²

En los dos grupos a estudio (segundo MSN y segundo MDN) predominó la presencia de mitosis en el estudio histológico. Esta frecuencia fue algo mayor en los casos de segundos MSN.

	Mitosis por mm ²			
	Ausencia de mitosis		1 ó más mitosis	
	N	%	N	%
2ºMSN	3	25	9	75
2ºMDN	10	32,3	21	67,7

Tabla 45: Mitosis por mm² en los dos grupos a estudio (segundos MSN/MDN) en el IVO

6.2.1.18. Ulceración histológica

No se encontró ningún caso de segundo MSN con ulceración histológica. 6 casos de segundo MDN presentaron ulceración histológica.

	Ulceración histológica			
	Sí		No	
	N	%	N	%
2ºMSN			12	100
2ºMDN	6	20	24	80

Tabla 46: Ulceración histológica en los dos grupos a estudio (segundo MSN/MDN) en el IVO

6.2.1.20. Variables genéticas

En los pacientes diagnosticados de un segundo MM en general, al igual que sucedió en el caso del primer MM (Pág.107, Fig. 27), se observó con más frecuencia la presencia de variantes RHC (60%) que de variantes no RHC (40%).

Al subdividir entre segundo MSN y segundo MDN, se observó que la frecuencia de las variantes RHC era mayor en los segundos MSN que en los segundos MDN.

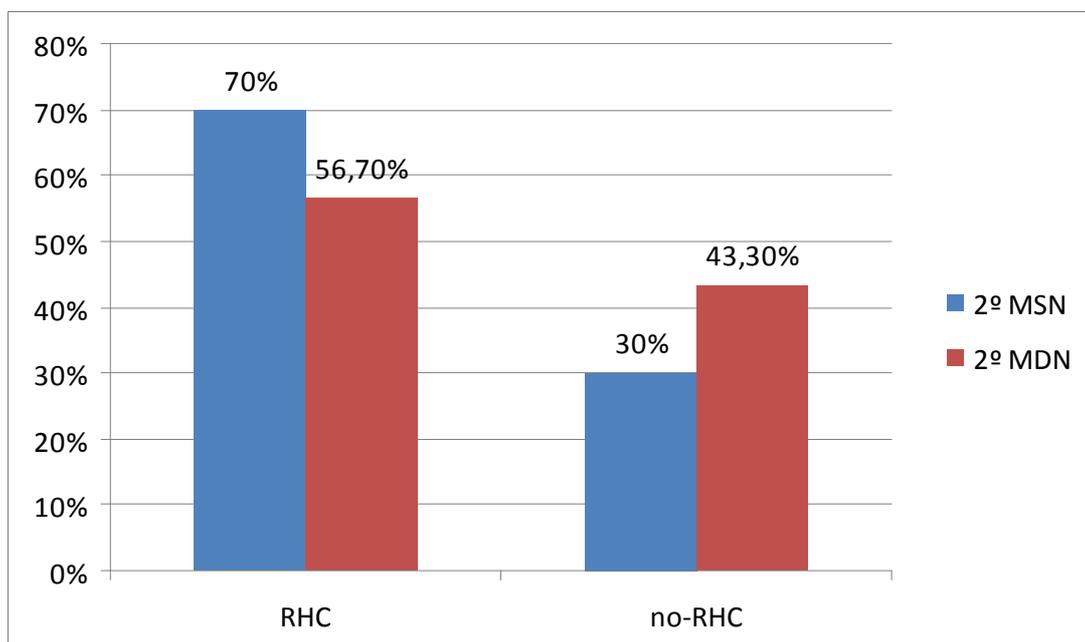


Figura 34: Distribución variantes RHC/no-RHC en los dos grupos a estudio en la población del IVO

Al analizar por separado cada una de las variantes RHC, se observó que al igual que sucedía en el caso del primer MSN, la variante que mostraba una mayor diferencia de frecuencias entre segundo MSN y segundo MDN era la R142H (Pág. 108, tabla 27).

Variantes RHC		Consenso		Heterocigosis		Homocigosis	
		N	%	N	%	N	%
R142H	2º MSN	1	16,7	3	50	2	33,3
	2º MDN	7	43,8	8	50	1	6,3
R151C	2º MSN	6	60	4	40		
	2º MDN	18	60	9	30	3	10
R160W	2º MSN	9	90	1	10		
	2º MDN	29	96,7	1	3,3		
D294H	2º MSN	10	100				
	2º MDN	30	100				
D84E	2º MSN	10	100				
	2º MDN	30	100				

Tabla 47: Distribución de las variantes RHC en los dos grupos a estudio (segundos MSN/MDN) en el IVO

En el caso de las variantes no-RHC, de la misma manera que sucedía en el caso del primer MSN/MDN, no se encontraron diferencias reseñables en la distribución de sus frecuencias.

Variantes No-RHC		Consenso		Heterocigosis		Homocigosis	
		N	%	N	%	N	%
V60L	2º MSN	6	60	4	40		
	2º MDN	18	60	9	30	3	10
V92M	2º MSN	3	50	2	33,3	1	16,7
	2º MDN	7	41,2	8	47,1	2	11,8
I155T	2º MSN	10	100				
	2º MDN	30	100				
V156L	2º MSN	9	90	1	10		
	2º MDN	24	80	6	20		
R163Q	2º MSN	9	90	1	10		
	2º MDN	27	90	3	10		

Tabla 48: Distribución de las variantes no-RHC en los dos grupos a estudio (segundos MSN/MDN) en el IVO

Se analizó la presencia de la mutación de BRAF en 11 pacientes diagnosticados de más de un MM cutáneo. En estos 11 pacientes predominó la ausencia de la mutación (7 pacientes con segundo MDN y 2 pacientes con segundo MSN).

El SNP nevogénico que se observó con más frecuencia tanto en homocigosis como en heterocigosis en los pacientes diagnosticados de un segundo MM en general fue el rs7023329. Al subdividir en segundo MSN y segundo MDN se observó una distribución bastante heterogénea entre el grupo del MSN y del MDN.

SNPs nevogénicos		Consenso		Heterocigosis		Homocigosis	
		N	%	N	%	N	%
SNP rs1011970	2º MSN	3	50	2	33,3	1	16,7
	2º MDN	11	68,8	4	25	1	6,3
SNP rs10757257	2º MSN	2	33,3	2	33,3	2	33,3
	2º MDN	11	64,7	5	29,4	2	6,9
SNP rs 7023329	2º MSN	1	16,7	3	50	2	33,3
	2º MDN	7	43,8	8	50	1	6,3
SNP rs 2284063	2º MSN	3	50	2	33,3	1	16,7
	2º MDN	6	37,5	8	50	2	12,5

Tabla 49: Distribución de los SNPs nevogénicos en los pacientes con segundos melanomas

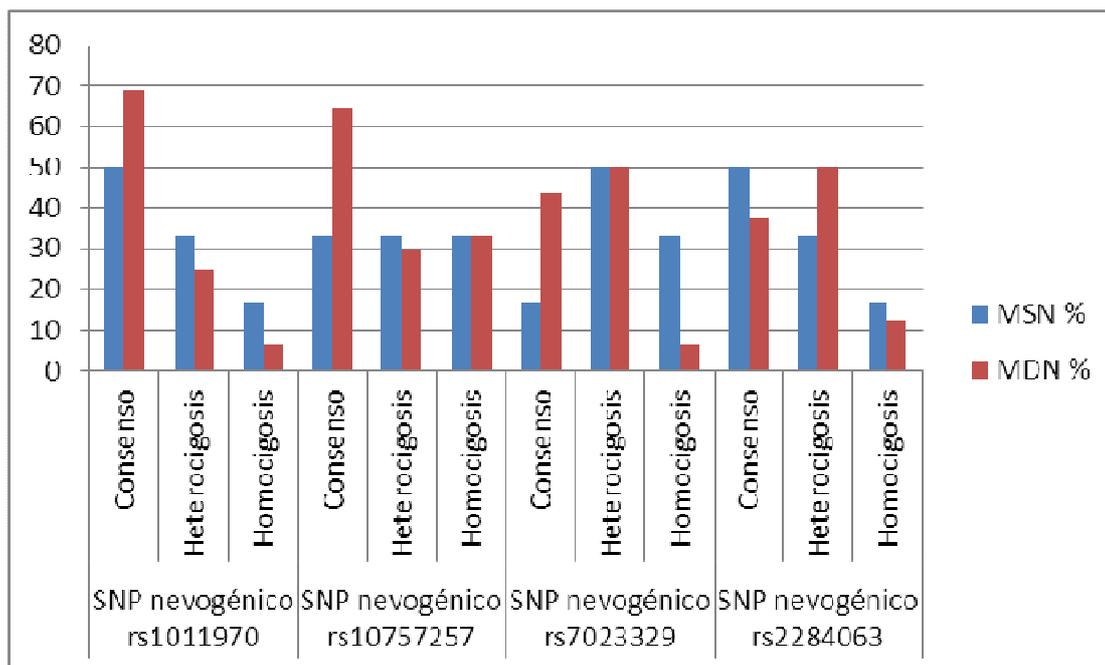


Figura 35: Distribución de los SNPs nevogénicos en los dos grupos a estudio (segundo MSN/MDN) en el IVO

6.2.3. Estudio descriptivo de la población afecta de más de un melanoma en las bases de datos conjuntas

Al unificar las dos bases de datos se obtuvo un total de 53 pacientes diagnosticados de más de un MM cutáneo (un 2,3% de la población a estudio). De estos, 39 pacientes presentaron un segundo MDN y 14 un segundo MSN.

El estudio descriptivo de estos datos mostró los siguientes resultados:

6.2.3.1. Edad

La edad media y mediana para el diagnóstico de un segundo MSN fue algo mayor que la para el diagnóstico de un segundo MDN. La edad máxima de diagnóstico fue algo mayor en el caso del segundo MDN que MSN. La edad del primer y tercer cuartil fue mayor en los casos de segundo MSN que de segundo MDN.

Edad de pacientes con más de 1 MM en la población conjunta						
	Media \pm DS	Mediana	Máximo	Mínimo	Primer cuartil	Tercer cuartil
2º MSN	59,35 \pm 15,97	63	80	28	51,5	70
2º MDN	58,22 \pm 14,24	61	86	31	45	68

Tabla 50: Distribución de la edad en los dos grupos de estudio (segundo MSN/MDN) en la base de datos conjunta. DS: Desviación estándar

6.2.3.2. Sexo

Se observó un claro predominio del sexo masculino frente al femenino en el caso de segundos MSN.

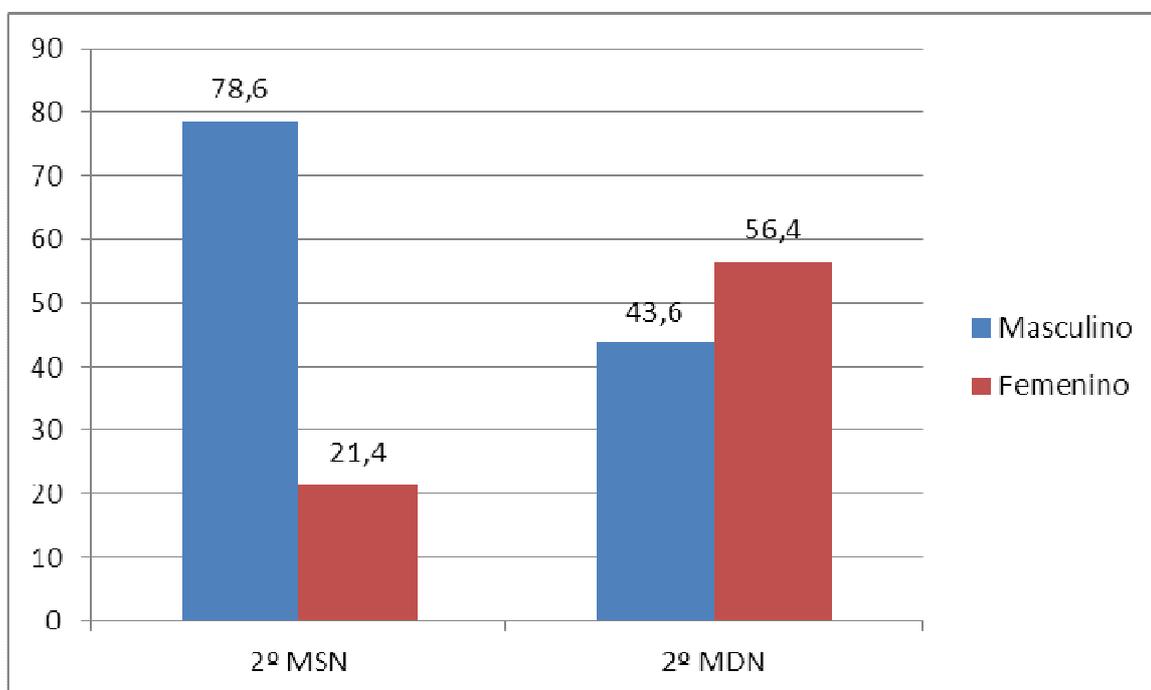


Figura 36: Distribución de segundos MSN y MDN según sexos en la base de datos conjunta

6.2.3.3. Fenotipo nevogénico

En ambos grupos predominó el fenotipo con menos de 50 nevos melanocíticos, si bien en el caso del segundo MSN se encontró una frecuencia algo superior en el fenotipo de 50 ó más nevos que en el segundo MDN.

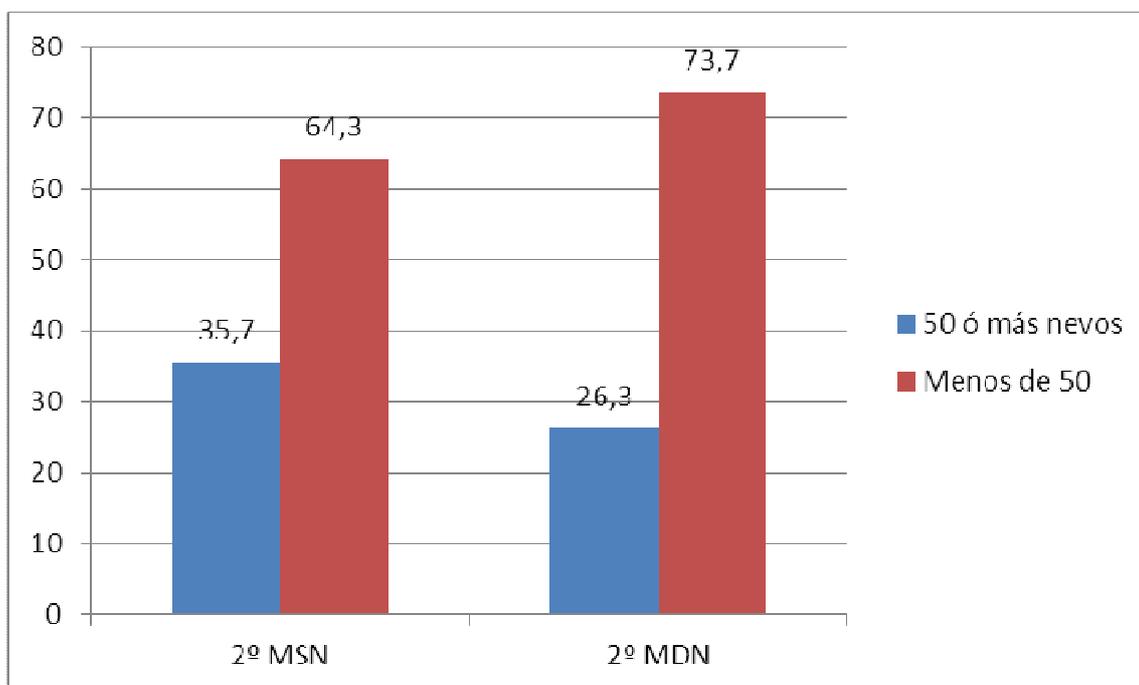


Figura 37: Distribución del fenotipo nevogénico en segundos MSN/ MDN en la base de datos conjunta

6.2.3.4. Antecedentes familiares de melanoma

No se encontraron prácticamente diferencias en la frecuencia de antecedentes familiares entre el grupo de segundo MSN y segundo MDN.

	Antecedentes familiares de MM			
	Sí		No	
	N	%	N	%
2º MSN	2	14,3	12	85,7
2º MDN	6	15,4	33	84,6

Tabla 51: Antecedentes familiares de MM en los pacientes con segundo MSN/MDN en la base de datos conjunta

6.2.3.5. Localización

La localización más frecuente en los dos grupos fue el tronco. En el caso del segundo MSN algo más de la mitad de los casos presentaron dicha localización. La segunda

localización más frecuente fueron las extremidades superiores en el caso de los segundos MDN y la cabeza y el cuello en los segundos MSN.

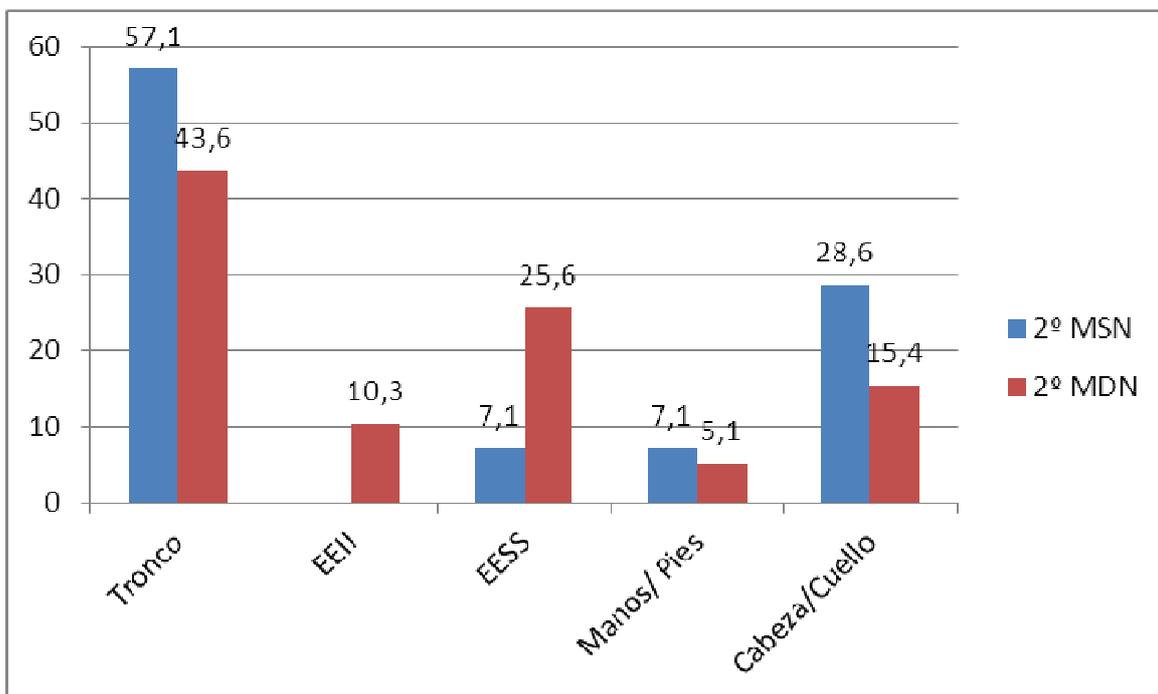


Figura 38: Localización de los segundos MSN/MDN en la base de datos conjunta

6.2.3.6. Subtipo histológico

El subtipo histológico más frecuente tanto para el segundo MSN como para el segundo MDN fue el MES seguido del MN.

