



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA

Departamento de Medicina. Programa de Doctorado 3042

**CORRELACIÓN ENTRE LAS CARACTERÍSTICAS
DERMATOSCÓPICAS DEL MELANOMA Y LA PRESENCIA DE
MUTACIONES EN BRAF**

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

MIQUEL ARMENGOT CARBÓ

Dirigida por:

Prof. Dr. Rafael Botella Estrada

Prof. Dr. Eduardo Nagore Enguídanos

Valencia, febrero de 2017

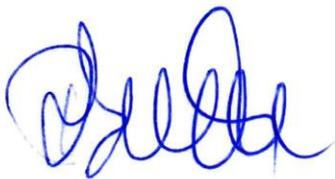
D. RAFAEL BOTELLA ESTRADA. Doctor en Medicina y Cirugía.
Profesor Titular de Dermatología de la Universitat de València

D. EDUARDO NAGORE ENGUÍDANOS, Doctor en Medicina y
Cirugía. Profesor Asociado de Dermatología de la Universidad
Católica de València.

CERTIFICAN:

Que la presente tesis doctoral, titulada CORRELACIÓN ENTRE LAS
CARACTERÍSTICAS DERMATOSCÓPICAS DEL MELANOMA
Y LA PRESENCIA DE MUTACIONES EN BRAF, presentada por
D. Miquel Armengot Carbó, ha sido realizada bajo su dirección y
reúne los requisitos necesarios para su lectura y para optar al grado de
Doctor por la Universitat de València.

Y para que conste firman el presente certificado en Valencia, a 31 de
mayo de 2017



Fdo. D. Rafael Botella Estrada



Fdo. D. Eduardo Nagore Enguñdanos

AGRADECIMIENTOS

A mis directores. Al Dr. Rafael Botella, por el esfuerzo y tiempo dedicados al desarrollo de la presente tesis y por sus consejos en los momentos de incertidumbre, así como por haber confiado en mí como profesional desde muy temprano. Al Dr. Eduardo Nagore, por su constante apoyo en este y otros proyectos, por responder siempre pacientemente a todas mis dudas sin perder su buen humor y por su papel fundamental en la obtención de los datos necesarios para esta tesis.

A los magníficos profesionales -y mejores compañeros- de los Servicios de Dermatología y Anatomía Patológica del Hospital Arnau de Vilanova; en especial a Esther Quecedo, Enrique Gimeno y José Ferrando, porque sin su colaboración este proyecto no hubiese podido llegar a buen puerto.

A mis actuales compañeros del Hospital General Universitario de Castellón, por sus consejos y apoyo. En particular a Gerard Pitarch y Ana Pitarch, por su inestimable ayuda en tantos ámbitos de mi vida profesional.

A mi familia. A mi padre, por mostrarme el camino a seguir en la vida y por demostrar que se puede llegar muy alto desde muy abajo sin pisar a nadie por el camino. A mi madre, por ser ese pilar fundamental en el que toda la familia se puede apoyar cuando lo necesita. A mis abuelos, porque con su dura vida de sacrificio y sufrimiento lograron para sus hijos y nietos la vida que ellos no pudieron vivir.

A Anabel, por su amor y comprensión y por su inagotable paciencia con este marido siempre ocupado.

A Joan, por dar sentido a todo.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS	15
ÍNDICE DE TABLAS	19
ÍNDICE DE FIGURAS	21
1 INTRODUCCIÓN.....	25
1.1 Melanoma: generalidades y diagnóstico precoz	25
1.1.1 Definición y epidemiología.....	25
1.1.2 Clasificación clinicopatológica y estadificación.....	26
1.1.3 Diagnóstico precoz del melanoma	31
1.2 Dermatoscopia: una herramienta diagnóstica y de investigación en melanoma	33
1.2.1 Definición	33
1.2.2 Técnica e instrumental.....	33
1.2.3 Estructuras dermatoscópicas	35
1.2.4 Método en 2 etapas	39
1.2.5 Dermatoscopia en localizaciones especiales: particularidades a considerar en el diseño de estudios comparativos.....	44
1.3 Etiopatogenia del melanoma: un campo en expansión.....	45
1.3.1 Factores de riesgo	46
1.3.2 Factores inmunológicos	47
1.3.3 Factores genéticos.....	48
1.3.4 Bases moleculares del melanoma.....	53
1.4 BRAF y melanoma.....	57
1.4.1 Distinta frecuencia en distintos melanomas.....	57
1.4.2 Hacia una nueva clasificación del melanoma	59
1.4.3 Repercusiones terapéuticas de los nuevos conocimientos sobre la base molecular del melanoma	64

1.4.4	Búsqueda de parámetros relacionados con mutaciones en BRAF	66
1.5	BRAF y dermatoscopia	69
2	JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	77
2.1	Justificación	77
2.2	Hipótesis	78
2.3	Objetivos	79
3	MATERIAL Y MÉTODOS	83
3.1	Ámbito del estudio	83
3.2	Diseño del estudio	83
3.3	Población del estudio	83
3.4	Muestra, muestreo y marco del estudio	84
3.4.1	Tamaño de la muestra.....	84
3.4.2	Características exigibles a la muestra	85
3.4.3	Muestreo y marco del estudio	85
3.5	Variables medidas	86
3.5.1	Variables genéticas.....	86
3.5.2	Variables clínicas	87
3.5.3	Variables histopatológicas	87
3.5.4	Variables dermatoscópicas	91
3.6	Técnicas de medida de las variables dermatoscópicas	92
3.6.1	Obtención de imágenes dermatoscópicas	92
3.6.2	Análisis de las imágenes dermatoscópicas	93
3.6.3	Técnicas moleculares: determinación de mutaciones.....	94
3.7	Evaluación estadística de los resultados	97
3.7.1	Tratamiento de la base de datos.....	97
3.7.2	Tratamiento estadístico de los resultados	97

3.7.3	Nivel de significación estadística.....	103
3.8	Tratamiento de la bibliografía.....	103
3.9	Aspectos éticos	104
4	RESULTADOS.....	107
4.1	Análisis descriptivo	107
4.1.1	Variables genéticas y clínicas.....	107
4.1.2	Variables histopatológicas.....	108
4.1.3	Variables dermatoscópicas.....	109
4.2	Análisis comparativo	114
4.2.1	Análisis univariante.....	114
4.2.1.1	Variables clínicas	114
4.2.1.2	Variables histopatológicas	116
4.2.1.3	Variables dermatoscópicas	120
4.2.2	Análisis multivariante. Modelos predictivos	125
4.2.2.1	Regresión logística múltiple	125
4.2.2.2	Árbol de clasificación.	131
5	DISCUSIÓN.....	137
5.1	Características genéticas	138
5.2	Características clínicas e histopatológicas.....	138
5.2.1	Edad	139
5.2.2	Sexo	141
5.2.3	Localización.....	142
5.2.4	Tipo histológico.....	144
5.2.5	Profundidad de invasión.....	147
5.2.6	Ulceración histológica	150
5.2.7	Índice mitótico.....	151

5.2.8	Elastosis actínica en piel peritumoral	152
5.2.9	Regresión histológica	153
5.2.10	Tipo celular	155
5.2.11	Nevus asociado.....	158
5.2.12	Resumen de las características clínicas e histopatológicas de la muestra estudiada.....	158
5.3	Características dermatoscópicas.....	161
5.3.1	Análisis descriptivo de la prevalencia de las distintas características dermatoscópicas	161
5.3.2	Análisis comparativo de las características dermatoscópicas de melanomas BRAF-mutados frente a melanomas <i>wild-type</i> ..	179
5.3.2.1	Proyecciones	179
5.3.2.2	Velo azul-blanquecino.....	186
5.3.2.3	Estructuras exofíticas papilomatosas	190
5.3.2.4	Parámetros que se han correlacionado con BRAF en otros trabajos pero no en el nuestro	191
5.3.2.5	Resumen del análisis comparativo de las características dermatoscópicas	197
5.4	Predicción del estado mutacional de BRAF	199
6	LIMITACIONES.....	205
7	CONCLUSIONES	211
8	SUGERENCIAS Y FUTUROS DESARROLLOS DEL TEMA TRATADO..	215
9	BIBLIOGRAFÍA	219
10	ANEXOS	239

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE ABREVIATURAS

ADN: ácido desoxirribonucleico

AJCC: *American Joint Committee on Cancer*

BWS: *blue-white structures*

CNMD: *Consensus Net Meeting on Dermoscopy*

CSD: *chronic sun-induced damage*. Usado para referirse a melanomas que asientan en piel con daño solar crónico