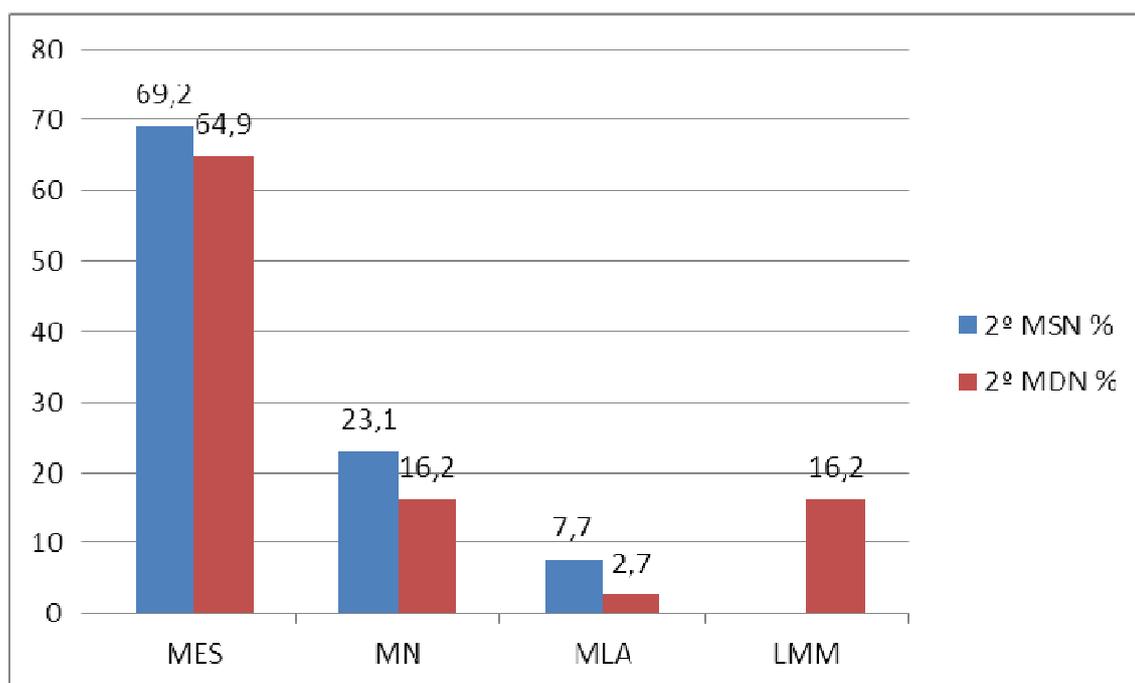


Figura 39: Subtipo histológico de MM en segundos MSN y MDN en la base de datos conjunta

6.2.3.7. Índice de Breslow

La frecuencia de índices de Breslow ≤ 1 mm fue mayor en los casos de segundos MDN que en los casos de segundos MSN. De la misma manera la frecuencia de índices de Breslow comprendidos entre 1,01 mm y 4 mm fue mayor en los casos de segundos MSN que en los de MDN.

	Índice de Breslow del segundo melanoma					
	0- 1mm		1,01- 4,00 mm		> 4,00 mm	
	N	%	N	%	N	%
2º MSN	6	46,2	5	38,5	2	15,4
2º MDN	21	60	10	28,6	4	11,4

Tabla 52: Índice de Breslow en los dos grupos a estudio (segundo MSN/MDN) en la base de datos conjunta

6.3. Estudio analítico de los factores epidemiológicos, clínicos y genéticos asociados a la presencia de un primer MSN.

6.3.1. Estudio analítico de la población del Instituto Valenciano de Oncología

El estudio de regresión logística univariada de los factores asociados a la presencia de un primer MSN en la población del IVO mostró los siguientes resultados:

- La edad ≤ 50 años aumentó casi al doble el riesgo para la presencia de un primer MSN frente a la edad >50 años.
- La presencia de algún nevo clínicamente atípico frente a su ausencia aumentó en 2,06 veces más el riesgo de un primer MSN.
- La presencia ≥ 50 nevos melanocíticos comunes aumentó en 1,78 veces más el riesgo del MSN frente a la presencia de <50 nevos melanocíticos.
- El antecedente personal de al menos una quemadura solar intensa aumentó el riesgo de la presencia de un primer MSN en 1,48 veces frente a la ausencia de este antecedente.

Resultados

- Los antecedentes de quemaduras solares en el área del MM aumentaron el riesgo del MSN en hasta 1,84 veces más frente a la ausencia de estos antecedentes.
- Los antecedentes de exposición solar laboral de ≥ 15 años fueron protectores frente a la ausencia de estos antecedentes para la presencia de un primer MSN.
- Los antecedentes de queratosis actínicas fueron protectores para la presencia de un primer MSN frente a la ausencia de estos antecedentes.
- El estudio de la localización según el modelo anatómico de 5 zonas mostró que el tronco frente al resto de localizaciones aumentaba el riesgo de un primer MSN en 2,66 veces, y las localizaciones de manos y pies y de cabeza eran localizaciones protectoras para el MSN.
- El estudio de la localización según el modelo de agrupación de zonas de acuerdo al patrón de fotoexposición mostró que la zona 3 (zona de exposición intermitente moderada) aumentaba el riesgo de un primer MSN frente al resto de zonas en 1,46 veces. La zona 1 (zona de fotoexposición crónica) y la zona 5 (zona rara vez fotoexpuesta) fueron protectoras frente al resto de zonas para el primer MSN. La zona 2 (zona de fotoexposición intermitente intensa) y la zona 4 (zona de fotoexposición intermitente leve) no mostraron asociación estadísticamente significativa con la presencia del primer MSN.
- El estudio del subtipo histológico mostró que el MES aumentaba el riesgo frente al resto de subtipos histológicos en hasta 4 veces más para la presencia de un primer MSN. Los subtipos histológicos de MN, MLA y LMM fueron factores protectores para la presencia del MSN.
- El índice de Breslow ≤ 1 mm aumentó el riesgo de un primer MSN en 1,82 veces más, mientras que el índice de Breslow > 4 mm fue factor protector.

- El sexo, el color de ojos, la presencia de lentigos solares y efélides, los antecedentes del uso de rayos UVA artificiales, los antecedentes familiares de MM y de cáncer de páncreas no mostraron asociación estadísticamente significativa con la presencia de un primer MSN.

Factores asociados a la presencia de un primer MSN (Univariado)				
Variables clínico-patológicas	OR	IC 95%	P	
Sexo: masculino vs. Femenino	1,03	0,8-1,34	NS	
Edad ≤ 50 años vs. > 50 años	1,92	1,31-2,37	<0,001	
≥50 nevus vs. < 50 nevus	1,78	1,25-2,55	0,001	
Al menos 1 nevo atípico vs. Ninguno	2,06	1,52-2,78	<0,001	
Ojos claros vs. Oscuros	0,78	0,59-1,02	NS	
Cast claro/Rubio vs. Cast oscuro/ Moreno	1,74	0,97-3,13	NS	
Presencia vs. Ausencia de efélides	1,29	0,95-1,75	NS	
Abundantes lentigos vs. Ausencia/Alguno	1,05	0,78-1,41	NS	
Quemaduras intensas Sí vs. No	1,43	1,1-1,87	0,008	
Quemaduras en área del MM vs. No	1,84	1,35-2,50	<0,001	
Profesión fotoexpuesta ≥15 vs. No	0,53	0,35-0,78	0,002	
Presencia vs. Ausencia queratosis actínicas	0,65	0,43-0,99	0,044	
RUVA Sí vs. NO	1,27	0,85-1,90	NS	
Antecedente familiar de MM Sí vs. No	1,14	0,65-1,93	NS	
Antecedente familiar de cá. Páncreas Sí vs. No	1,77	0,88-3,58	NS	
Clasificación localización simple	Tronco vs. Resto	2,66	2,04-3,46	<0,001
	EEII vs. Resto	0,72	0,51-1,02	NS
	EESS vs. Resto	0,98	0,68-1,41	NS
	Manos/Pies vs. Resto	0,32	0,17-0,61	<0,001
	Cabeza/Cuello vs. Resto	0,38	0,25-0,57	<0,001
Clasificación Localización en zonas fotoexposición	Zona 1 vs. Resto	0,65	0,46-0,92	0,016
	Zona 2 vs. Resto	1,23	0,93-1,63	NS
	Zona 3 vs. Resto	1,46	1,11-1,91	0,0016
	Zona 4 vs. Resto	0,92	0,55-1,53	NS
	Zona 5 vs. Resto	0,47	0,28-0,78	0,004
Tipo histológico	LMM vs. Resto	0,08	0,03-0,22	<0,001
	MES vs. Resto	4,09	2,90-5,76	<0,001
	MN vs. Resto	0,53	0,33-0,77	0,001
	MLA vs. Resto	0,15	0,05-0,49	0,002
Breslow	≤ 1 mm vs. Resto	1,82	1,37-2,42	<0,001
	1,01-4 mm vs. Resto	0,84	0,63-1,12	NS
	≥4,01 mm vs. Resto	0,32	0,19-0,55	<0,001

Tabla 53: Factores asociados a la presencia de un primer MSN NS: No significativo. Cast.Castaño

- Con respecto a las variables genéticas, se observó que la presencia de al menos 1 variante RHC aumentaba el riesgo en 1,5 veces de un MSN frente a la presencia de al menos una variante no-RHC. El estudio por separado de cada polimorfismo de MC1R en sus tres formas (consenso, no consenso en heterocigosis y en homocigosis) no mostró asociación estadísticamente significativa con el primer MSN (ANEXO VI).

La presencia de la mutación V600E de BRAF frente a la ausencia de esta no mostró asociación estadísticamente significativa con el MSN.

El estudio de los SNPs asociados a nevogenicidad en sus posibles combinaciones no mostró asociación estadísticamente significativa con la presencia de un primer MSN (ANEXO VII).

Factores asociados a la presencia de primer melanoma sobre nevo (Univariado)				
Variabes genéticas		OR	IC al 95%	P
Variantes RHC vs. No-RHC		1,5	1,12-2,02	0,007
Mutación BRAF sí vs. No		0,99	0,61-1,59	NS
SNP nevo-génico 1011970	Consenso	1	1	–
	Heterocigosis	1,3	0,46-3,66	NS
	Homocigosis	1,16	0,39-3,47	NS
SNP nevo-génico 10757257	Consenso	1	1	–
	Heterocigosis	0,94	0,50-1,78	NS
	Homocigosis	1,09	0,58-2,04	NS
SNP nevo-génico 7023329	Consenso	1	1	–
	Heterocigosis	1,1	0,63-1,92	NS
	Homocigosis	1,43	0,86-2,38	NS
SNP nevo-génico 2284063	Consenso	1	1	–
	Heterocigosis	1,2	0,67-2,14	NS
	Homocigosis	1,28	0,72-2,73	NS

Tabla 54: Factores genéticos asociados a la presencia del primer MSN en el IVO

- Para la realización del modelo multivariado no ajustado y ajustado por la edad, el sexo y el índice de Breslow, y la realización del modelo CART, se seleccionaron todas las variables que habían resultado significativas en el modelo univariado. Con el fin de no duplicar información se seleccionó la

localización del MM siguiendo el modelo clásico de localización en 5 zonas y no la nueva generada según los patrones de fotoexposición. Se tomó esta decisión puesto que la localización en las 5 zonas fue la que presentó unos valores de Wald más altos, y por tanto una mayor capacidad predictiva (ANEXO V)

Según la jerarquización de la metodología CART, se observó que en el primer nodo de decisiones para la presencia de un primer MSN se encontraba el subtipo histológico de MES frente al resto de subtipos.

- Siguiendo la rama del subtipo de MES, el siguiente nivel de decisiones que se encontró fue la localización en el tronco frente al resto de localizaciones.
 - o En los pacientes con subtipo histológico de MES y localización en el tronco, se obtuvo un tercer nivel que fue la variable de tener antecedentes de 16 ó menos años de fotoexposición laboral frente a más de 16 años. Aquellos que tenían antecedentes de más de 16 años de exposición solar laboral tenían un nivel siguiente basado en la presencia de variantes RHC frente a variantes no-RHC. Finalmente, los pacientes con MES, localizado en el tronco, con más de 16 años de exposición solar laboral y variantes RCH podían dividirse en un último nodo basado en la presencia de > 2 nevos clínicamente atípicos frente a ≤ 2 nevos clínicamente atípicos.
 - o En los pacientes con MES pero de localización diferente al tronco, se encontró el siguiente nodo de decisiones en la presencia de > 2 nevos clínicamente atípicos frente a ≤ 2 . En aquellos pacientes con MES, pero localización diferente al tronco y con > 2 nevos clínicamente atípicos el siguiente nivel de decisiones se encontró en presentar un índice de Breslow ≤ 1 mm frente a un índice de Breslow > 1 mm. Finalmente, los que presentaban un índice de Breslow ≤ 1 mm se clasificaron en función de si presentaban variantes RHC frente a variantes no-RHC.
- Siguiendo la rama del resto de subtipos histológicos (no- MES), se encontró en el primer nivel el MN frente al resto de subtipos histológicos (MLA y LMM). A

su vez, estos pacientes que tenían un MN se subclasificaron en un último nodo en función de la edad.

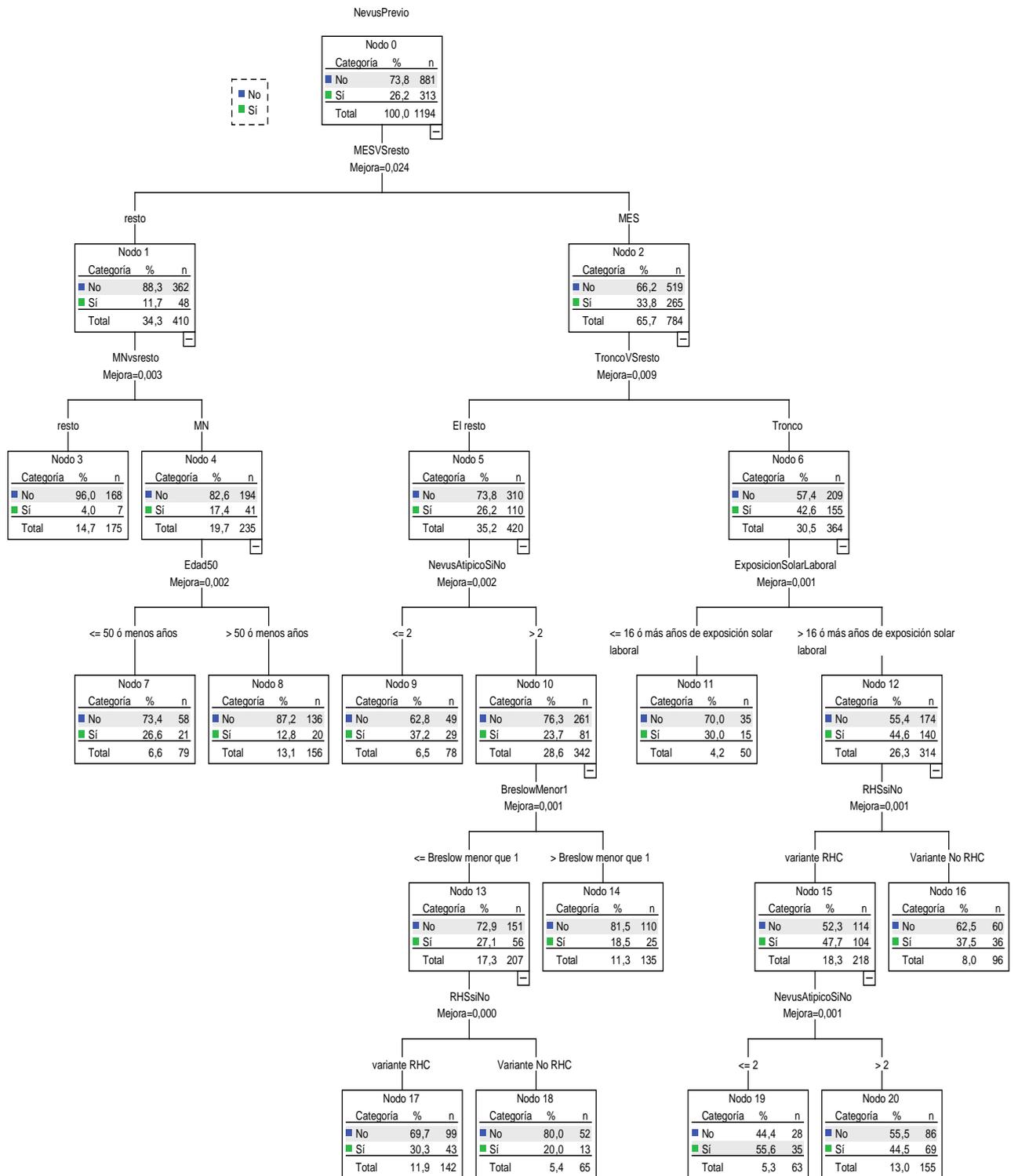


Figura 40: Árbol de decisiones de los factores asociados al primer MSN en la población del IVO

* Como se observa en los dos modelos anteriores, siguiendo la metodología de regresión logística univariada el MN es factor protector para la presencia de un primer MSN, pero siguiendo la metodología CART el MN es factor de riesgo para el primer MSN. Esta discordancia entre los resultados obtenidos tras la realización de las dos metodologías se explica por la figura del árbol de decisiones. En el modelo univariado se compara el MN frente al “resto”, y en este “resto” está incluido el MES. En el árbol de decisiones de la metodología CART se observa como en el primer nivel se encuentra el MES frente al resto. Una vez eliminados todos los casos de MES, en la otra rama del árbol se encuentra el MN frente al resto de subtipos (LMM y MLA). Por tanto, cuando se eliminan del conjunto los MES, el MN es factor de riesgo para la presencia de un MSN, y cuando se compara el MN frente al resto de melanomas, incluido el MES, el MN es factor protector para la presencia de un primer MSN.

Para la realización del estudio multivariado de los factores asociados a la presencia de un primer MSN, en un primer paso se introdujeron todas las variables que habían sido significativas en el modelo univariado. En este estudio se obtuvieron los siguientes resultados:

- La edad igual o menor a 50 años aumentó el riesgo de un primer MSN en 1,44 veces más.
- La presencia de al menos un nevo clínicamente atípico aumentó en 1,81 veces más el riesgo de un primer MSN frente a la ausencia de nevos atípicos.
- La presencia de variantes RHC de MC1R aumentó el riesgo de un primer MSN en 1,52 veces más frente a la presencia de variantes no-RHC.
- La localización del MM en el tronco aumentó en 1,70 veces más el riesgo de un primer MSN frente al resto de localizaciones.
- La localización en las manos y en los pies fue factor protector frente al resto de localizaciones.

Resultados

- El subtipo histológico de MES aumentó en 2,45 veces más el riesgo de un primer MSN frente al resto de subtipos histológicos.
- El resto de variables perdieron su significación estadística en este modelo.

Factores asociados a la presencia de un primer MSN (Multivariado sin ajustar)				
Variabes	OR	IC 95%	P	
Edad ≤ 50 años vs. > 50	1,44	1,02-2,03	0,039	
≥50 nevos vs. < 50 nevos	–	–	NS	
Al menos 1 nevo atípico vs. Ninguno	1,81	1,23-2,65	0,003	
Quemaduras en área del MM Sí vs. No	–	–	NS	
Profesión fotoexpuesta ≥15 Sí vs. No	–	–	NS	
Presencia vs. Ausencia queratosis actínicas	–	–	NS	
Clasificación localización simple	Tronco vs. Resto	1,70	1,20-2,40	0,003
	Manos/Pies vs. Resto	0,30	0,11-0,89	0,030
	Cabeza/Cuello vs. Resto	–	–	NS
Clasificación Localización en zonas fotoexposición	Zona 1 vs. Resto	–	–	NS
	Zona 3 vs. Resto	–	–	NS
	Zona 5 vs. Resto	–	–	NS
Tipo histológico	LMM vs. Resto	–	–	NS
	MES vs. Resto	2,45	1,59-3,78	<0,001
	MN vs. Resto	–	–	NS
	MLA vs. Resto	–	–	NS
RHC vs. no-RHC	1,52	1,06-2,18	0,023	

Tabla 55: Factores asociados al primer MSN en el IVO (estudio multivariado sin ajustar)

En un segundo paso, para la generación del modelo multivariado ajustado por variables que pudieran ser de confusión, se introdujeron las variables de la edad, el sexo y el índice de Breslow. La variable edad, además de introducirla en este modelo por haber mostrado significación estadística en el modelo univariado, se introdujo para evitar la posible confusión generada debido a que por fenómenos de senescencia celular a mayor edad del paciente suelen encontrarse una menor cantidad de nevos melanocíticos (menor proliferación melanocítica) y por el contrario, a menor edad del paciente suele haber una mayor cantidad de éstos.

El índice de Breslow se introdujo en este modelo ajustado puesto que en diversos trabajos previamente publicados del MSN encuentran que a menor índice de Breslow hay una mayor frecuencia de MSN y a mayor índice de Breslow el melanoma oblitera por completo en su crecimiento cualquier resto de nevo y por tanto es más complicado objetivar restos de nevo en el MM.

Tras la realización del modelo multivariado ajustado por la edad, el sexo y el índice de Breslow se mantuvieron las mismas variables significativas:

- La presencia de al menos un nevo clínicamente atípico frente a la ausencia de este aumentó en 1,82 veces más el riesgo de un primer MSN.
- La presencia de variantes RHC de MC1R aumentó el riesgo de un primer MSN en 1,56 veces más frente a la presencia de variantes no-RHC
- La localización en el tronco frente a las otras localizaciones aumentó el riesgo de un primer MSN en 1,80 veces más.
- La localización en las manos y en los pies frente al resto de localizaciones fueron protectoras para la presencia de un primer MSN.
- El subtipo histológico de MES aumentó el riesgo de un primer MSN en 2,29 veces más frente al resto de subtipos.
- La edad ≤ 50 años aumentó el riesgo de un primer MSN en 1,47 veces más frente a la edad > 50 años.

Factores asociados a la presencia de un primer MSN (Multivariado ajustado por edad, sexo e índice de Breslow)			
Variables	OR	IC 95%	P
Al menos 1 nevo atípico vs. Ninguno	1,81	1,24-2,65	0,002
Manos/pies vs. Resto	0,37	0,14-0,96	0,042
Tronco vs. Resto	1,8	1,28-2,52	0,001
MES vs. Resto	2,95	1,98-4,40	<0,001
RHC vs. no-RHC	1,56	1,1-2,22	0,013
Edad ≤50 vs. > 50 años	1,47	1,05-2,05	0,024

Tabla 56: Factores asociados al primer MSN en el IVO (Estudio multivariado ajustado)

Al estudiar qué variables perdían la significación estadística en el modelo multivariado a medida que se metían otras se observó:

- Al retirar del modelo el subtipo histológico de extensión superficial, aparecieron como significativos y protectores el LMM y el MN.
- Al retirar en el modelo multivariado la variable de tener un índice de Breslow inferior a 1 mm desapareció la significación estadística de las formas RHC frente a no-RHC
- Al retirar del modelo multivariado la variable de localización manos y pies, reaparecieron como variable significativa y factor de riesgo para el primer MSN los antecedentes de quemaduras solares en el área del MM.
- Al retirar la variable de localización en la cabeza y en el cuello, apareció la variable de exposición solar laboral crónica como variable protectora para la presencia de un MSN.

El test de Wald mostró que la variable con una mayor capacidad predictiva del MSN fue el subtipo histológico de MES frente al resto de subtipos histológicos. Le siguieron en poder predictivo la localización en el tronco frente al resto de localizaciones, la presencia de algún nevo clínicamente atípico, la presencia de variantes RHC de MC1r frente a variantes

no-RHC, la edad ≤ 50 años frente a > 50 años y finalmente, la localización en manos y pies frente al resto de localizaciones.

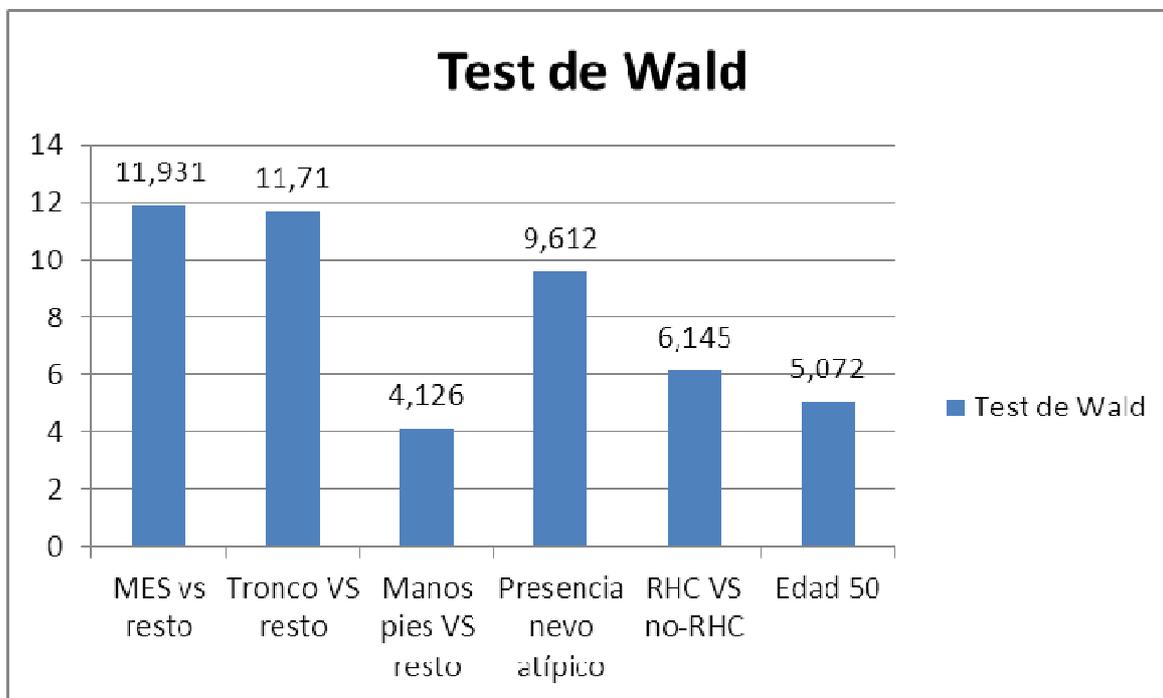


Figura 41: Test de Wald para las variables significativas del modelo ajustado para el primer MSN en el IVO

6.3.2. Estudio analítico de la población del Hospital Germans Trias i Pujol.

El estudio de regresión logística univariada de los factores asociados al MSN en la población del Hospital Germans Trias i Pujol mostró los siguientes resultados:

- La edad ≤ 50 años aumentó el riesgo en 1,53 veces para la presencia de un primer MSN frente a la edad > 50 años.
- Los antecedentes de algún familiar de primer grado diagnosticado de MM aumentaron el riesgo de tener un primer MSN en 1,76 veces más que en los casos en que no existían estos antecedentes.
- La localización en el tronco fue factor de riesgo frente a otras localizaciones, y las localizaciones en la cabeza y en las manos y pies fueron factores protectores para el primer MSN. Al igual que en el estudio univariado anterior de la

población del IVO, la localización en las extremidades (tanto superiores como inferiores) no mostró asociación estadísticamente significativa.

- El subtipo histológico de MES aumentó el riesgo en hasta tres veces más para la presencia de un primer MSN. Los subtipos de MN, MLA y LMM fueron protectores.
- El índice de Breslow inferior ≤ 1 mm aumentó el riesgo de MSN en 2,74 veces más frente al resto de índices de Breslow.
- El índice de Breslow entre 1,01 y 4 mm así como el índice de Breslow $> 4,01$ mm fueron factores protectores para la presencia del MSN.

Factores asociados a la presencia de un primer MSN (Univariado)				
Variable		OR	IC 95%	P
Sexo: masculino vs. Femenino		0,98	0,72-1,32	NS
Edad ≤ 50 años vs. > 50		1,53	1,13-2,07	0,006
>50 nevos vs. < 50 nevos		1,29	0,84-2	NS
Fototipo I-II vs. III-IV		1,21	0,88-1,67	NS
Antecedentes familiar con MM vs. No		1,76	1,03-2,98	0,037
Localización	Cabeza vs. Resto	0,53	0,33-0,85	0,008
	Tronco vs. Resto	1,68	1,24-2,28	0,001
	EESS vs. Resto	1,36	0,87-2,14	NS
	EEII vs. Resto	1,01	0,69-1,46	NS
	Manos y pies vs. Resto	0,27	0,12-0,59	0,001
Tipo histológico	MES vs. Resto	3,03	2,03-4,51	$<0,001$
	MN vs. Resto	0,52	0,33-0,81	0,004
	MLA vs. Resto	0,144	0,03-0,59	0,007
	LMM vs. Resto	0,36	0,16-0,84	0,018
Breslow	≤ 1 mm	2,74	1,95-3,87	$<0,001$
	1,01- 4 mm	0,52	0,36-0,75	$< 0,01$
	$\geq 4,01$ mm	0,3	0,15-0,63	0,001

Tabla 57: Factores asociados al primer MSN en el Hospital Germans Trias i Pujol (Estudio univariado)

Al realizar la metodología CART de las variables significativas del modelo univariado se obtuvo que en el primer nivel de decisiones, al igual que sucedió en el estudio anterior sobre la población del IVO, se encontraba el MES frente al resto de subtipos histológicos.

- En la rama del MES, se encontró la primera subdivisión en función del índice de Breslow ≤ 1 mm frente al resto. El grupo de los pacientes que presentaron un MES con un índice de Breslow ≤ 1 mm se dividió en función de si la localización fue en el tronco o no. En los que presentaron la localización en el tronco el siguiente nivel de decisiones se realizó en función de la edad (≤ 50 frente a > 50). Los pacientes que presentaron un MES de ≤ 1 mm de Breslow en otra localización que no fuera el tronco presentaron la subdivisión en función de si la localización era en la cabeza/cuello frente a las restantes localizaciones.

- En la rama de los otros subtipos histológicos, la primera división que se encontró fue el Breslow ≤ 1 mm frente al Breslow comprendido entre 1,01 y 4 mm. El siguiente nivel de decisiones en los pacientes que presentaron un Breslow de 1,01 a 4 mm fue en función de la localización en la cabeza/cuello frente al resto de localizaciones.

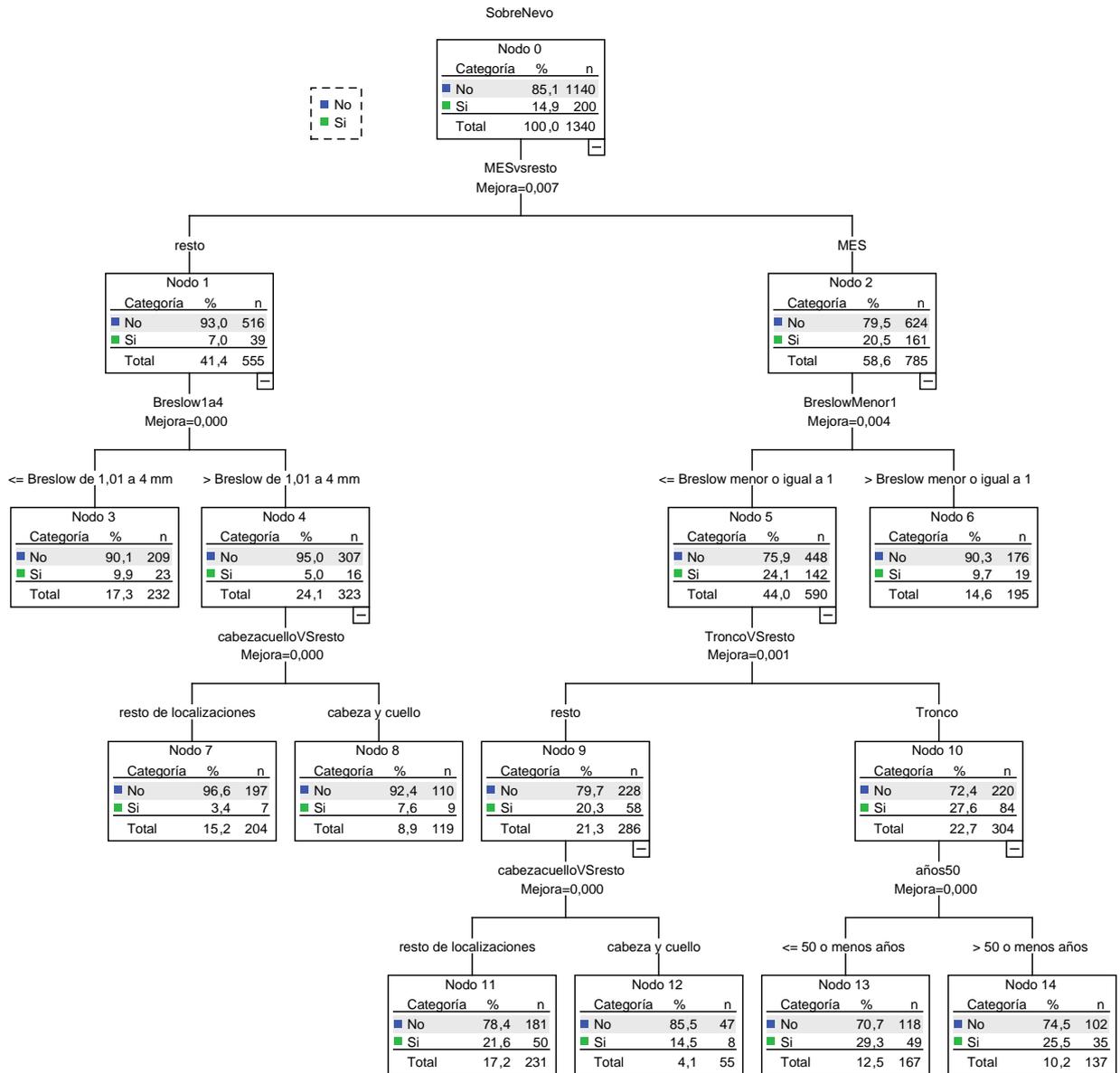


Figura 42: Árbol de decisiones para la presencia de un primer MSN en la población del Hospital Germans Trias i Pujol

Tras generar el modelo multivariado sin ajustar con las variables que habían sido significativas en el univariado se encontraron los siguientes resultados:

- Los antecedentes de algún familiar de primer grado con diagnóstico de MM aumentaron en 1,9 veces más el riesgo de la presencia de un primer MSN frente a los pacientes que no referían tener dichos antecedentes

- La localización en manos y pies fue protectora para la presencia de un primer MSN frente al resto de localizaciones.
- El subtipo histológico de MES aumentó en 2,65 veces más el riesgo de MSN frente a los otros subtipos histológicos.
- El resto de variables no mostraron significación estadística en este modelo multivariado.

Factores asociados a la presencia de un primer MSN (Multivariado sin ajustar)				
Variables		OR	IC 95%	P
Edad ≤50 años vs. > 50				NS
Antecedentes familiares de MM Sí vs. No		1,9	1,04-3,46	0,036
Localización	Cabeza vs. Resto			NS
	Tronco vs. Resto			NS
	Manos/pies vs. Resto	0,39	1,70-4,15	<0,001
Tipo histológico	MES vs. Resto subtipos	2,65	1,7-4,15	<0,001
	MN vs. Resto subtipos			NS
	MLA vs. Resto subtipos			NS
	LMM vs. Resto subtipos			NS

Tabla 58: Factores asociados a la presencia de un primer MSN en la población del Hospital Germans Trias i Pujol (Modelo multivariado sin ajustar)

Tras ajustar el modelo por la edad, el sexo y el índice de Breslow se mantuvieron como variables significativas los antecedentes familiares de MM y el subtipo histológico de MES.

Factores asociados a un primer MSN (Multivariado ajustado por edad, sexo y Breslow)			
Variable	OR	IC 95%	P
Antecedentes familiares Sí vs. No	1,86	1,01-3,40	0,046
MES vs. Resto de subtipos	2,25	1,36-3,74	0,002

Tabla 59: Factores asociados al primer MSN en la población del Hospital Germans Trias i Pujol (Modelo multivariado ajustado)

De acuerdo con el valor estadístico del test de Wald se observó que de las dos variables obtenidas en el estudio multivariado, la variable con un mayor poder predictivo fue el subtipo histológico de MES.

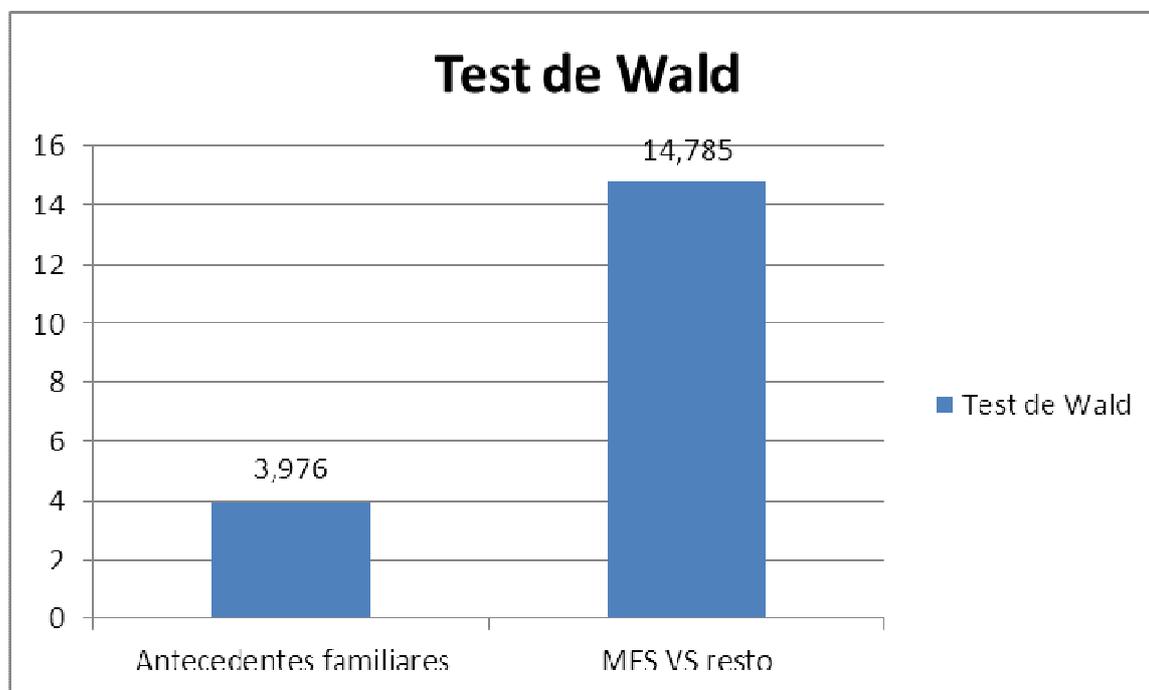


Figura 43: Test de Wald para las variables significativas del modelo multivariado ajustado

6.3.3. Estudio analítico de los factores asociados a la presencia de un primer MSN en la base de datos conjunta.

El análisis conjunto de las variables registradas en las dos bases de datos mostró los siguientes resultados:

En el análisis univariado se encontraron como variables significativas:

- La edad ≤ 50 años aumentó el riesgo en 1,73 veces para la presencia de un primer MSN frente a la edad > 50 años
- La presencia de ≥ 50 nevos melanocítico adquiridos comunes aumentó en 1,6 veces el riesgo de un primer MSN frente a la presencia de < 50 nevos.

- La localización en el tronco aumentó en 2,14 veces más el riesgo de un primer MSN frente al resto de localizaciones.
- La localización en las manos y los pies fueron localizaciones protectoras para el primer MSN frente al resto de localizaciones.
- La localización en la cabeza y en el cuello fueron protectoras para el MSN frente al resto de localizaciones.
- El subtipo histológico de MES aumentó el riesgo de MSN en 3,74 veces más frente al resto de subtipos.
- El subtipo histológico de MN fue protector para el MSN frente al resto de subtipos histológicos.
- El subtipo histológico de MLA fue protector para el MSN frente al resto de subtipos histológicos
- El subtipo histológico de LMM fue protector frente al resto de subtipos histológicos para el MSN.
- El índice de Breslow ≤ 1 mm aumentó el riesgo de MSN en 1,67 veces frente al resto de índices de Breslow
- El índice de Breslow de 1,01 a 4,00 mm fue factor protector para la presencia de un primer MSN.
- No se encontró asociación estadísticamente significativa para la presencia de antecedentes familiares de MM y el primer MSN.

Factores asociados a la presencia de un primer MSN en la base de datos conjunta (Univariado)				
Variables clínico-patológicas		OR	IC 95%	P
Sexo: masculino vs. Femenino		1,05	0,86-1,28	NS
Edad inferior a 50 años vs. Superior a 50		1,73	1,42-2,11	>0,001
>50 nevos vs. < 50 nevos		1,6	1,22-21	0,001
Clasificación localización simple	Tronco vs. Resto	2,14	1,76-2,60	<0,001
	Manos/Pies vs. Resto	0,29	0,180,47	>0,001
	EEII vs. Resto	0,83	0,64-1,06	NS
	EES vs. Resto	1,178	0,89-1,56	NS
	Cabeza/Cuello vs. Resto	0,44	0,35-0,60	<0,001
Tipo histológico	MES vs. Resto subtipos	3,74	2,89-4,84	<0,001
	MN vs. Resto subtipos	0,49	0,37-0,65	<0,001
	LMM vs. Resto subtipos	0,16	0,09-0,31	<0,001
	MLA vs. Resto subtipos	0,14	0,06-0,34	<0,001
Antecedentes familiares de MM sí vs. No		1,31	0,89-1,92	NS
Breslow	≤ 1mm	1,67	1,37-2,03	<0,001
	1- 4,00 mm	0,51	0,41-0,62	< 0,001
	> 4,01	0,254		< 0,001

Tabla 60: Factores asociados a la presencia de un primer MSN en la base de datos conjunta (Estudio univariado)

Tras la realización de la metodología CART del árbol de decisiones se obtuvo en el primer nivel de decisiones el subtipo histológico de MES frente al resto de subtipos.