D.S.: Departamento de Salud

E: especificidad

G: patrón globular

IC: Intervalo de Confianza

IDS: *International Dermoscopy Society*

IVO: Instituto Valenciano de Oncología

LMM: lentigo maligno melanoma

MAPK: *mitogen-activated protein kinase*

MC: patrón mixto con glóbulos centrales o área homogénea central

MES: melanoma de extensión superficial

MLA: melanoma lentiginoso acral

MN: melanoma nodular

MP: patrón mixto con glóbulos en periferia

NC: no calculable

non-CSD: *non-chronic sun-induced damage*. Usado para referirse a melanomas que asientan en piel sin daño solar crónico

OMS: Organización Mundial de la Salud

OR: *Odds Ratio*

PCR: *polymerase chain reaction*. Reacción en cadena de polimerasa

R: patrón reticular

RCM: *Reflectance Confocal Microscopy*. Microscopía confocal de reflectancia

RNMC: Registro Nacional de Melanoma Cutáneo

RUV: radiación ultravioleta

S: sensibilidad

TDS: *Total Dermoscopy Score*

UVA: ultravioleta A

UVB: ultravioleta B

VPN: valor predictivo negativo

VPP: valor predictivo positivo

WT: *wild-type* (no mutado)

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Resumen de las características de los 4 principales subtipos clínicopatológicos	28
Tabla 1.2 Resumen de la estadificación del melanoma	29
Tabla 1.3 Parámetros dermatoscópicos y su correlato histopatológico .	36
Tabla 1.4 Tipos de regresión azul descritos en la literatura	38
Tabla 1.5 Estructuras vasculares en dermatoscopia	38
Tabla 1.6 Criterios de lesiones no melanocíticas.....	40
Tabla 1.7 Patrones dermatoscópicos globales	43
Tabla 3.1 Variables dermatoscópicas analizadas	91
Tabla 3.2 Interpretación del índice kappa	100
Tabla 4.1 Datos descriptivos genéticos y clínicos.....	107
Tabla 4.2 Datos descriptivos histopatológicos de la muestra estudiada	108
Tabla 4.3 Datos descriptivos dermatoscópicos de la muestra estudiada	109
Tabla 4.4 Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de la ulceración dermatoscópica en cuanto a la ulceración histológica	111
Tabla 4.5 Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de la regresión dermatoscópica en cuanto a la regresión histológica.....	112
Tabla 4.6 <i>Índice kappa de Cohen</i> para estudiar la concordancia de la valoración de las características dermatoscópicas entre los dos observadores	113

Tabla 4.7 Características clínicas según el estado mutacional de BRAF.
..... 114

Tabla 4.8 Características histopatológicas según el estado mutacional de BRAF..... 117

Tabla 4.9 Características dermatoscópicas según el estado mutacional de BRAF..... 120

Tabla 4.10 Resultados del modelo de regresión logística múltiple 126

Tabla 4.11 Capacidad predictiva del modelo de regresión logística múltiple considerado 129

Tabla 4.12 Capacidad predictiva del modelo de regresión logística múltiple considerando datos que no han sido utilizados en el ajuste de modelo..... 131

Tabla 4.13 Capacidad predictiva del árbol de clasificación 133

Tabla 4.14 Capacidad predictiva del árbol de clasificación utilizando datos que no han sido tenidos en cuenta en su construcción. 134

Tabla 5.1 Comparativa de la frecuencia de las principales estructuras dermatoscópicas..... 162

Figura 1.1 Método en 2 etapas para la evaluación dermatoscópica.....	39
Figura 1.2 Esquema de algunas de las principales vías intracelulares implicadas en favorecer la proliferación y la supervivencia de las células de melanoma.	52
Figura 1.3 Frecuencia de mutaciones en BRAF según las características de la localización donde se desarrolla el melanoma	58
Figura 1.4 Nueva taxonomía de las neoplasias melanocíticas	62
Figura 3.1 Flujo de trabajo del Cobas 4800 BRAF V600 Mutation Test...	96
Figura 4.1 Gráficos de las características clínicas según el estado de BRAF	115
Figura 4.2 Gráficos de las características histopatológicas según el estado de BRAF	118
Figura 4.3 Gráficos de las características dermatoscópicas según el estado de BRAF	122
Figura 4.4 Árbol de clasificación para predecir el estado de mutación <i>wild-type</i> /BRAf-mutado.....	132
Figura 5.1 Prevalencia de BRAf-mutado en la muestra estudiada	138
Figura 5.2 Melanomas con <i>Blue-reticular areas</i> de regresión.....	169
Figura 5.3 Melanomas con <i>Blue-whitish areas</i> de regresión.....	170
Figura 5.4 Melanomas con supuesta ulceración dermatoscópica no demostrada en histología.....	175
Figura 5.5 Melanoma con ulceración histológica no detectada en dermatoscopia	175

Figura 5.6 Melanomas con estructuras exofíticas papilomatosas	178
Figura 5.7 Ejemplos de melanomas BRAF-mutados con proyecciones.	180
Figura 5.8 Ejemplos de melanomas BRAF-mutados con velo azul- blanquecino.....	187
Figura 5.9 Hoja de cálculo basada en el modelo de regresión logística múltiple	200
Figura 5.10 Modelo predictivo del estado mutacional de BRAF: árbol de clasificación	201

1.

INTRODUCCIÓN

1 INTRODUCCIÓN

1.1 MELANOMA: GENERALIDADES Y DIAGNÓSTICO PRECOZ

1.1.1 DEFINICIÓN Y EPIDEMIOLOGÍA

El melanoma es la neoplasia maligna derivada de los melanocitos, células de origen neuroectodérmico especializadas en la producción de pigmento melánico localizadas fundamentalmente en la epidermis, por lo que la piel es la localización más frecuente de este tumor. No obstante, también se encuentran a nivel uveal, epitelio pigmentario retiniano, mucosa gastrointestinal o leptomeninges, localizaciones en las que también pueden malignizar y dar lugar a melanomas, si bien con mucha menor frecuencia¹.

El melanoma es uno de los tumores malignos cuya incidencia más ha aumentado en las últimas décadas, tanto a nivel internacional¹ como en nuestro país². En un reciente metaanálisis, la incidencia global cruda de melanoma en España fue de 8,82casos/100.000 personas-año³. La edad media de aparición en nuestro entorno es de 57 años⁴, apareciendo con mayor frecuencia en tronco (sobre todo espalda), seguido de extremidades inferiores, cabeza, extremidades superiores y mucosas⁴.

Clásicamente se ha observado una mayor incidencia en mujeres y todavía en el último informe del registro de melanoma de nuestro país se observa este predominio femenino⁴. Sin embargo esta tendencia se está invirtiendo² y en países como Estados Unidos ya se observa un claro predominio masculino⁵.

Aunque es un tumor con un alto potencial metastásico y tiene un pronóstico sombrío en estadios avanzados⁶, las tasas de supervivencia permanecen estables a pesar de la creciente incidencia⁵, gracias a una detección cada vez más precoz^{2,7,8}. De hecho, la supervivencia a los 5 años se sitúa en torno al 90%, aunque es extremadamente dispar según lo avanzado que esté el melanoma en el momento del diagnóstico, ya que para la enfermedad localizada la supervivencia a los 5 años es superior al 95% mientras que para la enfermedad metastásica se sitúa en torno al 15%⁵.

1.1.2 CLASIFICACIÓN CLINICOPATOLÓGICA Y ESTADIFICACIÓN

Clark et al^{9,10} fueron los primeros en dividir al melanoma en subtipos en función de sus características clinicopatológicas. Este es el fundamento de la clasificación actual de la Organización Mundial de la Salud (OMS)¹¹, que reconoce algunos subtipos adicionales a los originalmente definidos:

- Melanoma de extensión superficial (MES)
- Melanoma nodular (MN)
- Lentigo maligno melanoma (LMM)
- Melanoma lentiginoso acral (MLA)
- Otros: melanoma desmoplásico, melanoma nevoide, melanoma spitzoide, melanoma sobre nevus azul, melanoma sobre nevus congénito, melanomas mucosos, melanomas uveales, etc.

La mayoría de los melanomas se encuadran en los primeros 4 tipos principales. En la Tabla 1.1 se resumen sus características fundamentales¹. Las frecuencias son aproximadas y adaptadas de las observadas en el Registro Nacional de Melanoma Cutáneo⁴.

A la hora de estadificar no se tienen en cuenta, sin embargo, estos subtipos clínicopatológicos, sino la clasificación TNM (T=tumor, N=*nodes*/ganglios, M=metástasis) de la AJCC (*American Joint Committee on Cancer*)⁶. Este sistema se basa en los datos del seguimiento a largo plazo de más de 38.000 pacientes y reconoce 4 estadios principales (con varias subdivisiones por estadio).