- Para aquellos pacientes que presentaron un MES, el siguiente nivel de decisiones vino marcado por la localización en el tronco frente al resto de localizaciones.
 - o En aquellos pacientes que presentaron un MES en el tronco, el siguiente nivel de decisión vino marcado por el índice de Breslow $\leq 4,00$ mm (valor de la categoría “2”) frente a los que presentaron un Breslow $> 4,01$ mm
 - o En aquellos pacientes que presentaron un MES localizado en otra zona corporal que no fuera el tronco, el siguiente nivel de decisiones se encontró al igual que en la anterior rama en un Breslow $\leq 4,00$ mm frente

a un Breslow $>4,00$ mm. Estos últimos pacientes mostraron un nivel más de decisiones basado en la edad (≤ 50 años frente a >50 años)

- Para aquellos pacientes que no presentaron un MES, el siguiente nivel de decisiones se encontró en tener un MN frente a los restantes subtipos histológicos (LMM y MLA). El siguiente nivel para los pacientes que desarrollaron un MN, se encontró marcado por la presencia de un índice de Breslow ≤ 4 mm frente a $\geq 4,01$ mm. En los pacientes de este último grupo que presentaron un índice de Breslow < 4 mm se encontró un último nivel generado por la localización de cabeza/cuello frente al resto de localizaciones (no tronco)

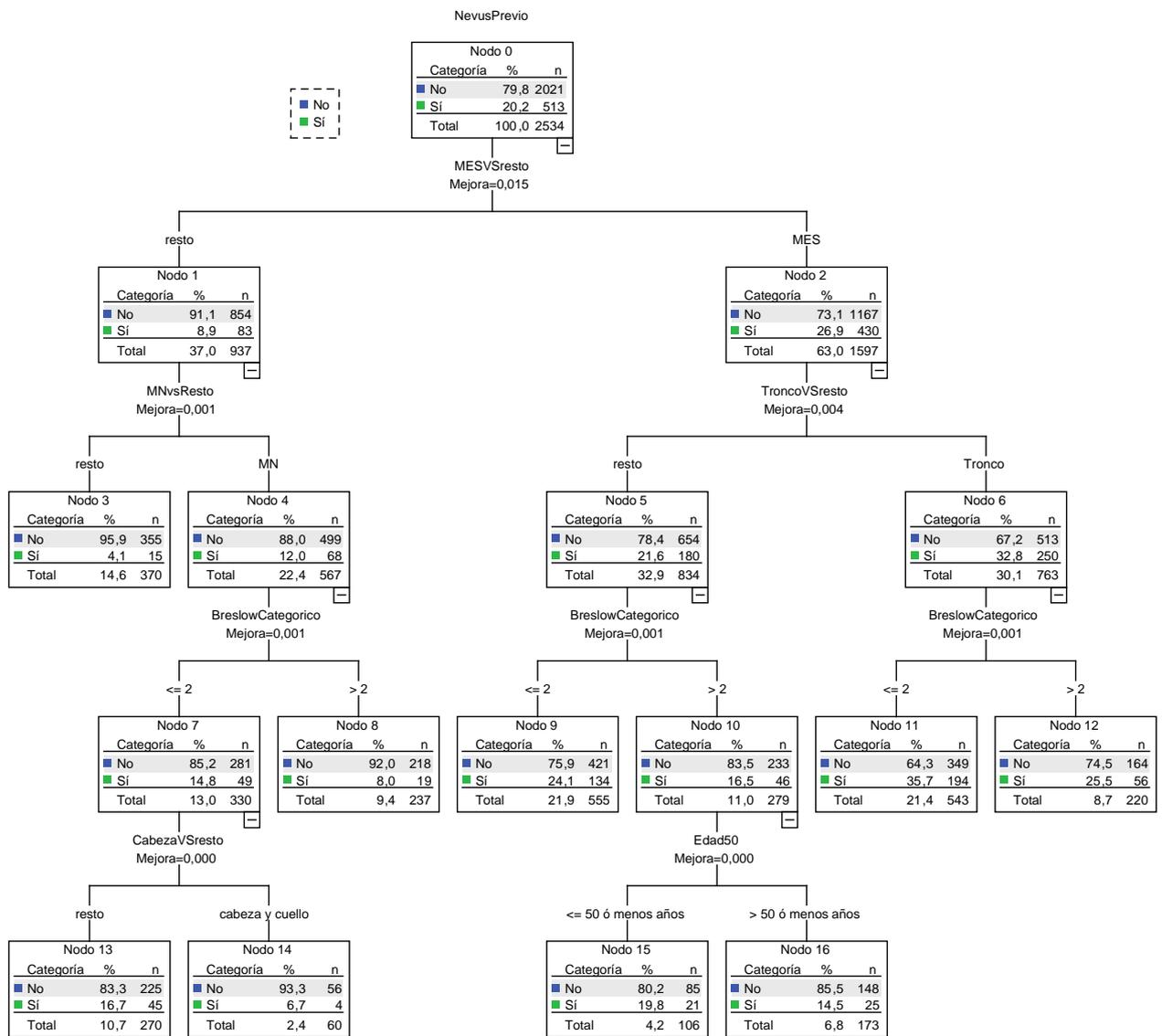


Figura 44: Árbol de decisiones para los factores asociados al primer MSN en la base de datos conjunta

Resultados

Tras la realización del modelo multivariado no ajustado se obtuvieron los siguientes resultados:

- La edad ≤ 50 años aumentó en 1,29 veces el riesgo de un primer MSN frente a la edad > 50 años.
- La localización en el tronco aumentó en 1,62 veces el riesgo de un primer MSN frente a otras localizaciones
- El subtipo histológico de MES aumentó el riesgo de MSN en 7,36 veces frente al resto de subtipos histológicos, y el subtipo histológico MN aumentó el riesgo de MSN en hasta 3,83 veces frente a los otros subtipos histológicos.
- El índice de Breslow $\leq 1,00$ mm fue factor protector para el MSN frente al resto de índice de Breslow
- El índice de Breslow comprendido entre 1,01 y 4 mm fue factor protector para el MSN frente al resto de índices de Breslow

Factores asociados a un primer MSN en la base de datos conjunta (Multivariado sin ajustar)				
Variables clínico-patológicas		OR	IC 95%	P
Edad ≤ 50 años vs. > 50 años		1,29	1,03-1,61	0,023
> 50 nevos vs. < 50 nevos		–	–	NS
Clasificación localización simple	Tronco vs. Resto	1,62	1,30-2,02	$< 0,001$
	Manos/Pies vs. Resto	–	–	NS
	Cabeza/Cuello vs. Resto	–	–	NS
Tipo histológico	MES vs. Resto	7,36	4,18-12,98	$< 0,001$
	MN vs. Resto	3,83	2,02-7,26	0,001
	LMM vs. Resto	–	–	NS
	MLA vs. Resto	–	–	NS
Índice de Breslow	Breslow $\leq 1,00$ mm	0,51	0,34-0,77	0,001
	Breslow 1,01-4,00 mm	0,38	0,25-0,59	$< 0,001$
	Breslow $\geq 4,01$ mm			NS

Tabla 61: Factores asociados al primer MSN en la base de datos conjunta (Modelo multivariado sin ajustar)

Tras ajustar el modelo por la edad, el sexo, el índice de Breslow y el hospital de origen se perdió la variable de índice de Breslow $\leq 1\text{mm}$, manteniéndose el resto de variables significativas:

- La edad ≤ 50 años aumentó en 1,28 veces más el riesgo de un primer MSN frente a la edad >50 años.
- La localización en el tronco aumentó en 1,66 veces más el riesgo de un primer MSN frente al resto de localizaciones.
- El subtipo histológico de MES aumentó en 6,95 veces más el riesgo de un primer MSN frente al resto de subtipos histológicos.
- El subtipo de MN aumentó el riesgo de MSN en 4,18 veces frente al resto de subtipos histológicos.
- El índice de Breslow comprendido entre 1,01 y 4,00 mm disminuyó el riesgo a la mitad para la presencia de un primer MSN con respecto a los otros índices de Breslow

Factores asociados al primer MSN en la base de datos conjunta (Multivariado ajustado por edad, sexo y hospital de origen)			
Variables	OR	IC 95%	P
Edad ≤ 50 años vs. > 50 años	1,28	1,03-1,60	0,027
Tronco vs. Resto de localizaciones	1,66	1,32-2,08	$< 0,001$
MES vs. Resto de subtipos	6,95	3,40-12,09	$<0,001$
MN vs. Resto de subtipos	4,18	2,224-7,81	$< 0,001$
Breslow 1,01- 4,00 mm	0,5	0,33-0,78	0,002

Tabla 62: Factores asociados al primer MSN en la base de datos conjunta (Multivariado ajustado)

De todas las variables significativas, la que mostró un mayor poder predictivo fue el subtipo histológico de MES frente al resto de subtipos, seguido del MN frente al resto de subtipos, la localización en el tronco frente al resto de localizaciones y el índice de Breslow comprendido entre 1,01 y 4,00 mm.

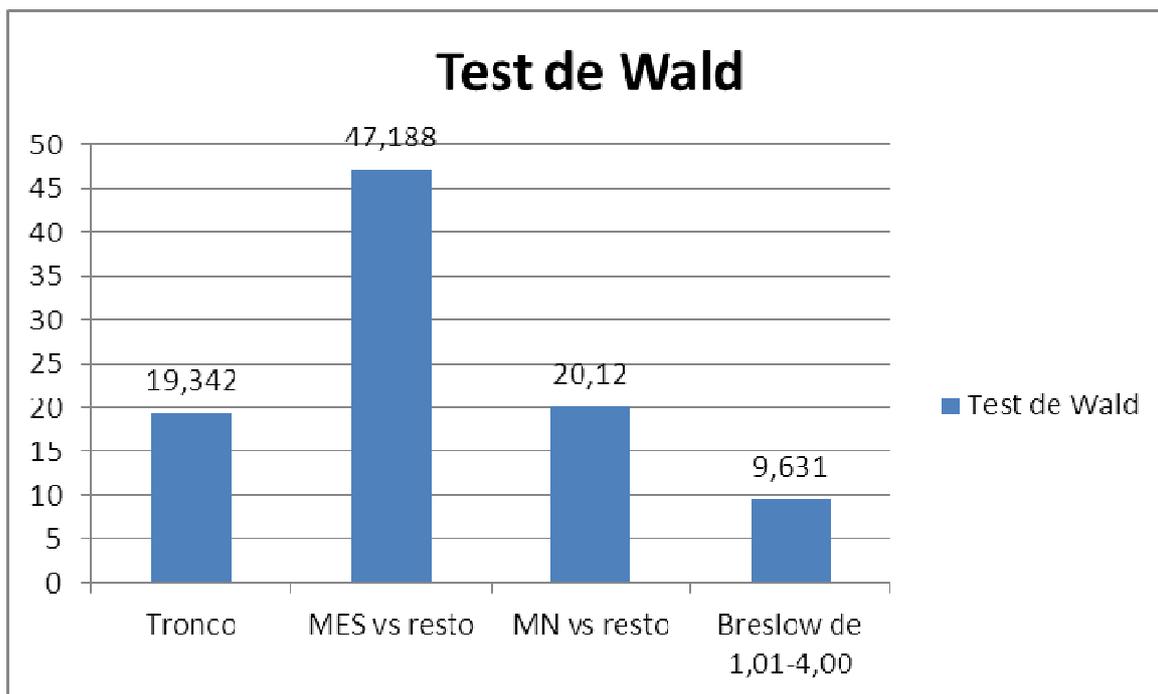


Figura 45: Valores de Wald para los factores asociados significativamente al primer MSN en la base de datos conjunta

6.4. Estudio analítico de los factores epidemiológicos, clínicos y genéticos asociados a la presencia de un segundo MSN

6.4.1. Estudio analítico de la población del IVO

Como se ha descrito en el apartado correspondiente de material y métodos, para el estudio analítico de los factores asociados al segundo MSN algunas variables se volvieron a categorizar.

La edad se categorizó en ≤ 60 años frente a > 60 años siguiendo el valor de la mediana de edad de segundos MSN puesto que la metodología CART no mostró ningún punto crítico.

De la misma manera, los años de exposición solar laboral y el número de mitosis por mm^2 se categorizaron respectivamente en ≥ 1 año frente a < 1 año y al menos 1 mitosis frente a ninguna mitosis por mm^2 atendiendo al valor de la mediana de cada variable.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el estudio descriptivo del segundo MSN para la variable localización y la variable de subtipo histológico, se seleccionaron las localizaciones y subtipos más frecuentes. Con respecto a la localización, se seleccionó el tronco *vs.* El resto de localizaciones y la cabeza *vs.* El resto de localizaciones. Con respecto a la variable de subtipo histológico, se seleccionó el MES *vs.* El resto de subtipos y el MN *vs.* El resto de subtipos.

Para el estudio de las variantes del gen MC1R, dado el reducido número de pacientes con más de un MM, sólo se estudió la variable de tener al menos una variante RHC frente a tener al menos una variante no-RHC.

Para el estudio de los polimorfismos aislados de nucleótidos asociados a nevogenicidad se seleccionó el polimorfismo rs7023329. Se seleccionó este polimorfismo al ser el que mostró una mayor diferencia de frecuencias entre las variantes consenso y las variantes no consenso en homocigosis y heterocigosis.

No se incluyó el estudio de la mutación BRAF al ser muy pocos los casos contabilizados en el segundo MSN.

El estudio univariado de los factores asociados a un segundo MSN en la población del IVO mostró como única variable significativa el sexo masculino frente al femenino. Este mostró un aumento de 6 veces más el riesgo de un segundo MSN frente al sexo femenino. La presencia del antecedente de un primer MSN mostró cierta tendencia a aumentar el riesgo de un segundo MSN, pero esta tendencia no mostró significación estadística.

Factores asociados a un segundo MSN (Estudio Univariado)				
Variable	OR	IC 95%	P	
Sexo: masculino vs. Femenino	6,07	1,14-32,41	0,035	
≤60 años vs. > 60 años	0,87	0,225-3,34	NS	
≥ 50 nevos vs. < 50 nevos	1,64	0,38-7,13	NS	
Al menos 1 nevo atípico vs. Ninguno	0,81	0,21-3,18	NS	
Ojos claros vs. Oscuros	0,79	0,17-3,78	NS	
Rubio/castaño claro vs. Castaño oscuro/moreno	0	-	NS	
Presencia vs. Ausencia de efélides	0,85	0,13-5,51	NS	
Abundantes lentigos vs. Ausencia/algún lentigo	0,63	0,09-4,35	NS	
Quemaduras área del MM vs. No	1,09	0,23-5,07	NS	
Profesión fotoexpuesta ≥1 año vs. < 1 año	0,7	0,15-3,16	NS	
Presencia vs. Ausencia Queratosis actínicas	1,57	0,36-6,84	NS	
RUVA Sí vs. NO	0,81	0,08-8,75	NS	
Antecedentes familiares de MM sí vs. No	0	-	NS	
Antecedentes familiar de ca. Páncreas vs. No	0	-	NS	
Localización	Cabeza/cuello vs. Resto	1,73	0,34-8,76	NS
	Tronco vs. Resto	1,77	0,44-6,55	NS
Tipo Histo-lógico	MES vs. Resto	1,14	0,24-5,33	NS
	MN vs. Resto	0,89	0,15-5,24	NS
Primer MSN vs. MDN	3,29	0,73-14,74	NS	
Índice de Breslow	≤ 1mm	0,57	0,14-2,35	NS
	1,01- 4,00 mm	1,98	0,47-8,40	NS
	≥ 4,01 mm	0,8	0,07-8,65	NS
Presencia vs. ausencia de mitosis	1,43	0,32-6,45	NS	
Ulceración histológica sí vs. No	0	-	NS	
Variante RHC vs. No-RHC	1,78	0,38-8,27	NS	
rs7023329	Consenso vs. Homocigosis-Heterocigosis	0,26	0,02-2,73	NS

Tabla 63: Factores asociados al segundo MSN en el IVO (Estudio univariado)

Tras ser la variable “sexo” ajustada por la edad y el índice de Breslow ésta perdió la significación estadística, y sólo mantuvo cierta tendencia al aumento del riesgo del sexo masculino frente al femenino.

Factores asociados a un segundo MSN (Ajustado por edad)			
Variable	OR	IC 95%	P
Sexo: masculino VS femenino	2,46	0,29- 20,70	0,41

Tabla 64: Factores asociados al segundo MSN en el IVO (Modelo multivariado ajustado)

6.4.3. Estudio analítico de los factores asociados al segundo MSN de la población de la base de datos conjunta

El estudio analítico de los 53 pacientes que presentaron más de un MM, mostró como única variable significativa el sexo masculino frente al femenino. El sexo masculino aumentó el riesgo de un segundo MSN en 4,74 veces más frente al sexo femenino.

De nuevo, el antecedente de haber presentado un primer MSN no mostró asociación estadísticamente significativa con la presencia de un segundo MSN

Factores asociados al segundo melanoma sobre nevo (estudio Univariado)				
Variable	OR	IC 95%	P	
Sexo: masculino vs. Femenino	4,74	1,14-19,72	0,03	
≤60 años vs. >60 años	0,87	0,25-3	NS	
>50 nevos vs. ≤ 50 nevos	1,56	0,42-5,77	NS	
Antecedente familiar MM Sí vs. No	0,92	0,16-5,18	NS	
Localización	Cabeza vs. Resto	2,2	0,52-9,37	NS
	Tronco vs. Resto	1,72	0,50-5,92	NS
Subtipo Histológico	MES vs. Resto	1,22	0,31-4,74	NS
	MN vs. Resto	1,55	0,33-7,36	NS
Primer MSN vs. Primer MDN	3,44	0,81-14,61	NS	
Índice de Breslow	≤1,00 mm	0,64	0,19-2,20	NS
	1,01-4 mm	1,79	0,52-6,14	NS
	>4 mm	0,36	–	NS

Tabla 65: Factores asociados al segundo MSN en la base de datos conjunta (estudio univariado)

El estudio multivariado ajustado por la edad, el hospital de origen y el índice de Breslow, mantuvo como significativa la variable “sexo” para la presencia de un segundo MSN.

Resultados

El sexo masculino aumentó en 5,54 veces más el riesgo del segundo MSN frente al sexo femenino.

Factores asociados al segundo MSN (Multivariado ajustado por edad, índice de Breslow hospital de origen)			
Variable	OR	IC 95%	P
Sexo: masculino vs. Femenino	5,54	1,18-26,03	0,03

Tabla 66: Factores asociados al segundo MSN en la base de datos conjunta (Modelo multivariado ajustado)

7. Discusión

*Factores clínicos, epidemiológicos, anatomopatológicos y genéticos
asociados al melanoma sobre nevo*

La presente tesis doctoral se realizó sobre un total de 2714 pacientes diagnosticados de al menos un MM cutáneo y pertenecientes a dos áreas sanitarias diferentes (Instituto Valenciano de Oncología y Hospital Germans Trias i Pujol).

En un 20,2% de estos 2714 pacientes el MM se encontró en asociación histológica a un nevo melanocítico. Un 2,3% de estos pacientes presentó durante el seguimiento un segundo MM cutáneo primario. El 26,4% de estos segundos melanomas cutáneos presentaron asociación histológica a un nevo melanocítico.

La localización más frecuente del primer y del segundo MSN fue el tronco. En el nuevo modelo de localización generado atendiendo al patrón de fotoexposición referido por el paciente y explorado por el dermatólogo, la localización más frecuente del primer MSN fue la zona de fotoexposición intermitente moderada y del segundo MSN la zona de fotoexposición intermitente intensa.

Tras unificar las bases de datos para las variables que habían sido recogidas de la misma manera en las dos poblaciones, se obtuvo que la edad ≤ 50 años frente a >50 años, la localización en el tronco frente al resto de localizaciones y los subtipos histológicos de MES y MN frente al resto de subtipos, eran factores de riesgo independientes asociados a la presencia de un primer MSN. En menos del 50% de los pacientes que presentaron un primer MSN se encontró un índice de Breslow comprendido entre 1,01 y 4,00 mm. Además, la presencia de al menos un nevo clínicamente atípico frente a la ausencia de este y la presencia de al menos una variante RHC frente a una variante no-RHC (datos exclusivamente recogidos en la población del IVO) fueron factores asociados al primer MSN.

Al estudiar los factores asociados a la presencia de un segundo MSN, se obtuvo el sexo masculino frente al femenino como único factor de riesgo independiente.

El estudio descriptivo de la incidencia acumulada de la mutación del gen BRAF en la población del IVO, mostró que en un 69% de los casos no se encontraba dicha mutación.

Esta misma incidencia se mantuvo al subdividir en MSN y MDN y tanto en el caso del primer MM como del segundo MM.

El estudio descriptivo de la incidencia acumulada de las variantes del gen MC1R en la población diagnosticada de al menos un MM cutáneo en el IVO mostró que la variante más frecuentemente encontrada en las formas alélicas no comunes (*no consenso*) era la R142H (variante RHC). La segunda variante más frecuentemente encontrada fue la V92M (variante no-RHC). En dos terceras partes de los pacientes diagnosticados de un primer MSN se encontró al menos una variante RHC en homocigosis o en heterocigosis.

El SNP nevogénico más frecuentemente encontrado en la población diagnosticada de al menos un melanoma cutáneo fue el rs7023329 localizado en el gen MTAP, muy próximo al gen CDKN2A. Los pacientes con diagnóstico de un primer MSN presentaron unas frecuencias ligeramente superiores de SNPs nevogénicos que los pacientes con diagnóstico de un primer MDN. Sin embargo, ningún SNPs nevogénico mostró asociación estadísticamente significativa con la presencia de un primer o segundo MSN.