Para la estadificación se tienen en cuenta las características histológicas del tumor primario con mayor repercusión pronóstica (que son el espesor tumoral -o espesor de Breslow-, el índice mitótico -o número de mitosis dérmicas/mm²- y la presencia de ulceración), la extensión linfática y la diseminación a distancia. Los estadios I y II corresponden a enfermedad localizada, el estadio III a melanomas con afectación ganglionar o con metástasis en tránsito/satelitosis y el estadio IV a enfermedad metastásica a distancia.

En la Tabla 1.2 se muestra un resumen de la estadificación del melanoma por la AJCC y su repercusión pronóstica^{6,12}.

Tabla 1.1. Resumen de las características de los 4 principales subtipos clínicopatológicos

Subtipo	Principales características
Melanoma de extensión superficial	<p>Subtipo más frecuente (65%).</p> <p>3ª-6ª décadas de la vida.</p> <p>Lesiones maculares o poco sobreelevadas (inicialmente), asimétricas e irregularmente pigmentadas.</p> <p>Tronco y extremidades.</p> <p>Fase de crecimiento radial en la que predomina aumento de su extensión superficial, seguida de fase de crecimiento vertical en la que predomina el crecimiento en profundidad.</p>
Melanoma nodular	<p>Segundo en frecuencia (20%).</p> <p>5ª-6ª décadas de la vida</p> <p>Nódulo pigmentado (aunque también puede ser amelanótico)</p> <p>Tronco y extremidades</p> <p>Ausencia de crecimiento radial, lesión caracterizada por un rápido crecimiento vertical.</p>
Lentigo maligno melanoma	<p>Tercero en frecuencia (10%)</p> <p>7ª década de la vida en adelante</p> <p>Mácula irregularmente pigmentada de crecimiento lento</p> <p>Cara. Más raramente localización extrafacial en zona de daño solar crónico.</p> <p>Crecimiento radial lentiginoso (sin tendencia a formar nidos) e in situ muy prolongado (años), aunque finalmente acaba produciéndose invasión dérmica (lentigo maligno melanoma) y crecimiento vertical.</p>
Melanoma lentiginoso acral	<p>El menos frecuente de los tipos principales (5%), aunque es el más frecuente en razas en las que los otros tipos son infrecuentes (asiáticos, raza negra).</p> <p>6ª década de la vida en adelante</p> <p>Mácula pigmentada irregular +/- nódulos (si ya hay componente invasor).</p> <p>Plantas, palmas y aparato ungueal</p> <p>Crecimiento radial lentiginoso seguido de crecimiento vertical.</p> <p>Tendencia a satelitosis y metástasis en tránsito.</p>

Tabla 1.2 Resumen de la estadificación del melanoma según la AJCC 2009

ESTADIO	Descripción y TNM	SUPERVIVENCIA
0	In situ (Tis)	Aprox. 100%
IA	<1.01mm sin ulceración y con <1 mitosis/mm ² (T1a)	5 años 97% 10 años 95%
IB	<1.01mm con ulceración o con ≥1 mitosis/mm ² (T1b) 1.01-2.0mm sin ulceración (T2a)	5 años 92% 10 años 86%
IIA	1.01-2.0mm con ulceración (T2b) 2.01-4.0mm sin ulceración (T3a)	5 años 81% 10 años 67%
IIB	2.01-4.0mm con ulceración (T3b) >4.0mm sin ulceración (T4a)	5 años 70% 10 años 57%
IIC	>4.0mm con ulceración (T4b)	5 años 53% 10 años 40%
IIIA	Micrometástasis en 1-3 ganglios con primario no ulcerado (T1-4a + N1a o N2a)	5 años 78% 10 años 68%
IIIB	Micrometástasis en 1-3 ganglios con primario ulcerado (T1-4b + N1a o N2a) Macrometástasis en 1-3 ganglios con melanoma primario no ulcerado (T1-4a + N1b o N2b) Metástasis en tránsito/satélite(s) sin ganglios metastásicos con primario no ulcerado (T1-4a + N2c)	5 años 59% 10 años 43%
IIIC	Macrometástasis en 1-3 ganglios con primario ulcerado (T1-4b + N1b o N2b) Metástasis en tránsito/satélite(s) sin ganglios metastásicos con primario ulcerado (T1-4b + N2c) ≥4 ganglios metastásicos o metástasis en tránsito/satélite(s) con ganglio(s) metastásico(s) o mazacote adenopático (Cualquier T + N3)	5 años 40% 10 años 24%
IV	Metástasis a distancia (Cualquier T, cualquier N, M1)	5 años 15% 10 años 10%

La correcta estadificación es fundamental en el manejo del melanoma, ya que va a ofrecer importante información pronóstica y va a condicionar los procedimientos a los que se va a someter al paciente, en función de lo que marcan al respecto las distintas guías clínicas existentes¹³⁻¹⁶. Aunque no faltan discrepancias entre ellas en algunos aspectos (especialmente en cuanto a pruebas complementarias a realizar) un resumen general del manejo podría ser:

- Ampliación de márgenes una vez se confirma el diagnóstico. La ampliación será entre 0,5 a 2cm en función del estadio.
- Biopsia selectiva de ganglio centinela en melanomas localizados a partir de estadio IB (IB-IIC).
- Linfadenectomía en estadio III (*o tratamiento de las metástasis en tránsito si este es el caso*).
- Tratamiento adyuvante con interferón a partir de estadio IIB (IIB-IIIC)
- Tratamiento de la enfermedad metastásica en estadio IV:
 - Cirugía siempre que sea posible (enfermedad metastásica limitada resecable).
 - Tratamientos antitumorales o inmunoterapia en caso de enfermedad diseminada irresecable, en función de la presencia o ausencia de determinadas mutaciones genéticas.

1.1.3 DIAGNÓSTICO PRECOZ DEL MELANOMA

Si algo resulta evidente al ver el pronóstico tan distinto que tienen las etapas tempranas y los estadios avanzados del melanoma (Tabla 1.2) es la importancia capital que tiene lograr un diagnóstico lo más precoz posible en este tumor. Para ello es esencial ser capaces de identificar los melanomas cuando todavía están en el inicio de su desarrollo y su naturaleza maligna resulta menos evidente.

Con este fin se han desarrollado distintos sistemas que ayudan a dermatólogos, médicos de atención primaria e incluso a la población general a reconocer lesiones sospechosas que sean subsidiarias de estudio histológico^{1,17-19}. El primero y más conocido de ellos es la regla del **ABCDE**, cuyas siglas corresponden, respectivamente, a Asimetría, Bordes irregulares, Colores variados, Diámetro $\geq 6\text{mm}$ y Evolución (es decir, lesión que experimenta cambios relativamente rápidos). Esta regla se fundamenta en que gran parte de los melanomas presenta varias de estas características mientras que los nevus benignos tienden a ser simétricos, con bordes regulares, de coloración más o menos uniforme y sin cambios rápidos de su morfología. Otra regla fundamental es la que se denomina “**signo del patito feo**”, que establece que debe sospecharse de una lesión pigmentada cuyo aspecto sea llamativamente distinto al del resto de lesiones pigmentadas de un paciente concreto. Finalmente, un sistema menos implantado por su mayor complejidad es la regla de los **7 puntos de Glasgow**, que reconoce 3 criterios mayores (cambio de tamaño, forma o

color) y 4 criterios menores (inflamación, sangrado, cambios sensitivos –picor, dolor– y diámetro $\geq 7\text{mm}$), otorgando 2 puntos a cada criterio mayor y 1 punto a cada criterio menor y considerando que una lesión es sospechosa cuando suma al menos 3 puntos.

Sin embargo, lo que más impacto ha tenido en el aumento de la capacidad de reconocer precozmente lesiones sospechosas susceptibles de ser analizadas histopatológicamente, y que al mismo tiempo ha reducido el número de extirpaciones innecesarias de lesiones benignas, ha sido el desarrollo e implantación generalizada de la **dermatoscopia**²⁰. En el siguiente apartado se explica con detalle el funcionamiento y la utilidad de esta técnica que actualmente se ha hecho imprescindible en la práctica clínica dermatológica y que también se ha revelado como una importante herramienta de investigación en este campo de la dermatología.

1.2 DERMATOSCOPIA: UNA HERRAMIENTA DIAGNÓSTICA Y DE INVESTIGACIÓN EN MELANOMA

1.2.1 DEFINICIÓN

La dermatoscopia, dermoscopia o microscopía de epiluminiscencia, es una técnica no invasiva que permite evaluar estructuras de la epidermis, unión dermo-epidérmica y dermis papilar que no son visibles a simple vista^{21,22}. Se basa en un sistema óptico que combina la amplificación de la imagen con un método que compensa la distorsión producida por la reflexión y refracción de la superficie cutánea²¹. Esto convierte a esta técnica en un puente entre la clínica y la histopatología de la lesión, con la ventaja de la inmediatez, y se ha demostrado que mejora la precisión del diagnóstico clínico del melanoma y otras lesiones cutáneas hasta en un 30%²⁰. Esto, junto con la aparición de dispositivos de mano asequibles y de alta calidad óptica, ha hecho que la dermatoscopia sea una técnica diagnóstica ampliamente difundida entre todos los dermatólogos y de uso habitual en la práctica clínica diaria²⁰. Además, constituye ya una importante herramienta de investigación²⁰.

1.2.2 TÉCNICA E INSTRUMENTAL

1.2.2.1 TIPOS DE DERMATOSCOPIO

Existen 2 categorías de dermatoscopios disponibles en la actualidad: los de luz no polarizada, que fueron los primeros en usarse y que requieren necesariamente el uso de un medio de inmersión, y los de luz polarizada, que pueden usarse con o sin contacto pero que no requieren medio de inmersión.

Las diferencias entre unos y otros han sido estudiadas recientemente, concluyendo que no son equivalentes sino más bien complementarios²³. Los que usan luz polarizada ofrecen una mejor visualización de estructuras más profundas, mientras que los de luz no polarizada muestran mejor las estructuras superficiales. De este modo, en los de luz polarizada se ven mejor las estructuras vasculares y las estructuras asociadas a cambios en el colágeno (como por ejemplo las crisálidas o estructuras blancas brillantes), mientras que en los de luz no polarizada destacan más los tapones córneos y los quistes tipo milio (ver en *apartado 1.2.3* la definición de estos parámetros dermatoscópicos). Además, la imagen clásica velada del llamado velo azul-blanquecino se ve con los de luz no polarizada, mientras que en los de luz polarizada destaca menos el velo y pueden observarse puntos en su interior²³.

1.2.2.2 FOTOGRAFÍA DERMATOSCÓPICA

A la hora de tomar fotos dermatoscópicas existen varias posibilidades²¹:

- Equipos de fotografía dermatoscópica especialmente diseñados para este fin, con fuente de iluminación, óptica y batería para adaptar a una cámara digital como el DermLite Foto[®], o bien totalmente integrados como el DermLite Cam[®].
- Adaptadores de dermatoscopios manuales para cámaras digitales.
- Equipos de dermatoscopia digital, diseñados para el seguimiento de las lesiones melanocíticas, como el MoleMax[®] o el FotoFinder[®].

1.2.3 ESTRUCTURAS DERMATOSCÓPICAS

Como se ha señalado, la dermatoscopia permite ver estructuras de la epidermis, unión dermo-epidérmica y dermis papilar que no son visibles a simple vista. Estas estructuras se ven como diferentes colores y signos dermatoscópicos que tienen su correlato histopatológico y que caracterizan a las lesiones melanocíticas y no melanocíticas. Las estructuras descritas originalmente en el *Consensus Net Meeting on Dermoscopy (CNMD)* en 2003²² y su correlación histopatológica^{21,24} se recogen de forma resumida en la Tabla 1.3.

Conviene hacer una puntualización respecto a los parámetros de regresión. La regresión es un proceso dinámico, por lo que se pueden observar fenómenos evolutivos: inicialmente melanofagia (de aspecto dermatoscópico azul-grisáceo), y posteriormente áreas con fibrosis (de aspecto dermatoscópico blanquecino, o blanco-rosado si se visualizan vasos o eritema). Todos estos hallazgos pueden coexistir en áreas de regresión mixta. Así, al conjunto de signos dermatoscópicos de regresión también se le llama en ocasiones “estructuras blanco-azules” o *blue-white structures*²⁴⁻²⁶. En la Tabla 1.3 se señala el *peppering* como único parámetro de regresión azul, ya que este es el clásicamente descrito, pero estudios recientes reconocen otros tipos²⁷ que se detallan en la Tabla 1.4.

También se han descrito con mayor detalle las características de las estructuras vasculares, que pueden ser claves en el diagnóstico de las lesiones no pigmentadas²⁸⁻³¹. Estas se resumen en la Tabla 1.5.

Tabla 1.3 Parámetros dermatoscópicos y su correlato histopatológico²¹⁻²⁴

PARÁMETRO	DESCRIPCIÓN	CORRELACIÓN HISTOLÓGICA
Color / Pigmentación	Escala de marrones, negro, gris, azul, rojo, blanco, amarillo	Pigmento melánico a diferente profundidad (marrón, negro, gris y azul), hemoglobina (rojo), fibrosis (blanco), queratina (amarillo).
Retículo pigmentado	Red/malla marrón o negra sobre un fondo marrón más claro	Melanina en la unión dermoepidérmica. Las líneas de la malla corresponden a las crestas epidérmicas mientras que los orificios corresponden a las papilas dérmicas
Pseudoretículo pigmentado facial	Área pigmentada facial que no muestra retículo verdadero pero queda interrumpida por espacios regulares de salidas foliculares	Melanina en la unión dermoepidérmica en una epidermis sin crestas y con abundantes aperturas foliculares
Retículo invertido o retículo pigmentado negativo	Malla formada por orificios muy pigmentados y líneas más claras	Nidos grandes de células pigmentadas en las papilas dérmicas con crestas epidérmicas elongadas
Puntos de pigmento (negros, marrones o azules)	Estructuras redondeadas de <0,1mm negras, marrones o azules	Pequeños agregados granulares de melanina o melanocitos pigmentados a diferente profundidad (estrato córneo los negros, intraepidérmicos los marrones, dérmicos los azules)
Glóbulos marrones	Estructuras redondeadas marrones de >0,1mm	Nidos de melanocitos pigmentados en la unión dermoepidérmica o dermis papilar
Áreas de hipopigmentación	Áreas sin estructura de pigmentación menor a la del resto de la lesión	No definida
Regresión blanca o despigmentación blanca tipo cicatriz	Zonas pseudocicatriciales blanquecinas, más blancas que la piel periférica normal	Fibrosis
Regresión azul / punteado azul-grisáceo en pimienta (<i>peppering</i>)	Agregados de múltiples puntos azul-grises	Melanófagos en dermis
Manchas de pigmento	Áreas pigmentadas difusas bien delimitadas	Melanina densa superficial o en los corneocitos
Proyecciones (proyecciones radiales y pseudópodos)	Estructuras periféricas en forma de líneas radiadas (proyecciones radiales) o bulbosas (pseudópodos), conectadas al cuerpo central de la lesión y diferenciadas de las líneas del retículo pigmentado	Nidos de células de morfología distinta al resto, en un proceso en fase de extensión radial, correspondiendo la morfología lineal a la forma tubular de los nidos de células desplazándose paralelos a la epidermis
Velo azul-blanquecino	Área focal azul-grisácea, difusa, cubierta por un velo blanquecino que le da aspecto en vidrio esmerilado. En zona sobreelevada de la lesión.	Hiperortoqueratosis compacta cubriendo nidos densos tumorales pigmentados en la dermis

PARÁMETRO	DESCRIPCIÓN	CORRELACIÓN HISTOLÓGICA
Estructuras blancas brillantes /crisálidas	Estructuras lineales blanquecinas brillantes cortas y gruesas, a veces dispersas de forma ortogonal o estrellada	Alteraciones del colágeno (fibrosis)
Patrón paralelo del surco en piel volar	Líneas pigmentadas paralelas, siguiendo los surcos de los dermatoglifos.	Melanina/Células tumorales pigmentadas localizadas a nivel del <i>sulcus profundus</i> , respetando los acrosiríngeos
Patrón paralelo de la cresta en piel volar	El inverso del anterior: líneas gruesas pigmentadas paralelas en la zona de las salidas glandulares ecrinas (crestas), separadas por los surcos de los dermatoglifos	Melanina/Células tumorales pigmentadas en la cresta de los dermatoglifos, invadiendo los acrosiríngeos
Estructuras papilomatosas exofíticas	Excrecencias o zonas papilomatosas, separadas por fisuras o criptas	Papilomatosis y acantosis
Criptas, fisuras	Espacios tipo cráter o hendiduras ramificadas entre estructuras papilomatosas exofíticas	Espacios entre las masas tumorales en disposición papilomatosa en lesiones papilomatosas/verruosas
Quistes tipo milio	Estructuras redondeadas pequeñas (<1mm) blanco-amarillentas brillantes	Quistes intraepidérmicos de queratina
Tapones córneos o aperturas tipo comedón	Estructuras redondeadas parduzcas, marrones o negras, con aspecto de comedón abierto y que suelen estar rodeadas por un halo más claro	Tapones de queratina localizados en invaginaciones epidérmicas y salidas foliculares dilatadas. El color oscuro se debe a la oxidación por bacterias o a la combinación con melanina
Lagunas rojo-azuladas	Estructuras rojas o rojo-azuladas bien delimitadas, redondeadas. Propio de lesiones angiomasas.	Grandes espacios vasculares dilatados localizados en la dermis superior
Estructuras vasculares	Diferenciación de pequeños vasos de morfología característica	Neoangiogénesis tumoral tanto benigna como maligna
Estructuras en rueda de carro	Estructuras que recuerdan los radios de una rueda por la presencia de proyecciones marrones o negruzcas a partir de un punto central, sin retículo asociado	Crecimiento radial de cordones de células basaloideas pigmentadas
Estructuras en hoja de arce	Proyecciones bulbosas marrón-grisáceas, que forman una estructura en forma de hoja, sin retículo pigmentado asociado (a diferencia de los pseudópodos)	Nódulos de células tumorales basaloideas pigmentadas en dermis superficial.
Nidos ovoides grandes azul-grises	Estructuras ovaladas azuladas o grisáceas, mayores que los glóbulos, sin conexión directa al cuerpo tumoral pigmentado.	Agregados tumorales basaloideas pigmentados en dermis superficial
Glóbulos azul-grises múltiples	Estructuras de >0.1mm (a diferencia de los puntos), azuladas y múltiples	Agregados de células tumorales basaloideas pigmentadas en dermis superficial (de menor tamaño que los nidos)
Parche central blanco	Placa blanca central bien delimitada con retículo delicado marrónáceo en corona	Proliferación fibrohistocitaria del dermatofibroma, bajo una epidermis acantósica y pigmentada.