Uno de objetivos principales de la presente tesis fue la búsqueda de los factores asociados a la presencia de un primer MSN con el fin de analizar si estos eran los mismos que los descritos para la vía de la inestabilidad de células pigmentarias de Whiteman [9, 57]. En caso de que fueran los mismos, si un paciente presentaba un primer MSN muy probablemente habría desarrollado el MM por la vía de la inestabilidad de las células pigmentarias. Además, puesto que los pacientes que presentan un primer MM tienen más riesgo que la población general de presentar un segundo MM primario, el segundo objetivo principal fue el análisis de los factores asociados a la presencia de un segundo MSN.

Con anterioridad al inicio de esta tesis ya fue presentado el trabajo antesala de la misma [60]. En este trabajo se buscaron los factores clínicos, epidemiológicos y anatomopatológicos (sin incluir los genéticos) asociados a la presencia de un primer y de un segundo MSN. Para ello se recogieron los datos de 981 pacientes diagnosticados de al menos un MM cutáneo y de 45 pacientes con más de un MM cutáneo en seguimiento en el IVO desde Enero de 1990 hasta el 31 de Mayo de 2009. Como variables epidemiológicas se seleccionaron el sexo, la edad y localización del MM. Al igual que en el presente trabajo

el sexo se dividió en masculino o femenino y la localización en cabeza/cuello, miembros superiores, miembros inferiores, tronco y acral. A diferencia del actual trabajo la edad se dividió en menores de 40 años, de 40 a 60 años y mayores de 60 años. Con respecto a los antecedentes ambientales, también se recogieron los antecedentes de quemaduras solares en el área del MM y la exposición solar laboral. Esta última variable, a diferencia de en la presente tesis, se dividió en 20 ó más años frente a menos de 20 años. Dentro de las variables histológicas se subdividieron los subtipos histológicos en MES, MN, MLA, LMM y “otros melanomas” y en el estudio analítico se comparó cada subtipo con respecto al LMM. Tras el análisis multivariado ajustado por la edad y por el sexo, se obtuvo que la edad inferior a 40 años frente a la superior a 70 y la localización en el tronco frente a la cabeza y el cuello eran factores de riesgo independientes asociados a la presencia de un primer MSN. El único factor que se asoció a la presencia de un segundo MSN fue el haber presentado un primer MSN.

En la presente tesis se amplió y actualizó el número de casos. Por una parte se recogieron de la base de datos del IVO unos casos más actuales que en el anterior trabajo (desde el 1 de Enero de 2000 hasta Junio de 2013) recogidos con motivo del análisis de las variantes de MC1R y de los polimorfismos aislados asociados a nevogenicidad. Por otra parte, se añadió una nueva base de datos perteneciente a otra población mediterránea con unas características similares (1340 casos de al menos un MM cutáneo y 10 casos de más de un MM cutáneo del Hospital Germans Trias i Pujol). Con esto se amplió el número de pacientes a 2714 con diagnóstico de al menos un MM cutáneo y 53 con diagnóstico de más de un MM cutáneo. La división en los dos grupos de edad así como en el número de años de exposición solar laboral se realizó atendiendo exclusivamente a criterios estadísticos objetivos. Se suprimieron del cómputo total todos aquellos casos cuyo subtipo histológico no fuera MES, MN, LMM y MLA (“otros” según la clasificación anterior) con el fin de tener una base de datos lo más homogénea posible, seleccionar los mismos subtipos histológicos que seleccionan en la bibliografía referente a los factores asociados al MSN, y evitar que se pudieran incluir en la base de datos casos de melanomas mucosos o de origen primario desconocido (casos “inclasificables” en la base de datos del Hospital Germans Trias i Pujol). Tanto para la variable de localización como para la variable del subtipo histológico, se estudió cada categoría con respecto al conjunto restante, y no con respecto al LMM o a la localización en cabeza y cuello como en el trabajo anterior. Además se

aportó una clasificación basada en la localización específica del MM en las dos poblaciones, y una novedosa clasificación basada en la localización específica y el patrón de fotoexposición de esa zona en la población del IVO. Por último, dado que en los escasos trabajos publicados del MSN hablan de la importancia del índice de Breslow a la hora de evaluar su frecuencia (a menor Breslow más frecuencia de MSN y viceversa), en el presente trabajo a diferencia del anterior se introdujo esta variable en el ajuste del modelo multivariado.

En el estudio estadístico de los factores asociados a la presencia de un primer MSN en la población del IVO, de forma similar al estudio precedente se encontró que la edad más joven (en este caso ≤ 50 años frente a la edad >50 años) y localización en el tronco frente al resto de localizaciones eran factores de riesgo independientes [60]. Además, y a diferencia del anterior trabajo, mostraron una asociación estadísticamente significativa la presencia frente a la ausencia de al menos un nevo clínicamente atípico, el subtipo histológico de MES frente al resto de subtipos, y las variantes RHC de MC1R (que no fueron estudiadas en el anterior trabajo) frente a las variantes no-RHC. En el estudio de los factores asociados a un segundo MSN, a diferencia del anterior trabajo en donde no se había depurado tanto la base de datos y no se había añadido una nueva población a estudio, sólo el sexo masculino frente al femenino mostró asociación estadísticamente significativa con la presencia de un segundo MSN.

En el trabajo más semejante al aquí expuesto sobre los factores asociados de manera específica al MSN realizado por Bevona y colaboradores, también se obtuvieron como factores independientes asociados al MSN la edad joven (OR: 1,27, $p < 0,001$), la localización en el tronco frente al resto de localizaciones (OR:3,26, $p < 0,001$) y el subtipo histológico de extensión superficial frente al resto de subtipos (OR: 2,96, $p < 0,001$) [93]. Sin embargo, en este estudio realizado sobre 1606 pacientes se observa la limitación de ser un estudio retrospectivo, y de que en algunos casos el diagnóstico histológico de MSN o MDN se realizó sobre muestras tomadas mediante afeitados o punch, no pudiéndose realizar en estos casos el estudio histológico completo de toda la pieza. La variable edad se estudió de 10 en 10 años y no se categorizó como en el presente trabajo en ≤ 50 años frente a >50 años.

La variable edad medida de 10 en 10 años también mostró asociación estadísticamente significativa con el MSN en el trabajo de Skender-Kalmenas y colaboradores[95]. A diferencia de en el trabajo aquí expuesto y del trabajo de Bevona y colaboradores, estos autores analizaron exclusivamente los melanomas de 1 mm ó menos de grosor. La decisión de seleccionar estos melanomas se realizó en base a la teoría de que en los melanomas más gruesos asociados a nevo, el MM oblitera por completo cualquier resto de nevo y pasa a clasificarse como MDN. En el presente trabajo de tesis para evitar la posible confusión inducida por el índice de Breslow esta variable se introdujo en el modelo multivariado ajustado. Además en el trabajo de Skender-Kalmenas al igual que en el presente trabajo y que en el de Bevona, la localización en el tronco y el subtipo histológico de extensión superficial fueron factores asociados al MSN, pero a diferencia de los estudios arriba mencionados la localización en el tronco se comparó a la localización en la cabeza y en el cuello, y el subtipo histológico de extensión superficial se comparó al LMM.

Con respecto a la localización como factor de riesgo, en los trabajos de las vías para el desarrollo del MM cutáneo de Whiteman y colaboradores se consideró el tronco como la zona de exposición solar intermitente por excelencia y la región anatómica asociada a la vía de la inestabilidad de las células pigmentadas. La cabeza y el cuello se consideraron conjuntamente como la zona de exposición solar crónica por excelencia y las zonas anatómicas asociadas a la vía del daño actínico crónico[9, 124]. No se tuvieron en cuenta las diferentes localizaciones específicas ni la situación particular del paciente (cuero cabelludo calvo *vs.* Cuero cabelludo con pelo) y, al igual que en nuestro trabajo, tampoco se aportaron datos histológicos objetivos de elastosis solar a la hora de determinar el daño actínico crónico. Este daño actínico fue valorado por la presencia de queratosis actínicas tratadas o presentes en el momento de la exploración, exploración realizada por personal de enfermería, no por dermatólogos. Tampoco se tuvieron en cuenta las extremidades superiores e inferiores.

En el trabajo aquí expuesto, al igual que en los trabajos de Whiteman y colaboradores, en la clasificación general de la localización no se diferenció entre la cara y el cuero cabelludo, ambos se incluyeron en la categoría de “cabeza”, y sí que se analizaron las extremidades superiores e inferiores[9, 60, 124]. En el presente trabajo de tesis, la localización en el tronco (localización asociada según el trabajo de Whiteman a la vía de la

inestabilidad de las células pigmentarias) fue un factor de riesgo independiente para la presencia de un MSN frente al resto de localizaciones. La localización en las manos y pies y en la cabeza (localización asociada a la vía de la exposición solar crónica según Whiteman) fueron factores protectores en el modelo univariado para la presencia de un primer MSN. Las extremidades superiores e inferiores no mostraron asociación estadísticamente significativa.

En base a estos resultados se decidió generar un nuevo modelo nunca antes realizado en la literatura médica contrastada, basado en la localización del MM y en el tipo de exposición solar de esa zona de acuerdo a la exploración física realizada por el dermatólogo y a la anamnesis del paciente. Según este nuevo modelo la zona que obtuvo una mayor frecuencia para el primer MSN y una asociación estadísticamente significativa en el modelo univariado fue la zona de fotoexposición intermitente moderada (línea media de la espalda, abdomen, piernas y dorso de pies). La zona de fotoexposición intermitente intensa (hombros, brazos, zonas supraescapular, parte alta de la espalda) no mostró asociación estadísticamente significativa con el primer MSN. Las zonas nunca expuestas al sol (palmas, plantas, nalgas) y las zonas más fotoexpuestas (dorso de manos, cuero cabelludo en calvos etc.) fueron factores protectores para el MSN. Esto se podría explicar porque probablemente, en algunos casos, las zonas de fotoexposición intermitente intensa hubieran recibido una dosis total de radiación que pudiera ser equiparable a las zonas de exposición solar crónica, y de ahí que estas zonas no presentasen asociación estadísticamente significativa con el primer MSN. Por otra parte, llama la atención que la localización más frecuente del segundo MSN sí que fue la zona de fotoexposición intermitente intensa, y que en estos pacientes se encontró una mayor frecuencia de lentigos solares y de antecedentes de quemaduras solares intensas y en el área del MM. El estudio de la elastosis solar en la pieza del MM podría ser clave a la hora de interpretar estos resultados.

Gandini y colaboradores en su metanálisis de 29 publicaciones sobre los factores de riesgo asociados al MM cutáneo (sin especificar en vías del desarrollo del MM o en el tipo de MM según se asociase o no a nevo) en relación con la localización anatómica y con el subtipo histológico, también clasificaron las localizaciones en 5 zonas anatómicas: tronco, cabeza, brazos, piernas y no tronco[125]. Todos los artículos que formaron parte de este metanálisis se basaron en estudios caso-control, y sólo se tuvieron en cuenta los

melanomas cutáneos. Se descartaron los melanomas mucosos y acrales y, como se ha mencionado anteriormente, no se diferenció entre MSN o MDN [25]. Estos autores también introdujeron en su estudio de las localizaciones del MM el concepto de fotoexposición crónica o intermitente, pero sólo en dos niveles: zonas usualmente expuestas de forma crónica o usualmente expuestas de forma intermitente, y a su vez le añadieron la cantidad de exposición solar que había recibido según la anamnesis del paciente (exposición crónica, exposición intermitente y quemaduras solares). Tras el metanálisis se observó que el riesgo relativo de MM aumentaba con la exposición solar intermitente, crónica y las quemaduras solares en las áreas anatómicas usualmente expuestas al sol, pero que existía una asociación negativa (factor protector) tras la exposición solar crónica en las zonas que normalmente son de exposición solar intermitente. Esta asociación negativa era aún más patente en las piernas que en el tronco. Estos resultados recalcarían de nuevo el comportamiento tan dispar que pueden tener las zonas de exposición solar intermitente, y el papel clave que podría tener el estudio histológico de la elastosis solar en la zona del MM para un mejor entendimiento del comportamiento de estas zonas y de su relación con el MSN.

En este metanálisis también se correlacionó el número de nevus con tres tipos de MM (MN, MES y LMM). Tras el estudio estadístico, se obtuvo que la presencia de múltiples nevus melanocíticos aumentaba el riesgo relativo de estos tres subtipos histológicos de MM (sin especificar MSN o MDN). En este metanálisis en particular, no se discriminó entre nevus atípicos y nevus comunes, y tampoco se atendió al tamaño de las lesiones melanocíticas. En los trabajos de Whiteman y colaboradores la presencia de múltiples nevus también fue una característica propia de la vía de la inestabilidad de las células pigmentarias, pero de nuevo no se diferenció entre nevus comunes y nevus clínicamente atípicos. La presencia de un nevo clínicamente atípico ha sido considerada como un factor de riesgo independiente para el desarrollo del MM cutáneo [25]. Gandini y colaboradores encontraron un aumento de hasta 6 veces más el riesgo del MM para aquellos pacientes que tenían al menos 5 nevus atípicos frente a los que no tenían ninguno. En este estudio se exigió como criterio de inclusión que se tratase de un MM cutáneo, pero no se diferenció entre MSN o MDN. Al igual que en el presente trabajo se descartaron los casos de melanomas mucosos, pero a diferencia de éste y por considerarlos como melanomas no fotoexpuestos tampoco se incluyeron los casos de melanomas acrales. Se consideró como

nevo atípico, al igual que en el presente trabajo, a las lesiones maculares de 5 ó más milímetros y bordes y/o coloración irregular. Tras estudiar los distintos trabajos de los que se nutría este metanálisis se observó que el mejor punto de corte para los nevos atípicos como factor de riesgo para el MM en general era el de 5 nevos melanocíticos atípicos frente a ninguno. En el presente trabajo de tesis se seleccionó el tener uno frente a ninguno en base a los resultados obtenidos por la metodología CART de forma aislada para esta variable. Esta variable de tener un nevo atípico frente a ninguno fue la que se introdujo en el estudio univariado y multivariado. Sin embargo, al realizar el árbol de decisiones de todas las variables que habían sido significativas en el univariado y previo a la realización del modelo multivariado, la metodología CART seleccionó como mejor punto crítico de la variable nevo atípico la presencia de 2 ó menos nevos atípicos frente a más de 2. Por tanto, siguiendo los resultados del meta-análisis de Gandini y de la presente tesis, la presencia de al menos 5 nevos atípicos frente a ninguno podría actuar como factor de riesgo asociado al MM en general, y con una menor cantidad de nevos atípicos (al menos más de 2) aumentaría el riesgo del MSN en particular.

Con respecto al estudio del número de nevos melanocíticos comunes como factor de riesgo para el MM cutáneo, Gandini y colaboradores realizaron un nuevo metanálisis. En este se estimó un aumento del riesgo del desarrollo de un MM cutáneo de hasta 6,89 veces más para aquellos pacientes con más de 101 nevos frente a los que tenían menos de 15 nevos melanocíticos comunes [25]. De nuevo en este metanálisis no se diferenció entre MSN y MDN. En el presente trabajo de tesis de los factores asociados al MSN, se subdividió el número de nevos melanocíticos comunes de acuerdo a parámetros estadísticos (metodología CART) en ≥ 50 nevos frente a < 50 nevos melanocíticos. La presencia de ≥ 50 nevos mostró significación estadística en el estudio del IVO y en la base de datos conjunta en el modelo univariado, pero esta significación se perdió en el modelo multivariado. Al estudiar la interrelación entre las variables en la construcción del modelo multivariado, se vio cómo esta variable desapareció del modelo tras introducir la variable de tener al menos un nevo clínicamente atípico, y la presencia de al menos un nevo clínicamente atípico se mantenía como factor de riesgo independiente para el primer MSN. Al no estar recogida esta variable en el Hospital Germans Trias i Pujol, no se pudo saber su alcance en la base de datos conjunta. En la bibliografía contrastada de los factores asociados al MSN, no se ha encontrado ningún trabajo que incluya en el estudio estadístico las variables de número

de nevos melanocíticos comunes y de nevos melanocíticos atípicos, y como se ha mencionado anteriormente, en los trabajos de Whiteman la presencia de múltiples nevos es una característica propia de la vía de la inestabilidad de las células pigmentarias pero no se diferencia entre nevos comunes y nevos clínicamente atípicos.

Los hallazgos de la significación estadística del nevo clínicamente atípico y de la no significación estadística del nevo melanocítico común junto con las diferentes áreas de fotoexposición y su relación con el MSN, podrían venir explicados por la situación geográfica (latitud) de las dos poblaciones a estudio. En el presente estudio se seleccionó inicialmente una población de Valencia. Esta ciudad se caracteriza por un clima mediterráneo típico con temperaturas muy suaves. Posteriormente se amplió a una población de Badalona, población próxima a Barcelona, que por su cercanía al mar también muestra un clima mediterráneo con temperaturas suaves. En estas dos regiones la población suele llevar durante muchos meses al año prendas de ropa que hacen que zonas anatómicas que pudieran ser consideradas como de exposición solar intermitente en otros países de Europa (brazos o piernas) se pueda considerar que en el nuestro tienen una exposición solar más similar a la crónica. De esta manera y de acuerdo a los resultados obtenidos en trabajos previos y a los aquí expuestos, la fotoexposición más mantenida a la que pueden estar sometidos estos pacientes en zonas como por ejemplo los brazos y las piernas podrían favorecer la nevogénesis, pero de nevos clínicamente comunes y de pequeño tamaño, que no se asociasen al MSN en particular. Sólo la exposición intermitente en regiones anatómicas no habitualmente expuestas (zona de fotoexposición intermitente moderada) favorecería la nevogénesis de lesiones clínicamente atípicas y/o de lesiones de más de 5 mm, y finalmente la aparición del MSN, y se asociarían a la vía de la inestabilidad de las células pigmentarias [5, 29, 31, 32].

Este problema de las diferentes latitudes e irradiación solar a la que están expuestas las diferentes poblaciones en donde se han realizado los estudios epidemiológicos de los factores de riesgo asociados al MM cutáneo, supone un gran problema a la hora de realizar metanálisis o de extrapolar datos a poblaciones de diferentes países [126]. Con el objetivo de establecer qué riesgo supone la exposición solar en sus diferentes modalidades (crónica ocupacional, intermitente/ recreativa), en diferentes áreas corporales y en distintas latitudes Chang y colaboradores publicaron en 2009 un análisis de 15 estudios caso-control

correlacionando los patrones de exposición solar, los antecedentes de quemaduras solares y de queratosis actínicas con el riesgo de MM. Estos 15 estudios provenían: 7 de Europa (2 del sur de suiza [127, 128] 1 del este de Dinamarca[129], 1 de Escocia[130], 2 del Reino Unido[131, 132], 1 de Holanda[133]) 5 de América del Norte (Oeste de Canadá[134] , Nuevo Hampshire[135], Connecticut[136], Pensilvania[137] y San Francisco[138]) 1 de Hawai [139] y 2 de Australia (1 de Queensland[140] y 1 del Oeste de Australia[141]). Entre sus resultados estos autores encontraron que la exposición ocupacional no aumentaba el riesgo de MM en el tronco o en las extremidades, pero que podía incrementar el riesgo de MM en la cabeza y en el cuello, especialmente a bajas latitudes. Estos autores al final de su publicación, concluyeron que siguiendo la hipótesis de las dos vías para el desarrollo del MM de Whiteman, encontraban una asociación débil entre la exposición solar ocupacional crónica y el MM en la cabeza y en el cuello, sobre todo en los países de bajas latitudes como el nuestro, y una mayor asociación de esta exposición solar ocupacional con el MM en las extremidades que son en estos países muy frecuentemente expuestas al sol, y por tanto, al igual que en lo arriba mencionado en algún caso se podrían equiparar a zonas de exposición solar crónica. Hay que decir de nuevo, que estos autores estudiaron el MM en general, no el MSN, y que ya en su estudio hablaron de posibles sesgos a la hora de recoger los datos de estudios tan diferentes en donde las variables epidemiológicas habían sido recogidas en muchas ocasiones siguiendo diferentes criterios.

Con respecto a los subtipos histológicos de MM, tanto en el presente trabajo (en las dos poblaciones por separado y en el estudio conjunto) como en el anterior trabajo y en los contrastados de la literatura, se obtuvo que el MES era el principal subtipo histológico asociado al primer MSN [60, 93, 95]. El MN también mostró asociación estadísticamente significativa en el estudio multivariado conjunto ajustado por la edad, el sexo, el centro sanitario de origen y el índice de Breslow. Al realizar la metodología CART se observó que el MES es el principal subtipo asociado al MSN, y que una vez descartados todos los MES el subtipo de MN aumenta el riesgo de MSN frente a los restantes subtipos (LMM y MLA).