Tabla 1.4 Tipos de regresión azul descritos en la literatura²⁷

Tipo de REGRESIÓN AZUL*	Descripción
Peppering	Agregado de puntos azul-grisáceos que asemejan pimienta
Blue reticular area	Red azul-grisácea con líneas gruesas azul-grisáceas y orificios grandes.
Blue-whitish areas	Pigmentación azul-blanquecina compacta, sin estructura, irregular y confluyente. Similar al velo azul-blanquecino pero localizado en una zona no sobrelevada de la lesión.
Blue globular area	Agregado de glóbulos azul-grisáceos
Blue structureless area	Pigmentación azul grisácea homogénea

*Puesto que todavía no han sido todos ellos traducidos oficialmente, se muestra su nomenclatura inglesa.

Tabla 1.5 Estructuras vasculares en dermatoscopia²⁸⁻³¹

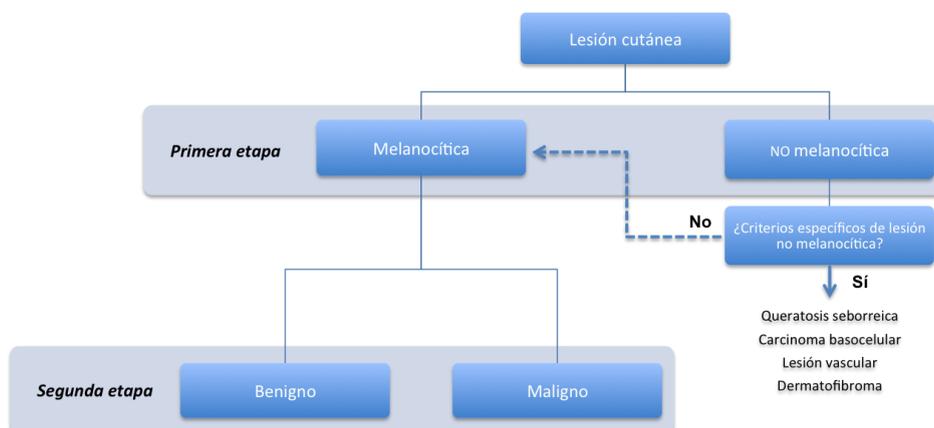
Estructura vascular	Descripción
En coma	Vasos gruesos, lineales curvados, con ramificación escasa. A veces con un extremo más grueso
Puntiformes	Puntos rojizos de pequeño calibre que simulan la cabeza de un alfiler
Glomerulares	Puntos rojizos de mayor calibre, formados por capilares enrollados tortuosos semejantes a un ovillo o a un glomérulo renal
Lineales irregulares	Vasos rectos, no regulares en calibre o tamaño
Telangiectásicos o arboriformes	Vasos de gran calibre, bien enfocados, que se ramifican en vasos secundarios más finos
En horquilla	Vasos largos de ida y vuelta, en forma de lazo, visibles como asas cuando discurren en posición oblicua a la superficie de la lesión. En tumores queratinizantes se encuentran rodeados de halo blanquecino.
Áreas/glóbulos rojo-lechosos	Zonas ovales o poligonales de coloración rosada-rojiza, desenfocadas con vasos lineales atípicos en su interior.
En corona	Vasos lineales, escasamente ramificados, que desde la periferia no traspasan el centro de la lesión
En sacacorchos	Vasos lineales irregulares, en espiral
Vasos polimorfos	Diferentes morfologías vasculares en una misma lesión
Eritema	Coloración rosada habitualmente dentro de un área de regresión o en el borde de la lesión

1.2.4 MÉTODO EN 2 ETAPAS

El conocido como “Método en 2 etapas” es el procedimiento usado para el diagnóstico diferencial en dermatoscopia por la mayoría de los grupos de trabajo y avalado por el CNMD en 2003²² y por el *Consensus Meeting of IDS* en 2007³², para este fin y para la elaboración de informes dermatoscópicos. Consiste en clasificar las lesiones mediante la identificación de ciertos parámetros y patrones dermatoscópicos, siguiendo los pasos de un algoritmo dividido en 2 etapas principales²¹. En la [Figura 1.1](#) se muestra dicho algoritmo.

La primera etapa se refiere a la diferenciación entre lesiones melanocíticas y no melanocíticas, mientras que la segunda etapa se centra en diferenciar, dentro de las melanocíticas, entre benignas y malignas. Esto permitirá tomar la decisión clínica más adecuada.

Figura 1.1 Método en 2 etapas para la evaluación dermatoscópica



1.2.4.1 PRIMERA ETAPA: MELANOCÍTICA O NO MELANOCÍTICA

Consiste en evaluar la presencia de criterios propios de lesión melanocítica. Si no se encuentran, se buscan criterios de diversas lesiones no melanocíticas. Si tampoco se observan estos, se vuelve a considerar la posibilidad de que sea una lesión melanocítica para no pasar por alto un melanoma.

Los criterios de lesión melanocítica son los siguientes:

- Retículo pigmentado
- Agregados de glóbulos
- Ramificaciones lineales (proyecciones)
- Pigmentación azul-homogénea
- Localizaciones especiales: patrón paralelo (piel volar), pseudoretículo pigmentado (cara).
- Lesión que no presenta ninguno de estos criterios pero tampoco criterios específicos de una lesión no melanocítica concreta ([Tabla 1.6](#)).

Tabla 1.6 Criterios de lesiones no melanocíticas^{21,24}

<i>Lesión NO melanocítica</i>	<i>Criterios dermatoscópicos</i>
Queratosis seborreica	<ul style="list-style-type: none">- Múltiples quistes tipo milio- Tapones córneos- Fisuras y crestas (patrón cerebriforme)- Estructuras en huella digital
Carcinoma basocelular	<ul style="list-style-type: none">- Telangiectasias arborescentes- Estructuras en hoja de arce- Estructuras en rueda de carro- Ulceración- Grandes nidos ovoides azul-grises- Múltiples glóbulos azul-grises
Lesión vascular	<ul style="list-style-type: none">- Lagunas rojo-azules- Áreas homogéneas rojo-azuladas
Dermatofibroma	<ul style="list-style-type: none">- Parche blanco central- Retículo fino periférico

1.2.4.2 SEGUNDA ETAPA: LESIÓN MELANOCÍTICA BENIGNA O MALIGNA

Una vez concluida la primera etapa, las lesiones consideradas melanocíticas se analizan en esta segunda etapa para diferenciar lesiones benignas (nevus, lentigos) de lesiones malignas o sospechosas de malignidad (melanomas) para lo cual se han diseñado varios métodos²¹:

- Regla del ABCD³³ de la dermatoscopia: otorga a las lesiones una puntuación dermatoscópica (*Total Dermoscopy Score* o TDS) en base al grado de asimetría (0-2), delimitación abrupta de los bordes (0-8), número de colores (1-6) y número estructuras dermatoscópicas observadas (1-5), mediante una fórmula matemática ($A \times 1,3 + B \times 0,1 + C \times 0,5 + D \times 0,5 = TDS$). Cuando el TDS es $<4,75$, la lesión se considera benigna, cuando es $>5,45$ se considera altamente sospechosa de melanoma. Cuando los valores se sitúan entre estos dos límites la lesión se considera sospechosa y se recomienda seguimiento estrecho o extirpación.
- La lista de los 7 puntos³⁴: reconoce 3 criterios mayores (retículo atípico, velo azul-blanquecino y patrón vascular atípico), a los que otorga 2 puntos, y 4 menores (proyecciones irregulares, puntos/glóbulos irregulares, manchas de pigmento irregulares y estructuras asociadas a regresión), a los que otorga 1 punto. Cuando la puntuación total suma al

menos 3 puntos, es sugestiva de melanoma, mientras que si es de <3 puntos indica lesión benigna.

- Método Menzies³⁵: este sistema contempla 2 criterios negativos (simetría del patrón de pigmentación y monocromía) y 9 criterios positivos (velo azul-blanquecino, múltiples puntos marrones, pseudópodos, proyecciones radiales, despigmentación pseudocicatricial, puntos/glóbulos negros periféricos, múltiples colores [5-6], múltiples puntos azul-gris y retículo pigmentado prominente). Para establecer la sospecha de melanoma no deben estar presentes ninguno de los 2 criterios negativos y debe haber al menos uno de los 9 positivos.
- Análisis de patrones^{21,36}: se fundamenta en el reconocimiento de patrones dermatoscópicos, evitando las rígidas reglas de los anteriores, lo que lo ha convertido en el método más usado entre los dermatólogos. Se basa en una valoración completa de todas las características dermatoscópicas de una determinada lesión identificando su patrón global y las estructuras localizadas que lo componen (las descritas en la Tabla 1.3). En la Tabla 1.7 se detallan los patrones dermatoscópicos globales que pueden identificarse con este método^{21,22}.

Tabla 1.7 Patrones dermatoscópicos globales

Patrón	Definición	Significado más habitual
Reticulado	Retículo pigmentado que cubre la mayoría de la lesión	Nevus melanocítico
Globular	Estructuras redondas u ovals, numerosas, de varios tamaños con varios tonos de coloración marrón y/o negro	Nevus melanocítico
Empedrado	Glóbulos grandes, distribuidos muy cerca, de forma poligonal semejando un empedrado	Nevus dérmico
Homogéneo	Pigmentación difusa, marrón, gris azulada a gris negruzca en ausencia de otras características locales distintivas	Nevus azul
Estallido de estrellas	Proyecciones radiadas pigmentadas en el borde de una lesión cutánea pigmentada	Nevus de Reed/Spitz
Multicomponente	Combinación de 3 o más estructuras dermatoscópicas distintas en una misma lesión	Melanoma
Inespecífico	Lesión pigmentada con falta de características dermatoscópicas distintivas	Melanoma
Paralelo	En lesiones melanocíticas palmoplantares donde la pigmentación puede seguir los surcos o las crestas de la piel.	Nevus acral (patrón paralelo del surco) Melanoma (patrón paralelo de la cresta)

1.2.5 DERMATOSCOPIA EN LOCALIZACIONES ESPECIALES: particularidades a considerar en el diseño de estudios comparativos

Tanto la piel de la cara como la piel volar o las mucosas tienen unas características histológicas que condicionan una dermatoscopia particular y diferenciada de la que puede observarse en el resto de la piel²¹. Esto hace que muestren estructuras específicas -como los patrones paralelos en piel volar (condicionados por los dermatoglifos) o el pseudorretículo de la piel facial (condicionado por la ausencia de crestas y papilas y la abundancia de anejos cutáneos)- que aparecen únicamente en estas localizaciones. Del mismo modo, así como en el resto de la superficie cutánea es frecuente la presencia de retículo pigmentado, no encontraremos casi nunca esta estructura en la cara o en palmas/plantas^{37,38}.

Por lo tanto, las lesiones melanocíticas en estas localizaciones son intrínsecamente distintas al resto y tienen sus propias estructuras dermatoscópicas y sus propios criterios de malignidad y benignidad que no son comparables en su mayoría a las lesiones melanocíticas del resto de la superficie cutánea. Esto limita la posibilidad de mezclarlos a la hora de realizar análisis estadísticos en estudios que buscan identificar las características dermatoscópicas que diferencian grupos (por ejemplo grupos con distinta mutación genética, sujeto de estudio de la presente tesis). De hecho, en varios estudios dermatoscópicos esto se tiene en cuenta, bien realizando un análisis

separado de los datos que no incluya los melanomas de estas localizaciones³⁹, o bien excluyéndolos desde un principio de la investigación debido a sus características dermatoscópicas específicas de localización que impiden una adecuada comparación con el resto⁴⁰⁻⁴².

1.3 ETIOPATOGENIA DEL MELANOMA: UN CAMPO EN EXPANSIÓN

Aunque se han conseguido grandes progresos en el diagnóstico cada vez más precoz del melanoma (con un papel fundamental de la dermatoscopia en este sentido), el campo en el que actualmente se están produciendo los mayores avances es el de su etiopatogenia. En los últimos años se está realizando una intensa investigación sobre la patogénesis y los factores de riesgo relacionados con la aparición de melanoma. Por un lado, para poder identificar grupos de pacientes de alto riesgo que puedan beneficiarse de programas de *screening* que conduzcan a una detección más precoz del melanoma¹. Por otro lado, el estudio de las bases moleculares del melanoma y de las mutaciones implicadas en su patogénesis ha adquirido una gran relevancia con la llegada de fármacos dirigidos contra genes y vías de señalización que han revolucionado el tratamiento del melanoma metastásico⁴³.

A raíz de estas investigaciones se han descrito varios factores de riesgo (exógenos y endógenos), factores inmunológicos y aberraciones moleculares implicados en la etiopatogenia del melanoma.

1.3.1 FACTORES DE RIESGO

Entre los factores de riesgo, el más conocido de todos (incluso entre la población general) es la radiación ultravioleta (RUV). La exposición solar intermitente y las quemaduras solares, especialmente las producidas antes de la edad adulta⁴⁴, así como el uso de cabinas de bronceado⁴⁵, se asocian a un mayor riesgo de desarrollar melanoma. En efecto, los rayos UVA (longitud de onda: 315-400 nm) y UVB (longitud de onda: 280-315 nm) promueven efectos deletéreos en las biomoléculas y pueden provocar daños en el ADN causando alteraciones genéticas. Se cree que la radiación UVB es más carcinogénica que la UVA, ya que induce daño en el ADN de forma directa, mientras que la UVA produce estrés oxidativo. Teniendo esto en consideración, la RUV puede conducir al desarrollo de melanoma a través de efectos genotóxicos y mitogénicos en los melanocitos⁴⁶.

Aunque la RUV es un factor de riesgo de gran importancia, no es el único, ya que varios factores endógenos, condicionados por la genética de cada individuo, tienen un papel fundamental. Un mayor número de nevus (especialmente nevus atípicos), una mayor sensibilidad de la piel a la RUV (fototipo bajo), así como los antecedentes personales o familiares de melanoma, tienen una gran repercusión en el riesgo individual de desarrollar melanoma^{47,48}. De hecho, el riesgo relativo que confieren estos factores endógenos supera al que confiere la exposición inadecuada a RUV. No obstante, la exposición a la RUV es un factor

de riesgo que se puede modular para realizar prevención primaria del melanoma, mientras que los factores endógenos son inherentes al individuo y no los podemos modificar, aunque su conocimiento sirve para identificar grupos de riesgo que requieren de un mayor control dermatológico.

1.3.2 FACTORES INMUNOLÓGICOS

Uno de los mecanismos inmunológicos antitumorales más importantes es la identificación y eliminación de las células cancerígenas por parte de los linfocitos T citotóxicos⁴⁹. Este papel del sistema inmune en el control de los tumores es el que llevó a la introducción del interferón como tratamiento adyuvante tras la cirugía en pacientes con melanoma localmente avanzado o con afectación ganglionar (aunque con unos efectos en la supervivencia muy limitados)⁵⁰.

Sin embargo, las células tumorales son capaces de alterar los mecanismos que llevan al sistema inmune a reconocerlas para así poder escapar a este mecanismo⁴⁹. Una forma de resistencia al sistema inmune, importante en el caso del melanoma, guarda relación con los mecanismos responsables de la tolerancia a los autoantígenos, que evitan de forma fisiológica el desarrollo de autoinmunidad. El melanoma es capaz de aprovechar estos mecanismos para inhibir la respuesta inmune que se podría desarrollar frente a sus antígenos. Importantes moléculas implicadas en estos procesos son el CTLA-4 y el PD-1, expresadas por los linfocitos T, y sus respectivos ligandos expresados en la célula que presenta los antígenos.