En el estudio realizado sobre la población del Hospital Germans Trias i Pujol de los factores asociados a la presencia de un primer MSN, además de encontrarse como factor de riesgo independiente asociado al primer MSN el subtipo histológico de MES, también se

encontró la presencia de antecedentes familiares de primer grado diagnosticados de MM. Llama la atención que a pesar de ser un factor de riesgo independiente para la presencia de un primer MSN y de tener una mayor frecuencia de estos antecedentes que en el IVO (8,09% de pacientes de Hospital Germans Trias i Pujol frente a 4,7% de pacientes en el IVO), esta población presentase una menor frecuencia de MM múltiple (1,4% del Hospital Germans Trias i Pujol frente a un 3,4% del IVO). Habría sido interesante disponer del análisis genético del gen CDKN2A y de los antecedentes personales de fotoexposición crónica en las dos poblaciones (no sólo en el IVO), con el fin de explicar si estas diferencias en las frecuencias de MM múltiple y de antecedentes familiares de MM en dos poblaciones relativamente próximas geográficamente, pudieran deberse a una menor fotoexposición crónica o intermitente intensa en una población genéticamente predispuesta (melanoma múltiple asociado a CDKN2A) o viceversa (melanoma múltiple no asociado a CDKN2A).

La única referencia encontrada en la literatura entre MM familiar y nevo melanocítico es el trabajo publicado por Vredenburg y colaboradores [142]. Estos autores en una línea distinta al presente trabajo buscaron si los nevos melanocíticos adquiridos serían marcadores del riesgo para el desarrollo de un MM (sin especificar MSN/ MDN) en pacientes de 2 a 18 años pertenecientes a familias afectas de MM familiar. Para ello realizaron un estudio sobre los datos obtenidos de 133 miembros de estas familias afectas de MM familiar durante 20 años de seguimiento. Como resultado se obtuvo que eran factores de riesgo en esta población la presencia de nevos atípicos, el recuento de nevos atípicos en las nalgas, y el número de extirpaciones de nevos durante el seguimiento.

La valoración de la fotoexposición crónica en el IVO se realizó en base a los antecedentes de exposición solar laboral, y al igual que en los trabajos de Whiteman, en base a la presencia en el momento de la exploración física de queratosis actínicas, siendo estas últimas valoradas siempre por un dermatólogo. Las queratosis actínicas mostraron una asociación negativa en el estudio univariado (factor protector) con la presencia de un primer MSN. Los antecedentes de exposición solar laboral, que en el precedente trabajo se categorizaron en 20 ó más años frente a menos de 20 y que mostraron cierta tendencia protectora no significativa, en este estudio con un mayor volumen de pacientes y con la

categorización en 15 ó más años frente a menos de 15 años de exposición solar laboral sí que mostraron una asociación significativa protectora en el modelo univariado [60].

Finalmente, con respecto a los factores genéticos asociados al primer MSN en la población del IVO la presencia de variantes RHC frente a variantes no-RHC del gen MC1R fue factor de riesgo independiente para la presencia de un primer MSN. Al igual que en el trabajo aquí expuesto, Avilés y colaboradores analizaron en la población española la asociación entre variantes del gen MC1R y el MM [56]. Estos autores sólo seleccionaron variantes no-RHC. La justificación de la selección de estas variantes de MC1R se debió a que el fototipo del paciente español no es el mismo que el de la población europea y australiana donde clásicamente se han realizado los estudios epidemiológicos del MM, y a que en trabajos realizados previamente por estos autores encontraron una mayor frecuencia de variantes no-RHC en esta población [83]. Estos autores buscaron las características fenotípicas de los pacientes portadores de variantes del gen MC1R, la relación entre el tipo de exposición solar y el desarrollo del MM en portadores de las variantes de MC1R, y finalmente, las asociaciones significativas entre las características clínicas, histológicas y epidemiológicas y determinadas variantes del MC1R. El estudio se realizó únicamente con 224 pacientes en los que, a diferencia del presente estudio en donde se pudieron estudiar las variantes en 1124 pacientes, se exigió que fueran de raza caucásica y de nacionalidad española. Se excluyeron los melanomas metastásicos de origen desconocido, pero se incluyeron los melanomas mucosos (criterio de exclusión en el presente trabajo). La localización del MM no se realizó por áreas anatómicas, sino que se clasificó en tres grupos de acuerdo al patrón de exposición solar: MM en zona crónicamente expuesta, MM de zona de exposición solar intermitente y MM de zona nunca fotoexpuesta. Por el escaso número de pacientes no se pudo realizar un estudio multivariado, y finalmente, y al igual que en todos los anteriores estudios citados, tampoco se subdividió en MSN y MDN. Tras el estudio analítico encontraron que hasta el 58% de su población estudiada presentaban alguna de las seis variantes consideradas de riesgo según sus estudios previos (V60L, V92M, I155T, R160W, D294H y T314T), y que estas variantes eran más frecuentes en fenotipos de piel clara (fototipo II), con antecedentes de quemaduras solares, y con la aparición de un MM en zona de exposición solar intermitente.

En el presente estudio, a diferencia del anterior, se analizaron tanto las variantes RHC como no-RHC consenso, no consenso en homocigosis y no consenso en heterocigosis. Al igual que en el trabajo de Avilés y colaboradores una de las variantes más frecuentemente encontrada en la población afecta de al menos un MM fue la V92M. A diferencia de aquel trabajo, en el aquí expuesto sí que se encontró como variante más frecuente en los pacientes afectos de al menos un MM cutáneo una variante RHC, la variante R142H. Al realizar el estudio analítico de los factores asociados a la presencia de un primer MSN, el estudio individualizado de cada una de las variantes así como sus posibles combinaciones no mostró asociación estadísticamente significativa, pero en el estudio conjunto de la presencia de al menos una variante RHC frente a una variante no-RHC sí que se encontró una asociación estadísticamente significativa de las RHC frente a las no-RHC con el MSN. Probablemente las variantes RHC al estar asociadas a un fenotipo con una mayor sensibilidad a la fotoexposición y al daño solar se relacionen con nevos clínicamente más atípicos en vez de a los típicos comunes y de pequeño tamaño, con melanomas en zonas de fotoexposición intermitente, y por tanto con el MSN y la vía de la inestabilidad de las células pigmentarias. Al no haber puesto como criterio de inclusión en el presente trabajo el origen étnico exclusivamente español de los pacientes y al poder incluir la zona mediterránea a estudio más población de origen de latitudes más al norte de España, no se puede descartar que además exista en la presente población a estudio una mayor cantidad de pacientes no autóctonos portadores de variantes RHC del gen MC1R que contribuyan a esta significación estadística.

Al analizar los factores asociados a la presencia de un segundo MSN en 53 pacientes, el sexo masculino frente al femenino fue la única variable que mostró una asociación estadísticamente significativa.

Sólo se han encontrado en la literatura médica trabajos sobre los factores asociados al MM múltiple primario en general. No se han encontrado trabajos (salvo el precedente de esta tesis) sobre los factores asociados al MM múltiple sobre nevo en particular [60].

Slingluff y colaboradores publicaron en 1993 el primer estudio con un volumen importante de pacientes afectos de MM múltiple primario [57]. Estos autores presentaron un trabajo sobre 283 pacientes diagnosticados de MM múltiple primario de una población inicial de

7816 pacientes (un 3,6% de pacientes con MM múltiple). El estudio multivariado de los factores asociados a la presencia de un segundo MM (sin especificar MSN o MDN) mostró como variable significativa independiente el sexo masculino frente al femenino. Esta variable aumentó el riesgo en 1,33 veces para tener más de un MM primario. Con anterioridad a este trabajo, en 1976 Veronesi también describió como factor de riesgo asociado al MM múltiple el sexo masculino [143]. En base a estos trabajos y al resultado obtenido en el presente trabajo, el sexo masculino sería factor asociado al MM múltiple primario en general, pero a su vez aumentaría más el riesgo de presentar un segundo MSN que un segundo MDN. Se desconoce cuáles son las causas de estas diferencias entre sexos. Recientemente un trabajo holandés sobre el impacto en el comportamiento con respecto al sol y las medidas de fotoprotección junto con otras escalas de valoración de calidad de vida tras el diagnóstico de un MM cutáneo, mostró que tras el diagnóstico de un primer MM cutáneo primario una mayor proporción de mujeres con respecto a los hombres iban a destinos vacacionales soleados menos frecuentemente, estaban más preocupadas sobre los efectos de la exposición solar en la piel y usaban fotoprotector más a menudo que los hombres [117]. Con independencia de que en líneas generales parece que debido a supuestas diferencias biológicas el sexo femenino presenta un mejor pronóstico que el masculino para el MM cutáneo y para la presencia de melanomas múltiples primarios, y debido a que el MSN se asocia a variables supuestamente ligadas a fotoexposición intermitente (nevus atípicos y localización en el tronco), las medidas menos estrictas de fotoprotección en el caso del sexo masculino tras el diagnóstico de un primer MM podrían estar vinculadas al aumento del riesgo de un segundo MSN en el sexo masculino.

Además del sexo otros factores de riesgo que se asociaron en el anterior trabajo al MM múltiple primario fueron la complejión céltica (piel clara, pelirrojos y con lentigos solares), los antecedentes familiares de MM, los melanomas finos y la presencia de otros tumores, sobre todo de carcinoma basocelular [57]. Muy probablemente estos factores de riesgo estén asociados a situaciones genéticas, como mutaciones en el gen CDKN2A (MM familiar) y variantes del gen MC1R (complejión céltica). Estas situaciones genéticas no se analizaron en el anterior estudio y en la presente tesis al ser muy reducido el número de casos de segundo MSN no alcanzaron la significación estadística.

Ferrone y colaboradores realizaron un estudio prospectivo de la incidencia del MM múltiple primario (sin especificar en MSN o MDN) con un mayor número de pacientes (4484 pacientes) [58]. De estos pacientes 385 (8,6% del total) presentaron un segundo MM. Tras el análisis estadístico además de los antecedentes familiares de MM, encontraron que la presencia de nevos displásicos (definiendo a estos, al igual que en la presente tesis, como lesiones maculares de 5 ó más milímetros, con dos ó más colores y/o bordes irregulares) eran factores de riesgo independientes para el MM múltiple primario.

En el trabajo previamente publicado de la base de datos del IVO se obtuvo como factor de riesgo asociado de manera independiente a la presencia de un segundo MSN la presencia de un primer MSN [60]. En el presente trabajo no se encontró significación estadística para esta variable ni en el modelo univariado ni el multivariado. Al analizar las frecuencias de los segundos melanomas se observó que en el 35,7% de los casos que presentaron un segundo MSN había un antecedente de un primer MSN, frente al 13,9% de los casos que presentaron un segundo MDN en los que había un antecedente de un primer MSN. La diferencia de los resultados obtenidos en los dos trabajos probablemente radique en que en el actual se aumentó el número de segundos melanomas a expensas de los MDN (principalmente los procedentes de la población del Hospital Germans Trias i Pujol), y este aumento en el número de casos no fue suficiente como para mostrar una asociación estadísticamente significativa. También se debe decir que en el presente trabajo se suprimieron los melanomas clasificados como “otros melanomas” que en el anterior trabajo sí que se incluyeron.

Por último, destacar que la variable de índice de Breslow $\leq 1,00$ mm frente al resto de índices de Breslow, mostró en los estudios univariados un aumento del riesgo para el primer MSN, y el índice de Breslow comprendido entre 1,01 y 4,00 mm mostró una asociación inversa tanto en el modelo univariado como en el multivariado de la base de datos conjunta para el primer MSN. Diversos autores han considerado que el MSN presenta un mejor pronóstico que el MDN [96, 104]. Otros autores basándose en una clasificación de MSN o MDN en función de la historia clínica contada por el paciente en vez de los hallazgos anatomopatológicos, han llegado a la conclusión opuesta [122]. Según la tendencia mostrada en el presente trabajo, el índice de Breslow ≤ 1 mm sería factor asociado al primer MSN (al menos desde el punto de vista histológico), y el índice de

Breslow > 1 mm se asociaría menos frecuentemente al MSN. Serían necesarios trabajos futuros de supervivencia global y supervivencia específica del MM basados en la combinación de la anatomía patológica (teniendo en cuenta los distintos índices de Breslow) y de la historia clínica referida por el paciente para clarificar la implicación pronóstica de la presencia de restos de lesión melanocítica benigna en el MM.

Además, con el fin de acabar de caracterizar la vía de la inestabilidad de células pigmentarias de Whiteman y el MSN, también sería conveniente en estudios futuros clasificar las zonas de MM de acuerdo a los tipos de fotoexposición en cada zona basado en parámetros objetivos como la elastosis solar. Con esto se conseguiría establecer de una manera más precisa la probable relación entre las zonas de fotoexposición intermitente moderada y el MSN y las zonas de fotoexposición intermitente intensa cuya radiación total puede ser equiparable en términos de daño solar a las zonas de fotoexposición crónica.

También sería interesante realizar estudios poblacionales multicéntricos con una mayor muestra poblacional de primeros y segundos MSN para valorar la posible relación de estos con otras variables de menor peso pero no menos importantes, como son los SNPs nevogénicos y las variantes del gen MC1R, así como los hábitos de fotoprotección en hombres y mujeres tras el diagnóstico de un primer MM cutáneo primario y su relación con la presencia de un segundo MSN.

A la hora de interpretar estos datos cabe tener en cuenta las siguientes limitaciones y sesgos de este estudio:

- Se trata de un estudio retrospectivo y por tanto con una mayor probabilidad de sesgos. Los datos se recogieron de dos bases de datos creadas en dos servicios hospitalarios de Dermatología distintos de dos Comunidades Autónomas diferentes. Variables como la presencia de nevos melanocíticos clínicamente atípicos, de queratosis actínicas, de quemaduras solares intensas o en el área del MM, o de antecedentes de exposición solar laboral fueron recogidas y estudiadas únicamente en una población (la población del IVO) y por tanto no se pudieron incluir en el estudio conjunto para analizar su interrelación con el resto de variables en el modelo multivariado de las bases de datos conjuntas.

- Sesgo interobservador. Los datos de la exploración física pertenecían al menos a cuatro dermatólogos diferentes (2 del IVO y 2 de Germans Trias i Pujol) y los datos anatomopatológicos al menos a dos anatomopatólogos diferentes (1 del IVO y 1 del Hospital Germans Trias i Pujol).
- Sesgo de memoria. Al ser un estudio retrospectivo en algunos casos se realizaron encuestas telefónicas para completar algunos datos de la historia clínica que faltaban y que eran difíciles de cuantificar, como por ejemplo el número y la intensidad de quemaduras solares en el área del MM o número de quemaduras solares intensas. Es inevitable el sesgo de memoria de algunos pacientes para recordar estos antecedentes.
- En ocasiones la distinción en la exploración física entre el nevo melanocítico y lentigo solar es muy complicada, y en algunos casos sólo se puede llegar al diagnóstico tras el estudio anatomopatológico de la lesión y tras descartar el resto de posibilidades diagnósticas. En el trabajo expuesto se planteó como límite entre nevo y lentigo solar la dimensión de más de 2 mm para el nevo y la tendencia de los lentigos a aparecer en zonas fotoexpuestas y a confluir. No obstante, cabe decir que en algunos casos estos criterios no clasificaron a todas las lesiones.
- A la hora de realizar la nueva clasificación de localización según zonas de fotoexposición basada en la combinación de la zona del MM con la anamnesis del paciente (hábitos de exposición solar), no se tuvieron en cuenta criterios objetivos de daño solar como la presencia de elastosis histológica, que no se recogió en estas bases de datos. Habría sido interesante su recogida para una mejor interpretación del significado de la exposición solar intermitente moderada en el primer MSN y la exposición solar intermitente intensa en el segundo MSN.
- En el presente trabajo la clasificación de MSN y de MDN se realizó en base a criterios anatomopatológicos, no en base a criterios clínicos. Como se menciona en los antecedentes, de acuerdo con los resultados obtenidos en la gran mayoría

estudios parece que la mayor parte de los melanomas aparecen de novo y sólo un pequeño porcentaje se asocia a un nevo melanocítico. [90, 91, 93, 107, 108, 118, 144]. Esta afirmación se cumple normalmente desde el punto de vista anatomopatológico, pero no siempre desde el punto de vista clínico. Algunos autores como Cameron y Jones en 1968, Friedman en 1983, Mackie en 1991 y Weatherhead en 2007, realizaron diversos estudios epidemiológicos del MSN considerando a éste en función de la historia clínica que refería el paciente. Estos autores encontraron unos porcentajes de MSN que oscilaban en torno a un 57-85% del total de casos de MM, siendo por tanto más frecuente que el MDN [104, 122, 145-147]. En el trabajo publicado más recientemente basado en la anamnesis del paciente (2007), tras estudiar a 377 pacientes diagnosticados de MM se obtuvo un porcentaje de un 42% de MSN, un 34% de MDN y un 24% de casos en donde el origen del MM era incierto [122]. Con el fin de aportar objetividad, en el presente estudio la clasificación de MSN y de MDN se realizó exclusivamente en base a criterios anatomopatológicos, sin tener en cuenta los antecedentes de lesión previa en la zona descrita por el paciente. Probablemente al haber tenido en cuenta únicamente criterios histológicos se hayan infradiagnosticado los casos de MSN.

- En el análisis de variables anatomopatológicas no se tuvo en cuenta la presencia o no de regresión histológica. La presencia de esta regresión podría explicar los casos de disparidad entre la historia clínica contada por el paciente de una lesión melanocítica previa en la zona y la histología donde no se observasen restos de lesión melanocítica benigna en el MM. Las razones por las que en el presente trabajo no se tuvo en cuenta la regresión histológica fueron varias. Por una parte porque los criterios de regresión histológica (fases de regresión, porcentaje significativo para considerar regresión etc.) así como su significado pronóstico han variado mucho a lo largo del tiempo en que se han ido recogiendo los datos de estas bases de datos [148]. Por otra parte, por el posible sesgo interobservador producido por los diferentes anatomatólogos que a lo largo del tiempo de la generación de las bases de datos han ido interpretando la regresión de acuerdo a los criterios propios de cada año.

- A diferencia de otros estudios epidemiológicos previamente realizados en España sobre la genética del MM, en el presente estudio no se exigió como criterio de inclusión que todos los pacientes fueran de origen exclusivamente español [56]. Esto hace que algunas variables asociadas a determinados genes cuya prevalencia varía según zonas geográficas puedan no alcanzar la significación estadística en este estudio o que frecuencias de determinados polimorfismos característicos de una zona geográfica estén infradiagnosticados.
- Sólo se pudo realizar el análisis genético en una parte de los pacientes del IVO. Esto se debe a que en el momento inicial de la recogida de los datos para este estudio se empezaron a analizar los SNPs nevogénicos y las mutaciones en BRAF y variantes de MC1R. Probablemente la ausencia de significación estadística de algunas de estas variables genéticas en el presente estudio se deba a la necesidad de un mayor número de casos.
- Hay que tener en cuenta el limitado número de casos de segundos MM, que sólo fueron 10 pacientes en el Hospital Germans Trias i Pujol y de estos sólo 2 MSN, y 43 pacientes en la población del IVO, y de estos 12 MSN.

Al igual que se deben mencionar las limitaciones también cabe destacar las fortalezas del presente estudio:

- Los datos de las variables existentes en las dos bases de datos se recogieron de forma prospectiva exclusivamente por dermatólogos, a diferencia de estudios previos citados en la bibliografía en donde las variables tanto de antecedentes personales como de exploración física fueron recogidas por personal de enfermería entrenado [124]. Los datos mencionados se obtuvieron de la exploración física de los pacientes en las visitas de seguimiento, de los antecedentes personales recogidos en la anamnesis y, en algún caso cuando el dato faltaba o no quedaba claramente reflejado en la historia clínica, de entrevistas telefónicas. Además, con anterioridad a la unificación de las dos bases de datos, se tuvieron en cuenta únicamente las variables que habían sido recogidas por igual (con los mismos criterios) en los dos centros, y se realizó el

estudio descriptivo de cada una de ellas por separado para comprobar que estas variables se distribuían de una manera similar en las dos poblaciones. También, por la diferente procedencia de los pacientes, el estudio de los factores asociados al primer y segundo MSN se realizó tanto en las dos poblaciones por separado como conjuntamente, y en el estudio multivariado se ajustó además de por la edad, el sexo y el índice de Breslow por el hospital de procedencia.