Gracias al conocimiento de estos mecanismos de resistencia tumoral a la respuesta inmune, se han desarrollado en los últimos años nuevos fármacos que actúan a este nivel, permitiendo que el sistema inmune reconozca y ataque a las células del melanoma. Ejemplos de este tipo de fármacos son el ipilimumab (inhibidor de CTLA-4) o el pembrolizumab (inhibidor de PD-1)⁵¹.

1.3.3 FACTORES GENÉTICOS

La fuerte expansión de la oncología molecular en las últimas dos décadas ha incrementado rápidamente nuestros conocimientos respecto a las moléculas y vías de señalización implicadas en el desarrollo del cáncer en general y del melanoma en particular⁵².

Varios factores genéticos heredados y adquiridos han sido identificados como potencialmente relacionados con la malignización de los melanocitos y el desarrollo de melanoma, a través de la activación de ciertos oncogenes y/o mediante la inactivación de genes supresores tumorales⁴³, involucrados en vías de señalización intracelular con efecto proproliferativo o antiapoptótico. Estas vías están fuertemente activadas en los melanomas, lo que les confiere un gran potencial proliferativo y resistencia a la apoptosis⁵³.

Se han descrito varios mecanismos responsables de esta proliferación y supervivencia tumoral^{43,53-57}:

- 1) Activación constitutiva de receptores de factores de crecimiento, que en el caso del melanoma se produce fundamentalmente por mutaciones en c-KIT.
- 2) Activación de la vía de señalización de las MAP-quinasas (RAS/RAF/MEK/ERK): es el principal mecanismo molecular implicado en el desarrollo de melanomas y las principales mutaciones responsables son las de BRAF y NRAS.
- 3) Activación constitutiva de la vía AKT (PI3K/AKT), fundamentalmente por alteración del gen supresor tumoral PTEN
- 4) Alteraciones de la red de control del ciclo celular, por delección, silenciamiento o mutación del gen CDKN2A, que codifica las proteínas inhibidoras p16 y p14; o por amplificación de CDK4 o de la ciclina D1 (CCND1). Las mutaciones en línea germinal de CDKN2A y CDK4 son las responsables de una parte de los casos de melanoma familiar^{43,58,59}.
- 5) Deterioro de la actividad transcripcional de la proteína proapoptótica p53
- 6) Activación persistente de las proteínas de transducción de señales acopladas a los receptores celulares, por mutaciones en las proteínas G de la familia de las GTPasas, como mutaciones en el gen GNAQ y GNA11⁵⁶.

- 7) Alargamiento de los telómeros, por amplificación en la telomerasa transcriptasa reversa, básicamente por mutaciones en el promotor del gen TERT.
- 8) Sobreexpresión de proteínas antiapoptóticas de la familia de Bcl-2 (resultado final de varias de las aberraciones anteriores).

En un artículo publicado por *Martí et al*⁵³ se elabora un excelente esquema que resume la mayoría de estos nuevos conocimientos (adaptado en la [Figura 1.2](#)).

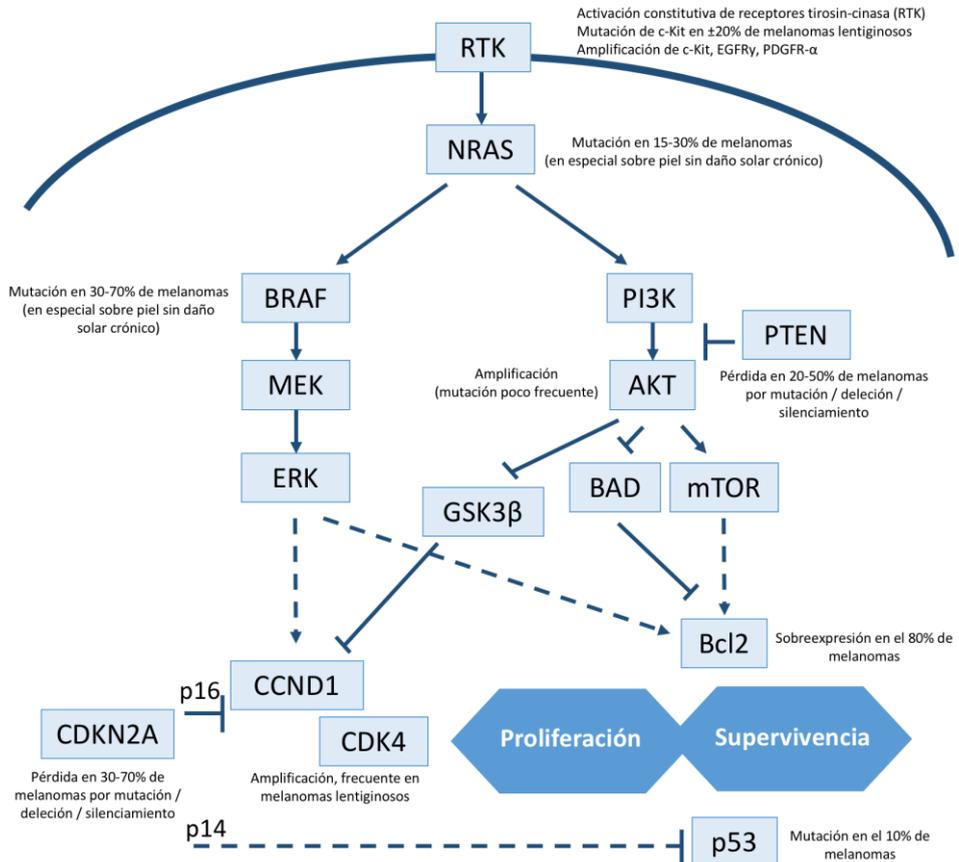
El descubrimiento de estos mecanismos está permitiendo el desarrollo de nuevos fármacos antidiaria de uso específico según la alteración molecular implicada en el desarrollo del melanoma en cuestión. Están en desarrollo fármacos dirigidos contra prácticamente cada uno de los elementos de estas vías⁵³ (aunque con un éxito terapéutico variable). De hecho, algunos ya han dado el salto a la práctica clínica habitual, como los inhibidores de BRAF y los inhibidores de MEK, y han supuesto una revolución en el tratamiento del melanoma metastásico.

Aparte de estas aberraciones moleculares, también las alteraciones que afectan a genes implicados en la pigmentación de piel y cabello, como el receptor de melanocortina (MC1R), parece que pueden influir en el desarrollo de melanoma^{60,61}.

Con todo, queda patente que el desarrollo y progresión del melanoma tiene una etiopatogenia compleja que todavía dista de estar totalmente dilucidada. El melanoma no se produce por la mutación de un único gen ante un carcinógeno concreto, sino por una compleja interacción de diversos factores ambientales, inmunológicos y genéticos (tanto heredados como adquiridos), que acaban por producir una proliferación celular persistente y una resistencia a la apoptosis y al control inmune.

En el siguiente apartado se concretan algunos de los nuevos conocimientos sobre el proceso que conduce del melanocito normal a la célula del melanoma y las repercusiones que estos tienen en la comprensión de este tumor y su adecuada clasificación y manejo.

Figura 1.2 Esquema de algunas de las principales vías intracelulares implicadas en favorecer la proliferación y la supervivencia de las células de melanoma⁵³.



Descripción de la figura 1.2 (adaptada del artículo original de Martí et al⁵³): algunos melanomas poseen una activación constitutiva de receptores de factores de crecimiento con actividad tirosin-cinasa (RTK) (p.e. c-Kit), ya sea por amplificaciones o por mutaciones de los genes que los codifican. No obstante, la aberración molecular más frecuente es la activación de la vía de señalización de las MAP-quinasas (proteín cinasas activadas por mitógenos) (RAS/RAF/MEK/ERK), debida fundamentalmente a mutaciones de BRAF o NRAS. Con relativa frecuencia, poseen además activada la vía de las fosfatidil-inositol 3 cinasas (PI3K) (PI3K/AKT). Esta vía puede estar activada de forma secundaria a las mutaciones de NRAS o por amplificación de AKT, pero sobre todo se ve favorecida por la pérdida del papel inhibitor de PTEN, resultado de alteraciones del gen supresor tumoral PTEN. Por otro lado, en la activación del ciclo celular contribuyen las alteraciones de CDKN2A, que producen defectos de las 2 proteínas codificadas por este gen (p16 y p14), así como las amplificaciones de CDK4 y CCND1 (ciclina D1). Todo ello influye en el deterioro de la actividad de la proteína propapoptótica p53 (que también puede estar mutada en algunos casos) y la sobreexpresión de proteínas antiapoptóticas de la familia de Bcl-2.

1.3.4 BASES MOLECULARES DEL MELANOMA: DEL MELANOCITO AL MELANOMA

Las investigaciones recientes sobre las bases moleculares de la proliferación melanocitaria ha conducido a una mejor comprensión del proceso que conduce al desarrollo de tumores melanocíticos, tanto benignos como malignos.