- Con respecto al sesgo de memoria, hay que decir que al ser un estudio de casos-casos este sesgo muy probablemente está distribuido por igual en los dos grupos a estudio, a diferencia de otros estudios caso-control en donde los casos por ser pacientes pueden tender a recordar mejor o en algún caso a exagerar el antecedente personal de quemadura solar o de años de exposición solar crónica.
- Al considerar MSN o MDN en base a criterios anatomopatológicos y no según los antecedentes descritos por el paciente se aportan datos objetivos al trabajo.
- Puesto que se ha descrito en la literatura que existe una mayor frecuencia de MSN en los casos de melanomas más finos que en los casos de melanomas más gruesos (mayor índice de Breslow), en el estudio multivariado de las dos poblaciones por separado y de la base de datos conjunta el modelo se ajustó además de por el sexo, la edad y el centro sanitario de origen, por el índice de Breslow.
- Para adquirir una mayor robustez en el análisis estadístico, la determinación de puntos de corte para la categorización de diversas variables cuantitativas se hizo atendiendo a dos metodologías distintas, por una parte por medio de tablas de contingencia Chi cuadrado y por otra por la metodología CART y el valor más alto de Wald para cada variable. El estudio multivariado también se realizó por dos metodologías. Por una parte la regresión logística binaria, exigiendo un alto nivel de significación estadística ($p < 0,05$), y por otra parte por la metodología CART para establecer la jerarquía de cada variable significativa.

- Cabe resaltar la originalidad del presente trabajo, ya que en la revisión bibliográfica realizada no se ha encontrado ningún trabajo (salvo el trabajo precedente) que analice los factores genéticos asociados a la presencia de un primer y segundo MSN, ni los factores clínicos, epidemiológicos y anatomopatológicos asociados a segundos MSN [60]. Además se aporta una nueva clasificación del MM basada en 5 modalidades de exposición solar de acuerdo a la anamnesis realizada al paciente (crónica, intermitente intensa, intermitente moderada, intermitente leve y no fotoexpuesta) nunca antes propuesta.
- Destaca el gran número de pacientes aportados en el presente estudio (2714 pacientes). No se ha encontrado ningún otro estudio epidemiológico sobre la genética del MM realizado únicamente en España (sin ser un metanálisis) con una muestra poblacional tan grande. Tampoco se ha encontrado ningún otro estudio analítico de los factores asociados a un primer MSN con un número tan grande de pacientes.

Las aplicaciones prácticas que se pueden extraer de la presente tesis son las siguientes:

1. Un porcentaje no despreciable de melanomas aparecen en asociación histológica a un nevo melanocítico, y parece que cuando se desarrolla un primer MSN hay una mayor tendencia a un segundo MSN. Esta tendencia junto con el hecho probado de que la presencia de múltiples nevos melanocíticos es un factor de riesgo independiente para la presencia de un MM, justifican el seguimiento periódico de los pacientes con múltiples nevos melanocíticos comunes y/o con nevos melanocíticos atípicos con técnicas complementarias como la dermatoscopia digital, y en su caso, cuando haya antecedentes de un primer MSN un seguimiento más estrecho de los nevos melanocíticos por el riesgo de presentar un segundo MSN.

2. Según los resultados aquí expuestos las localizaciones más frecuentes del primer MSN de acuerdo al nuevo modelo de fotoexposición generado son las zonas de fotoexposición intermitente moderada, entre ellas el dorso del pie y las piernas. Estas zonas no suelen ser consideradas por el paciente como zonas de riesgo de MM, si bien cuando se le pregunta

en la anamnesis en muchas ocasiones sí que refieren el antecedente de quemadura. Dada la gran importancia de la autoexploración en el diagnóstico precoz del MM y en el seguimiento posterior a su diagnóstico, sería conveniente insistir al paciente en la necesidad de la autoexploración de toda la superficie corporal, y no sólo de las zonas clásicamente consideradas de riesgo como la espalda.

3. Las variantes RHC (tanto en homocigosis como en heterocigosis) son un factor de riesgo independiente para la presencia de un primer MSN. Además, según lo observado en el presente trabajo y en la bibliografía revisada, en la población española diagnosticada de MM hay un alto porcentaje de pacientes con variantes RHC y que no presentan un fenotipo que lo denote, pues no son pelirrojos o ni presentan efélides ni fototipos I y II. Parece razonable incluir el estudio de estas variantes de MC1R dentro de hipotéticos chips de riesgo del MM cutáneo.

4. El sexo masculino es el único factor asociado a la presencia de un segundo MSN. Según lo encontrado en la bibliografía parece que esto es debido a una menor concienciación de la necesidad de fotoprotección en los hombres tras el diagnóstico de un primer MM cutáneo. Esto remarca la importancia de la fotoprotección como medida general de prevención del MM cutáneo y la necesidad de hacer un mayor hincapié de su uso en el sexo masculino tras el diagnóstico de un primer MM cutáneo primario.

8. Conclusiones

*Factores clínicos, epidemiológicos, anatomopatológicos y genéticos
asociados al melanoma sobre nevo*

1. El 20,2% de los melanomas cutáneos primarios aparecieron en asociación histológica a un nevo melanocítico.
2. El 2,3% de los pacientes diagnosticados de un primer melanoma cutáneo primario desarrollaron durante un seguimiento mediano de 6 años y 6 meses un segundo melanoma cutáneo primario. El 26,4% de estos segundos melanomas cutáneos primarios aparecieron en asociación histológica a un nevo melanocítico.
3. El tronco, y más en concreto las zonas de piel en las que hay una exposición solar intermitente moderada, son las localizaciones más frecuentes para el primer melanoma sobre nevo. En el caso del segundo melanoma sobre nevo, la localización más frecuente también es el tronco, pero en zonas en las que hay una exposición solar intermitente intensa.
4. La presencia de un primer MSN se asocia al subtipo histológico de melanoma de extensión superficial y de melanoma nodular, a la localización en el tronco, a la edad igual o inferior a 50 años, a la presencia de variantes RHC del gen MC1R y de al menos un nevo clínicamente atípico.
5. El sexo masculino es el único factor de riesgo independiente asociado a la presencia de un segundo melanoma sobre nevo en nuestra población.

9. Anexos

*Factores clínicos, epidemiológicos, anatomopatológicos y genéticos
asociados al melanoma sobre nevo*

ANEXO I: Características de la población diagnosticada de al menos un MM cutáneo en el IVO

Características de la población del IVO			
Variables		N	%
Edad de diagnóstico del primer MM	Media	55,49	
	Mediana	56	
	DS	16,63	
	Mínimo	6	
	Máximo	96	
	Q₂₅	43	
	Q₇₅	68	
Sexo	Hombre	683	49,7
	Mujer	691	50,3
Color de ojos	Negro	29	2,1
	Marrón	729	53,1
	Azul	233	17
	Verde	275	20
	Sin especificar	108	7,9
Color de pelo	Negro	1020	74,2
	Castaño oscuro	254	18,5
	Castaño claro	56	4,1
	Pelirrojo	0	0
	Sin especificar	44	3,2
Efélides en la cara (De acuerdo a los esquemas de Dubin y Gallagher [30])	0	693	50,4
	10	3	0,2
	20	91	6,6
	30	33	2,4
	40	96	7
	50	26	1,9
	60	34	2,5
	70	5	0,4
	80	6	0,4
	100	3	0,2
	Sin especificar	384	27,9
Efélides en la infancia	No	678	49,3
	Sí	350	25,5
	Sin especificar	346	25,2

Q₂₅: Cuartil 25, Q₇₅: Cuartil 75

ANEXO I (Continuación)

Características de la población del IVO (continuación)			
VARIABLES		N	%
Quemaduras Intensas	No	626	45,6
	1 a 5	439	32
	6 a 10	121	8,8
	>10	129	9,4
	Sin especificar	59	4,3
Quemaduras en el área del MM	No	409	29,8
	Leves	470	34,2
	Intensas	323	23,5
	Sin especificar	172	12,5
Profesión	No fotoexpuesta	961	69,9
	Sí fotoexpuesta	326	23,7
	Sin especificar	87	6,3
Rayos UVA	No	1112	80,9
	Sí	144	10,5
	Sin especificar	118	8,6
Queratosis actínicas	No	1042	75,8
	Sí	182	13,2
	Sin especificar	150	10,9
Lentigos	No	156	11,4
	Escasos	373	27,1
	Abundantes	469	34,1
	Sin especificar	376	27,4
Nevos comunes	<20	848	61,7
	20-50	191	13,9
	51-100	120	8,7
	>100	55	4
	Sin especificar	160	11,6
Nevos atípicos	al menos 1	270	19,7
	Ninguno	1029	74,9
	Perdidos	75	5,5
Antecedentes familiares de MM	No	1267	92,2
	Sí	71	5,2
	Adoptado	4	0,3
	Sin especificar	32	2,3
Antecedentes familiares de cáncer de páncreas	No	1288	93,7
	Sí	37	2,7
	Adoptado	4	0,3
	Sin especificar	45	3,3

**ANEXO II: Características de la población diagnosticada de al menos 1 MM cutáneo
en la población del Hospital Germans Trias i Pujol**

Características de la población del Hospital Germans Trias i Pujol			
Variables		N	%
Edad	Media	55,6	
	Mediana	56,39	
	DS	17,22	
	Mínimo	15	
	Máximo	96	
	Q25	41,78	
	Q75	69,4	
Sexo	Hombre	578	43,1
	Mujer	760	56,7
	Sin especificar	2	0,1
Fototipo	I	14	1
	II	381	28,4
	III	651	48,6
	IV	167	12,5
	V	108	8,1
	Sin especificar	19	1,4
Nevos comunes	<50	1179	88
	≥50	161	12
Antecedentes familiares de MM	Sí	88	6,6
	No	1011	75,4
	Sin especificar	241	18

Q25: Cuartil 25, Q75: Cuartil 75

ANEXO III: Variables a estudio

1- Demográficas:

- Edad
- Sexo

2- Clínicas:

- Nevos melanocíticos múltiples y nevos melanocíticos clínicamente atípicos
- Color de ojos
- Color de pelo
- Efélides
- Lentigos solares
- Fototipo
- Antecedentes personales quemaduras solares en el área del melanoma
- Antecedentes de quemaduras solares intensas
- Antecedentes personales de exposición solar laboral
- Antecedentes de uso de rayos UVA artificiales
- Antecedentes de queratosis actínicas
- Antecedentes familiares de melanoma
- Antecedentes familiares de cáncer de páncreas
- Localización del melanoma

3. Anatomopatológicas:

- Restos de nevo en el melanoma
- Subtipo histológico
- Índice de Breslow
- Mitosis
- Ulceración histológica
- Satelitosis microscópica

4. Genéticas

- SNP rs 1011970
- SNP rs10757257
- SNP rs7023329
- SNP rs2284063
- Mutación V600E BRAF
- Variantes MC1R

ANEXO IV: Categorización de variables a estudio:

A) Categorización para el primer MSN

1- Demográficas:

- Edad: ≤ 50 años vs. > 50 años
- Sexo: Masculino vs. Femenino.

2- Clínicas:

- **Nevos melanocíticos múltiples.** ≥ 50 vs. < 50
- **Nevos clínicamente atípicos.** Presencia vs. Ausencia
- **Color de ojos.** Verdes/ azules vs. Marrones/ Negros.
- **Color de pelo.** Rubio/castaño claro vs. Castaño oscuro/Moreno
- **Eférides.** Presencia vs. Ausencia
- **Lentigos solares.** Abundantes lentigos vs. Escasos/Ninguno
- **Fototipo.** I/II vs. III/IV/V
- **Antecedentes personales quemaduras solares en el área del MM.** Presencia vs.

Ausencia

- **Antecedentes de quemaduras solares intensas.** Presencia vs. Ausencia
- **Antecedentes personales de exposición solar laboral.** ≥ 15 años vs. < 15 años
- **Antecedentes de uso de rayos UVA artificiales.** Sí vs. No
- **Antecedentes de queratosis actínicas.** Sí vs. No
- **Antecedentes familiares de MM.** Sí vs. No
- **Antecedentes familiares de cáncer de páncreas.** Sí vs. No
- **Localización del melanoma.**

Cabeza/ cuello vs. Resto de localizaciones

Tronco vs. Resto de localizaciones

Extremidades superiores vs. Resto de localizaciones

Extremidades inferiores vs. Resto de localizaciones

Manos/pies vs. Resto de localizaciones

Zona 1: Fotoexposición crónica vs. Resto de zonas

Zona 2: Fotoexposición intermitente intensa vs. Resto de zonas

Zona 3: Fotoexposición intermitente moderada vs. Resto de zonas

Zona 4: Fotoexposición intermitente leve vs. Resto de zonas

Zona 5: No fotoexpuesto vs. Resto de zonas

3. Anatomopatológicas:

- **Restos de nevo en el MM.** Sí vs. No

- **Subtipo histológico:**

MES vs. Resto de subtipos

MN vs. Resto de subtipos

LMM vs. Resto de subtipos

MLA vs. Resto de subtipos

- **Índice de Breslow:**

≤1 mm vs. Resto de Breslow

1,01-4 mm vs Resto de Breslow

> 4mm vs Resto de Breslow

- **Mitosis por mm².** ≤4 vs. >4

- **Ulceración histológica.** Presencia vs. Ausencia

4. Genéticas

- **SNP rs1011970:** consenso vs variante homocigosis/ heterocigosis

- **SNP rs10757257:** consenso vs variante homocigosis/ heterocigosis

- **SNP rs7023329:** consenso vs variante homocigosis/ heterocigosis

- **SNP rs2284063:** consenso vs variante homocigosis/ heterocigosis

- **Mutación V600E BRAF:** mutada vs. no mutada

- **Variantes MC1R:**

R142H: consenso vs variante homocigosis/ heterocigosis

R151C: consenso vs variante homocigosis/ heterocigosis

R160W: consenso vs variante homocigosis/ heterocigosis

D294H: consenso vs variante homocigosis/ heterocigosis

V60L: consenso vs variante homocigosis/ heterocigosis

D84E: consenso vs variante homocigosis/ heterocigosis

V92M: consenso vs variante homocigosis/ heterocigosis

I155T: consenso vs variante homocigosis/ heterocigosis

V156L: consenso vs variante homocigosis/ heterocigosis

R163Q: consenso vs variante homocigosis/ heterocigosis

Al menos una variante RHC vs. Al menos una variante no-RHC

B) Categorización para el segundo MSN

1- Demográficas:

- Edad: ≤ 60 años vs. > 60 años
- Sexo: Masculino vs. Femenino.

2- Clínicas:

- **Nevos melanocíticos múltiples.** ≥ 50 vs. < 50
- **Nevos clínicamente atípicos.** Presencia vs. Ausencia
- **Color de ojos.** Verdes/ azules vs. Marrones/ Negros.
- **Color de pelo.** Rubio/castaño claro vs. Castaño oscuro/Moreno
- **Eférides.** Presencia vs. Ausencia
- **Lentigos solares.** Abundantes lentigos vs. Escasos/Ninguno
- **Fototipo.** I/II vs. III/IV/V
- **Antecedentes personales quemaduras solares en el área del MM.** Presencia vs.

Ausencia

- **Antecedentes de quemaduras solares intensas.** Presencia vs. Ausencia
- **Antecedentes personales de exposición solar laboral.** ≥ 1 año vs. < 1 año
- **Antecedentes de uso de rayos UVA artificiales.** Sí vs. No
- **Antecedentes de queratosis actínicas.** Sí vs. No
- **Antecedentes familiares de MM.** Sí vs. No
- **Antecedentes familiares de cáncer de páncreas.** Sí vs. No
- **Localización del melanoma.**

Cabeza/ cuello vs. Resto de localizaciones

Tronco vs. Resto de localizaciones

3. Anatomopatológicas:

- **Restos de nevo en el primer MM.** Sí vs. No
- **Subtipo histológico:**
 - MES vs. Resto de subtipos
 - MN vs. Resto de subtipos

- Índice de Breslow:

≤1 mm vs. Resto de Breslow

1,01-4 mm vs Resto de Breslow

> 4mm vs Resto de Breslow

- Mitosis por mm². ≤ 1 vs. Ninguna

-Ulceración histológica. Presencia vs. Ausencia

4. Genéticas

SNP rs7023329: consenso vs mutación

Variantes MC1R: Al menos una variante RHC vs. no-RHC

ANEXO V: Valores de Wald para las variables de localización o zonas de fotoexposición para la presencia de un primer MSN

Valores de Wald para las variables de localización/zona en primer MSN			
Todas las zonas	18,54	Todas las localizaciones	66,305
Zona 1	5,831	Cabeza/cuello vs. Resto	21,327
zona 2	2,072	Tronco vs. Resto	52,772
Zona 3	7,563	EESS vs. Resto	0,013
Zona 4	0,161	EEII vs. Resto	3,394
Zona 5	8,274	Manos/pies vs. Resto	12,171

**ANEXO VI: Estudio de las posibles combinaciones de las variantes del gen MC1R
para la presencia del primer MSN**

Factores asociados a la presencia de un primer MSN				
Variantes MC1R		OR	IC al 95%	P
R142H	Cn VS Ho-Ht	0,85	0,561,30	NS
	Ht VS Ho-Cn	1,35	0,92-1,97	NS
	Ho VS Ht-Cn	0,78	0,48-1,25	NS
R151C	Cn VS Ho-Ht	0,86	0,64- 1,16	NS
	Ht VS Ho-Cn	1,17	0,86-1,58	NS
	Ho VS Ht-Cn	0,97	0,43-2,20	NS
R160W	Cn VS Ho-Ht	0,64	0,30-1,35	NS
	Ht VS Ho-Cn	1,65	0,77-3,51	NS
	Ho VS Ht-Cn	0	0	NS
D294H	Cn VS Ho-Ht	0,8	0,391,66	NS
	Ht VS Ho-Cn	1,42	0,68-2,96	NS
	Ho VS Ht-Cn	0	0	NS
D84E	Cn VS Ho-Ht	0,89	0,28-2,87	NS
	Ht VS Ho-Cn	1,12	0,35-3,61	NS
	Ho VS Ht-Cn	0,35		NS
V92M	Cn VS Ho-Ht	0,92	0,62-1,36	NS
	Ht VS Ho-Cn	1,19	1,74	NS
	Ho VS Ht-Cn	0,83	0,49-1,43	NS
I155T	Cn VS Ho-Ht	0,89	0,28-2,87	NS
	Ht VS Ho-Cn	0,89	0,28-2,87	NS
	Ho VS Ht-Cn	0,35		Ns
V156L	Cn VS Ho-Ht	0,68	0,45-1,04	NS
	Ht VS Ho-Cn	0,71	0,46-1,08	NS
	Ho VS Ht-Cn	5E+0,009	0	NS
R163Q	Cn VS Ho-Ht	0,84	0,54-1,32	NS
	Ht VS Ho-Cn	1,13	0,71-1,80	NS
	Ho VS Ht-Cn	2,81	0,39-20,08	NS

Cn: Variante consenso, Ht: Variante en heterocigosis, Ho: Variante en homocigosis

ANEXO VII: estudio de las posibles combinaciones de los SNPs nevogénicos para la presencia de un primer MSN

Factores asociados a la presencia de un primer MSN				
SNPs nevogénicos		OR	IC al 95%	P
SNP 1011970	Cn VS ho-ht	1,11	0,73-1,170	NS
	Ho VS cn-Ht	1,07	0,43-2,65	NS
	Ht VS cn-Ho	0,87	0,55-1,37	NS
SNP 10757257	Cn VS ho-ht	0,88	0,60-1,28	NS
	Ho VS cn-Ht	0,98	0,54-1,79	NS
	Ht VS cn-Ho	0,56	0,78-1,59	NS
SNP7023329	Cn VS ho-ht	0,85	0,56-1,30	NS
	Ho VS cn-Ht	0,77	0,48-1,24	NS
	Ht VS cn-Ho	1,35	0,92-1,97	NS
SNP2284063	Cn VS ho-ht	1	0,68-1,47	NS
	Ho VS cn-Ht	0,81	0,47-1,38	NS
	Ht VS cn-Ho	1,12	0,77-1,4	NS

10. Referencias

*Factores clínicos, epidemiológicos, anatomopatológicos y genéticos
asociados al melanoma sobre nevo*

1. Goldstein AM, Chan M, Harland M et al., High-risk melanoma susceptibility genes and pancreatic cancer, neural system tumors, and uveal melanoma across GenoMEL. *Cancer Res.* 2006;66:9818-28.
2. Bruno W, Ghiorzo P, Battistuzzi L et al., Clinical genetic testing for familial melanoma in Italy: a cooperative study. *J Am Acad Dermatol.* 2009;61:775-82.
3. Beadling C, Jacobson-Dunlop E, Hodi FS et al., KIT gene mutations and copy number in melanoma subtypes. *Clin Cancer Res.* 2008;14:6821-8.
4. Hacker E, Nagore E, Cerroni L 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.
5. Newton-Bishop JA, Chang YM, Iles MM 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.
6. Nielsen K, Harbst K, Måsbäck A et al, Swedish CDKN2A mutation carriers do not present the atypical mole syndrome phenotype. *Melanoma Res.* 2010;20:266-72.
7. Thomas NE, Edmiston SN, Alexander A 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.
8. 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.
9. 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.
10. Bishop DT, Demenais F, Iles MM et al., Genome-wide association study identifies three loci associated with melanoma risk. *Nat Genet.* 2009;41:920-5.
11. Demenais F, Mohamdi H, Chaudru V et al. Association of MC1R variants and host phenotypes with melanoma risk in CDKN2A mutation carriers: a GenoMEL study. *J Natl Cancer Inst.* 2010;102:1568-83.
12. Duffy DL, Iles MM, Glass D et al. IRF4 variants have age-specific effects on nevus count and predispose to melanoma. *Am J Hum Genet.* 2010;87:6-16.
13. Fargnoli MC, Gandini S, Peris K et al., MC1R variants increase melanoma risk in families with CDKN2A mutations: a meta-analysis. *Eur J Cancer.* 2010;46:1413-20.
14. Galore-Haskel G, Azizi E, Mohamdi H et al. MC1R variant alleles and malignant melanoma risk in Israel. *Eur J Cancer.* 2009;45:2015-22.

15. Ibarrola-Villava M, Hu HH, Guedj M et al. MC1R, SLC45A2 and TYR genetic variants involved in melanoma susceptibility in southern European populations: results from a meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2012;48:2183-91.
16. Raimondi S, Sera F, Gandini S et al. MC1R variants, melanoma and red hair color phenotype: a meta-analysis. *Int J Cancer*. 2008;122:2753-60.
17. Yang XR, Liang X, Pfeiffer RM et al. Associations of 9p21 variants with cutaneous malignant melanoma, nevi, and pigmentation phenotypes in melanoma-prone families with and without CDKN2A mutations. *Fam Cancer*. 2010;9:625-33.
18. Held MA, Langdon CG, Platt JT et al. Genotype-selective combination therapies for melanoma identified by high-throughput drug screening. *Cancer Discov*. 2013;3:52-67.
19. Haq R, Fisher DE, Targeting melanoma by small molecules: challenges ahead. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2013;26:464-9.
20. Jang S, Atkins MB, Which drug, and when, for patients with BRAF-mutant melanoma? *Lancet Oncol*. 2013;14:e60-9.
21. Whiteman DC, Watt P, Purdie DM et al. Melanocytic nevi, solar keratoses, and divergent pathways to cutaneous melanoma. *J Natl Cancer Inst*. 2003;95:806-12.
22. 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, 151-2, 154 passim.
23. Rieger E, Soyer HP, Garbe C 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.
24. 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.
25. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: I. Common and atypical naevi. *Eur J Cancer*. 2005;41:28-44.
26. Zhu G, Duffy DL, Eldridge A 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.
27. Wachsmuth RC, Gaut RM, Barrett JH 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.

28. Wachsmuth RC, Turner F, Barrett JH et al. The effect of sun exposure in determining nevus density in UK adolescent twins. *J Invest Dermatol.* 2005; 124: 56-62.
29. Kelly JW, Rivers JK, MacLennan R et al. Sunlight: a major factor associated with the development of melanocytic nevi in Australian schoolchildren. *J Am Acad Dermatol.* 1994;30:40-8.
30. Gallagher RP, McLean DI, Yang CP 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.
31. Dulon M, Weichenthal M, Blettner M et al. Sun exposure and number of nevi in 5- to 6-year-old European children. *J Clin Epidemiol.* 2002;55:1075-81.
32. 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.
33. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. *Eur J Cancer.* 2005;41:45-60.
34. Kaskel P, Sander S, Kron M et al. 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.
35. Farinas-Alvarez C, Ródenas JM, Herranz MT et al. 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.
36. Echeverria B, Bulliard JL, Guillén C et al. 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.
37. Whiteman DC, Brown RM, Purdie DM et al. Melanocytic nevi in very young children: the role of phenotype, sun exposure, and sun protection. *J Am Acad Dermatol.* 2005;52:40-7.
38. Carli P, Naldi L, Lovati S et al. 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.
39. Aalborg J, Morelli JG, Byers TE et al. Effect of hair color and sun sensitivity on nevus counts in white children in Colorado. *J Am Acad Dermatol.* 2010;63:430-9.
40. Dellavalle RP, Johnson KR, Hester EJ 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.

41. Duffy DL, Box NF, Chen W et al. Interactive effects of MC1R and OCA2 on melanoma risk phenotypes. *Hum Mol Genet.* 2004;13:447-61.
42. Graham A, Fuller A, Murphy M et al. Maternal and child constitutional factors and the frequency of melanocytic naevi in children. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 1999; 13:316-24.
43. Wiecker TS, Luther H, Buettner P et al. 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.
44. Bastian BC. The molecular pathology of melanoma: an integrated taxonomy of melanocytic neoplasia. *Annu Rev Pathol.* 2014;9:239-71.
45. Populo H, Boaventura P, Vinagre J et al. TERT Promoter Mutations in Skin Cancer: The Effects of Sun Exposure and X-Irradiation. *J Invest Dermatol.* 2014;134:2251-7
46. Pollock PM, Harper UL, Hansen KS et al. High frequency of BRAF mutations in nevi. *Nat Genet.* 2003;33:19-20.
47. Poynter JN, Elder JT, Fullen DR et al. BRAF and NRAS mutations in melanoma and melanocytic nevi. *Melanoma Res.* 2006;16:267-73.
48. Sasaki Y, Niu C, Makino R et al. BRAF point mutations in primary melanoma show different prevalences by subtype. *J Invest Dermatol.* 2004;123:177-83.
49. Akslen LA, Puntervoll H, Bachmann IM et al. Mutation analysis of the EGFR-NRAS-BRAF pathway in melanomas from black Africans and other subgroups of cutaneous melanoma. *Melanoma Res.* 2008;18:29-35.
50. Liu W, Kelly JW, Trivett M et al. Distinct clinical and pathological features are associated with the BRAF(T1799A(V600E)) mutation in primary melanoma. *J Invest Dermatol.* 2007;127:900-5.
51. Saroufim M, Habib R, Karram S et al. BRAF analysis on a spectrum of melanocytic neoplasms: an epidemiological study across differing UV regions. *Am J Dermatopathol.* 2014;36:68-73.
52. Ichii-Nakato N, Takata M, Takayanagi S 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.
53. Xing M, Westra WH, Tufano RP et al. BRAF mutation predicts a poorer clinical prognosis for papillary thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:6373-9.
54. Mino P, Moyer MP, Jass JR. Role of BRAF-V600E in the serrated pathway of colorectal tumorigenesis. *J Pathol.* 2007;212:124-33.

55. Thomas NE. BRAF somatic mutations in malignant melanoma and melanocytic naevi. *Melanoma Res.* 2006;16:97-103.
56. Aviles JA, Lázaro P, Fernández LP et al. Phenotypic and histologic characteristics of cutaneous melanoma in patients with melanocortin-1 receptor polymorphisms. *Actas Dermosifiliogr.* 2012;103:44-50.
57. Slingluff CL, Vollmer RT, Seigler HF. Multiple primary melanoma: incidence and risk factors in 283 patients. *Surgery.* 1993;113:330-9.
58. Ferrone CR, Ben Porat L, Panageas KS et al. Clinicopathological features of and risk factors for multiple primary melanomas. *Jama.* 2005;294:1647-54.
59. Siskind V, Hughes MC, Palmer JM et al. Nevi, family history, and fair skin increase the risk of second primary melanoma. *J Invest Dermatol.* 2011;131:461-7.
60. Echeverria B, Botella-Estrada R, Serra-Guillén 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.
61. Piepkorn M. Melanoma genetics: an update with focus on the CDKN2A(p16)/ARF tumor suppressors. *J Am Acad Dermatol.* 2000;42:705-22.
62. Van Heemst D, Mooijaart SP, Beekman M et al. Variation in the human TP53 gene affects old age survival and cancer mortality. *Exp Gerontol.* 2005;40:11-5.
63. Pedace L, De Simone P, Castori M et al. Clinical features predicting identification of CDKN2A mutations in Italian patients with familial cutaneous melanoma. *Cancer Epidemiol.* 2011;35:e116-20.
64. van der Rhee JI, Krijnen P, Gruis NA, 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.
65. Amato A, Russo A, Adamo V et al. Comment on "Clinical genetic testing for familial melanoma in Italy: a cooperative study". *J Am Acad Dermatol.* 2010;63:1099.
66. Grazziotin TC, Rey MC, Bica CG et al. Genetic variations of patients with familial or multiple melanoma in Southern Brazil. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2013;27:e179-85.
67. Goldstein AM, Martinez M, Tucker MA et al. Gene-covariate interaction between dysplastic nevi and the CDKN2A gene in American melanoma-prone families. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2000;9:889-94.
68. Chaudru V, Laud K, Avril MF 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.

69. Gu F, Pfeiffer RM, Bhattacharjee S et al. Common genetic variants in the 9p21 region and their associations with multiple tumours. *Br J Cancer*. 2013;108:1378-86.
70. Falchi M, Bataille V, Hayward NK et al. Genome-wide association study identifies variants at 9p21 and 22q13 associated with development of cutaneous nevi. *Nat Genet*. 2009;41:915-9.
71. Kvaskoff M, Whiteman DC, Zhao ZZ 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.
72. Peña-Chilet M, Blanquer-Maceiras M, Ibarrola-Villava M et al. Genetic variants in PARP1 (rs3219090) and IRF4 (rs12203592) genes associated with melanoma susceptibility in a Spanish population. *BMC Cancer*. 2013 ;13:160.
73. Fang S, Han J, Zhang M et al. Joint Effect of Multiple Common SNPs Predicts Melanoma Susceptibility. *PLoS One*. 2013;8:e85642.
74. Lomas J, Martin-Duque P, Pons M et al. The genetics of malignant melanoma. *Front Biosci*. 2008;13: 5071-93.
75. Aviles JA, Lazaro P. Genetic predisposition in cutaneous melanoma. *Actas Dermosifiliogr*, 2006;97:229-40.
76. Goldstein AM, Chan M, Harland M et al. Features associated with germline CDKN2A mutations: a GenoMEL study of melanoma-prone families from three continents. *J Med Genet*. 2007;44:99-106.
77. Goldstein AM, Chaudru V, Ghiorzo P, et al. Cutaneous phenotype and MC1R variants as modifying factors for the development of melanoma in CDKN2A G101W mutation carriers from 4 countries. *Int J Cancer*. 2007;121:825-31.
78. Goldstein AM, Landi MT, Tsang S et al., Association of MC1R variants and risk of melanoma in melanoma-prone families with CDKN2A mutations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005;14:2208-12.
79. Box NF, Duffy DL, Chen W et al. MC1R genotype modifies risk of melanoma in families segregating CDKN2A mutations. *Am J Hum Genet*. 2001;69:765-73.
80. Peric B, Cerkovnik P, Novakovic S et al. Prevalence of variations in melanoma susceptibility genes among Slovenian melanoma families. *BMC Med Genet*. 2008;9:86.
81. van der Velden PA, Sandkuijl LA, Bergman W et al. Melanocortin-1 receptor variant R151C modifies melanoma risk in Dutch families with melanoma. *Am J Hum Genet*, 2001;69: 774-9.

82. Williams PF, Olsen CM, Hayward NK et al, *Melanocortin 1 receptor and risk of cutaneous melanoma: a meta-analysis and estimates of population burden*. Int J Cancer. 2011;129:1730-40.
83. Ibarrola-Villava M, Fernandez LP, Pita G et al. Genetic analysis of three important genes in pigmentation and melanoma susceptibility: CDKN2A, MC1R and HERC2/OCA2. Exp Dermatol. 2010;19:836-44.
84. Cuellar F, Puig S, Kolm I et al. Dermoscopic features of melanomas associated with MC1R variants in Spanish CDKN2A mutation carriers. Br J Dermatol, 2009;160:48-53.
85. Quint KD, van der Rhee JI, Gruis NA et al. Melanocortin 1 receptor (MC1R) variants in high melanoma risk patients are associated with specific dermoscopic ABCD features. Acta Derm Venereol. 92:587-92.
86. Yoshizawa J, Abe Y, Oiso N et al. Variants in melanogenesis-related genes associate with skin cancer risk among Japanese populations. J Dermatol. 2014 41:296-302.
87. 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.
88. Togawa Y, Nakamura Y, Kamada N et al. Melanoma in association with acquired melanocytic nevus in Japan: a review of cases in the literature. Int J Dermatol. 2010;49:1362-7.
89. Stolz W, Schmoeckel C, Landthaler M et al. Association of early malignant melanoma with nevocytic nevi. Cancer. 1989;63:550-5.
90. Crucioli V, Stilwell J. The histogenesis of malignant melanoma in relation to pre-existing pigmented lesions. J Cutan Pathol. 1982;9:396-404.
91. Massi D, Carli P, Franchi A et al. Naevus-associated melanomas: cause or chance? Melanoma Res. 1999;9:85-91.
92. Clark WH Jr, Elder DE, Guerry D 4th et al. A study of tumor progression: the precursor lesions of superficial spreading and nodular melanoma. Hum Pathol. 1984;15:1147-65.
93. Bevona C, Goggins W, Quinn T et al. Cutaneous melanomas associated with nevi. Arch Dermatol. 2003;139:1620-4.
94. Tsao H, Bevona C, Goggins W et al. The transformation rate of moles (melanocytic nevi) into cutaneous melanoma: a population-based estimate. Arch Dermatol. 2003;139:282-8.

Referencias

95. 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.
96. Rhodes AR, Harrist TJ, Day CL et al. Dysplastic melanocytic nevi in histologic association with 234 primary cutaneous melanomas. *J Am Acad Dermatol.* 1983;9:563-74.
97. Ackerman LV. Malignant melanoma of the skin; clinical and pathologic analysis of 75 cases. *Am J Clin Pathol.* 1948;18:602-24.
98. Couperus M, Rucker RC. Histopathological diagnosis of malignant melanoma. *AMA Arch Derm Syphilol.* 1954;70:199-216.
99. Cochran AJ. Histology and prognosis in malignant melanoma. *J Pathol.* 1969; 97:459-68.
100. Clark WH Jr, From L, Bernardino EA et al. The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin. *Cancer Res.* 1969;29:705-27.
101. McGovern VJ. The classification of melanoma and its relationship with prognosis. *Pathology.* 1970;2:85-98.
102. Rippey JJ, Whiting DA. Moles and melanomas. *Lancet.* 1977;2:137.
103. 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.
104. Friedman RJ, Rigel DS, Kopf AW et al. Favorable prognosis for malignant melanomas associated with acquired melanocytic nevi. *Arch Dermatol.* 1983;119:455-62.
105. 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.
106. Kopf AW, Welkovich B, Frankel RE et al. Thickness of malignant melanoma: global analysis of related factors. *J Dermatol Surg Oncol.* 1987;13:345-90, 401-20.
107. 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.
108. Urso C, Giannotti V, Reali UM et al. Spatial association of melanocytic naevus and melanoma. *Melanoma Res.* 1991;1:245-9.
109. Coombs BD, Sharples KJ, Cooke KR et al. Variation and covariates of the number of benign nevi in adolescents. *Am J Epidemiol.* 1992;136:344-55.

110. Pope DJ, Sorahan T, Marsden JR et al. Benign pigmented nevi in children. Prevalence and associated factors: the West Midlands, United Kingdom Mole Study. *Arch Dermatol.* 1992; 128:1201-6.
111. English DR, Armstrong BK. Melanocytic nevi in children. I. Anatomic sites and demographic and host factors. *Am J Epidemiol.* 1994;139:390-401.
112. Garbe C, Büttner P, Weiss J et al. Risk factors for developing cutaneous melanoma and criteria for identifying persons at risk: multicenter case-control study of the Central Malignant Melanoma Registry of the German Dermatological Society. *J Invest Dermatol.* 1994;102:695-9.
113. 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.
114. MacKie RM, English J, Aitchison TC et al. The number and distribution of benign pigmented moles (melanocytic naevi) in a healthy British population. *Br J Dermatol.* 1985;113:167-74.
115. Schmidt AN, Nanney LB, Boyd AS et al. Oestrogen receptor-beta expression in melanocytic lesions. *Exp Dermatol.* 2006;15:971-80.
116. Gallagher RP, McLean DI, Yang CP 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.
117. Holterhues C, Cornish D, van de Poll-Franse LV et al. Impact of melanoma on patients' lives among 562 survivors: a Dutch population-based study. *Arch Dermatol.* 2011;147:177-85.
118. Carli P, Massi D, Santucci M et al. 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.
119. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS 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.
120. Newton Bishop JA, Bataille V, Pinney E et al. Family studies in melanoma: identification of the atypical mole syndrome (AMS) phenotype. *Melanoma Res.* 1994;4:199-206.
121. Bataille V, Bishop JA, Sasieni P et al. Risk of cutaneous melanoma in relation to the numbers, types and sites of naevi: a case-control study. *Br J Cancer.* 1996;73:1605-11.
122. Weatherhead SC, Haniffa M, Lawrence CM. Melanomas arising from naevi and de novo melanomas--does origin matter? *Br J Dermatol.* 2007;156:72-6.

123. Spatz A, Cook MG, Elder DE et al. Interobserver reproducibility of ulceration assessment in primary cutaneous melanomas. *Eur J Cancer*. 2003;39:1861-5.
124. Whiteman DC, Brown RM, Purdie DM et al. Prevalence and anatomical distribution of naevi in young Queensland children. *Int J Cancer*. 2003;106:930-3.
125. Caini S, Gandini S, Sera F 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.
126. Chang YM, Barrett JH, Bishop DT 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.
127. Westerdahl J, Olsson H, Måsbäck A et al. Use of sunbeds or sunlamps and malignant melanoma in southern Sweden. *Am J Epidemiol*. 1994;140:691-9.
128. Westerdahl J, Ingvar C, Måsbäck A et al. Risk of cutaneous malignant melanoma in relation to use of sunbeds: further evidence for UV-A carcinogenicity. *Br J Cancer*. 2000;82:1593-9.
129. Osterlind A, Tucker MA, Hou-Jensen K et al. The Danish case-control study of cutaneous malignant melanoma. I. Importance of host factors. *Int J Cancer*. 1988;42:200-6.
130. Swerdlow AJ, English J, MacKie RM et al. Benign melanocytic naevi as a risk factor for malignant melanoma. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1986;292:1555-9.
131. Elwood JM, Whitehead SM, Davison J et al. Malignant melanoma in England: risks associated with naevi, freckles, social class, hair colour, and sunburn. *Int J Epidemiol*, 1990;19:801-10.
132. Bataille V, Winnett A, Sasieni P et al. Exposure to the sun and sunbeds and the risk of cutaneous melanoma in the UK: a case-control study. *Eur J Cancer*. 2004;40:429-35.
133. Kennedy C, Bajdik CD, Willemze R et al. The influence of painful sunburns and lifetime sun exposure on the risk of actinic keratoses, seborrheic warts, melanocytic nevi, atypical nevi, and skin cancer. *J Invest Dermatol*. 2003;120:1087-93.
134. Elwood JM, Gallagher RP, Hill GB et al. Cutaneous melanoma in relation to intermittent and constant sun exposure--the Western Canada Melanoma Study. *Int J Cancer*. 1985;35:427-33.
135. Titus-Ernstoff L, Perry AE, Spencer SK et al. Pigmentary characteristics and moles in relation to melanoma risk. *Int J Cancer*. 2005;116:144-9.

136. Berwick M, Begg CB, Fine JA et al. Screening for cutaneous melanoma by skin self-examination. *J Natl Cancer Inst.* 1996;88:17-23.
137. Kanetsky PA, Holmes R, Walker A et al. Interaction of glutathione S-transferase M1 and T1 genotypes and malignant melanoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001;10:509-13.
138. Holly EA, Aston DA, Cress RD et al. Cutaneous melanoma in women. I. Exposure to sunlight, ability to tan, and other risk factors related to ultraviolet light. *Am J Epidemiol.* 1995;141:923-33.
139. Le Marchand L, Saltzman BS, Hankin JH et al. Sun exposure, diet, and melanoma in Hawaii Caucasians. *Am J Epidemiol.* 2006;164:232-45.
140. Green A, Siskind V, Bain C et al. Sunburn and malignant melanoma. *Br J Cancer.* 1985;51:393-7.
141. Holman CD, Armstrong BK, Heenan PJ, Relationship of cutaneous malignant melanoma to individual sunlight-exposure habits. *J Natl Cancer Inst.* 1986;76:403-14.
142. Vredenburg A, Böhringer S, Boonk SE et al. Acquired melanocytic nevi in childhood and familial melanoma. *JAMA Dermatol.* 2014;150:35-40.
143. Veronesi U, Cascinelli N, Bufalino R. Evaluation of the risk of multiple primaries in malignant cutaneous melanoma. *Tumori.* 1976;62:127-30.
144. 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-325S.
145. Mackie RM, Watt D, Doherty V et al. 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.
146. Cameron FR. Melanoma of skin. Clinical account of a series of 209 malignant melanomas of skin. *J R Coll Surg Edinb.* 1968;13:233-54.
147. Jones WM, Williams WJ, Roberts MM et al. 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.
148. Requena C, Botella-Estrada R, Traves V et al. Problems in defining melanoma regression and prognostic implication. *Actas Dermosifiliogr.* 2009;100:759-66.