Uno de los hallazgos más llamativos obtenidos en estos estudios ha sido el descubrimiento de que los nevos melanocíticos benignos muestran una alta frecuencia de mutaciones en importantes oncogenes. Así, las mutaciones en BRAF son extremadamente frecuentes en los nevos adquiridos (80%)^{62,63}, y otros oncogenes muestran también mutaciones con una llamativa frecuencia en otros tipos de nevos benignos: nevos congénitos (NRAS, 55%^{63,64}), nevos de Spitz (HRAS, 13%^{63,65}) y nevos azules (GNAQ o GNA11, 63-83%^{63,66,67}).

Este hallazgo tiene dos implicaciones muy relevantes. Por una parte, confirma que estas mutaciones son capaces de inducir e iniciar la proliferación melanocitaria. Pero por otra parte, resulta evidente que estas mutaciones por sí solas no son suficientes para que se desarrolle un melanoma ya que pueden generar únicamente la proliferación benigna autolimitada que caracteriza a los nevos⁶⁸. Por lo tanto, es de suponer que serán necesarias otras alteraciones adicionales para llegar a la proliferación descontrolada propia de las células malignas.

Esto es debido a que la activación de estos oncogenes pone en marcha mecanismos de supresión tumoral que frenan la expansión de los melanocitos parcialmente transformados, frenándose el crecimiento de la lesión⁵⁷. Desde que se produce la mutación inicial hasta que se inician los mecanismos de senescencia/supresión tumoral debe existir una latencia durante la cual se produce la proliferación de melanocitos que da lugar al nevus melanocítico⁵⁷.

Dicha latencia puede ayudar a explicar la gran variabilidad interpersonal que se observa en la práctica clínica en cuanto a la morfología de los nevus melanocíticos. Se puede suponer que en los pacientes con pocos nevus y de pequeño tamaño, la latencia probablemente sea muy corta, mientras que en los pacientes con múltiples nevus y nevus de gran tamaño probablemente existe una latencia mucho mayor, que permite un mayor crecimiento de las lesiones, seguramente por el fallo de alguno/s de los mecanismos implicados en la represión de la proliferación. Un ejemplo de ello son los individuos portadores de mutaciones en CDKN2A, que sufren una disfunción del supresor tumoral p16 y que, en consecuencia, muestran nevus más numerosos y de mayor tamaño⁵⁹. No obstante, el hecho de que, aunque más grandes y numerosas, las lesiones que aparecen en estos pacientes no dejan de ser en su mayoría benignas (nevus), implica que deben haber otros mecanismos de senescencia involucrados en el control de la proliferación, de forma que cuando solo falla uno, otro actúa más pronto o más tarde. En consecuencia, serían necesarios fallos adicionales para

que acabara apareciendo la proliferación celular descontrolada propia del melanoma. En cualquier caso, lo que resulta evidente es que aquellos individuos con mutaciones germinales en genes supresores tumorales (como CDKN2A o CDK4, que están mutados en un 20-40%⁴³ y un 2-3%⁵⁸ de los melanomas familiares respectivamente), tendrán un mayor riesgo de desarrollar melanoma, al tener ya de base un fallo en uno de los mecanismos de senescencia.

Todo esto explica, además, por qué la presencia de nevus numerosos y/o clínicamente atípicos se ha revelado en múltiples estudios como un factor de riesgo para el desarrollo de melanoma, y da mayor sentido a su consideración como un marcador que permite reconocer a individuos con un alto riesgo de melanoma⁶⁹. La presencia de gran número de nevus en estos pacientes refleja un defecto congénito en los mecanismos de represión de la proliferación celular melanocitaria que permite que los melanocitos proliferen formando nevus al adquirir mutaciones oncogénicas en genes como BRAF⁵⁷.

En resumen, la proliferación neoplásica iniciada por mutaciones en oncogenes (eventos oncogénicos primarios) es reprimida por múltiples mecanismos independientes, que pueden superarse mediante mutaciones adicionales (eventos oncogénicos secundarios y terciarios) que llevan a una pérdida de función en múltiples supresores tumorales, y que pueden ser congénitos o adquiridos⁵⁷.

Así pues, cuando en el melanocito se produzcan alteraciones moleculares que activen de forma permanente la proliferación celular y a estas alteraciones se les sumen otras que impidan una adecuada represión de esta proliferación, la célula se multiplicará sin control, desarrollando un melanoma.

A continuación nos centraremos en la que se ha revelado como la principal vía alterada en la etiopatogenia del melanoma: la de las MAP-quinasas. Especialmente en la mutación más frecuentemente implicada de todas, la de BRAF, que fue la primera para la que hubo tratamiento antitumoral específico y, posiblemente por ello, la más investigada y mejor caracterizada.

1.4 BRAF Y MELANOMA

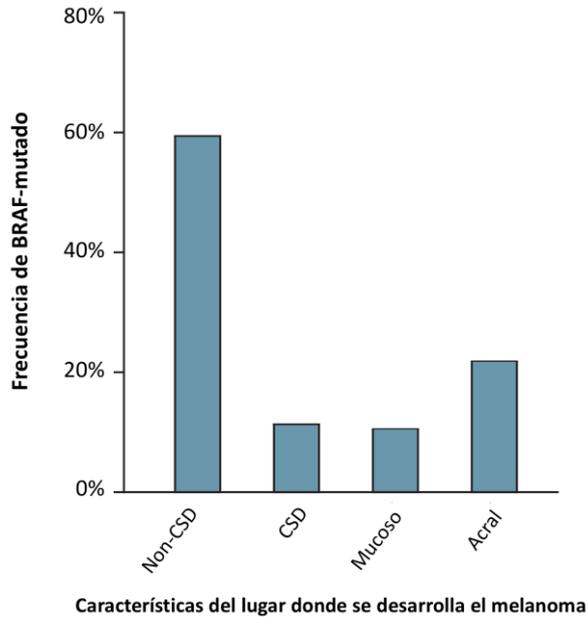
1.4.1 DISTINTA FRECUENCIA EN DISTINTOS MELANOMAS

Como ya se ha mencionado, la vía de señalización más frecuentemente alterada en los melanomas es la vía de señalización intracelular MAP-cinasa (MAPK: *mitogen-activated protein kinase*), que incluye cuatro cinasas: RAS, RAF, MEK y ERK, y que regula la proliferación celular^{43,70} (Figura 1.2). Dentro de ella, la anomalía más frecuente son las mutaciones en BRAF, que provocan una activación permanente de esta cinasa y, por tanto, de la vía MAPK⁴³. Entre las posibles mutaciones de BRAF, la más frecuente es la que causa una sustitución aminoacídica V600E (cambio de valina por ácido glutámico en la posición 600).

Las mutaciones en BRAF están presentes en alrededor de un 40% de los melanomas (22-72% según series)^{70,71}. Aunque esta es la frecuencia global, en múltiples estudios se ha evidenciado que la prevalencia es llamativamente dispar entre melanomas con características distintas. Así, la frecuencia de mutaciones en BRAF es mucho mayor en aquellos melanomas que aparecen en piel sin daño solar crónico (59%), que en aquellos melanomas que aparecen sobre piel con daño solar crónico (11%), sobre piel acral (23%) o sobre mucosas (11%)⁷². Estos datos, obtenidos del estudio de 2005 que originalmente describió esta diferencia⁷², se ilustran en la Figura 1.3. Con el fin de utilizar una terminología semejante a la que se puede encontrar en la literatura, se emplearán las siglas CSD (del inglés *Chronic Sun-induced Damage*) para referirse a la piel con daño

solar crónico, mientras que para designar la piel sin daño solar crónico se utilizará la abreviatura non-CSD.

Figura 1.3 Frecuencia de mutaciones en BRAF según las características de la localización donde se desarrolla el melanoma⁷². *Non-CSD = piel sin daño solar crónico / CSD = piel con daño solar crónico*



Así pues, melanomas que pertenecen a un mismo subtipo según el sistema actual de clasificación, pueden tener en realidad una base molecular totalmente distinta. Por ejemplo, los melanomas nodulares que aparecen en piel non-CSD tienen una frecuencia de mutaciones en BRAF similar a los melanomas de extensión superficial que aparecen en esta misma localización. Del mismo modo, melanomas nodulares y melanomas de extensión superficial que aparezcan en piel CSD tendrán un perfil genético similar a pesar de ser subtipos clínicopatológicos distintos⁷².

1.4.2 HACIA UNA NUEVA CLASIFICACIÓN DEL MELANOMA

Como ya se ha explicado anteriormente, en la práctica clínica diaria sigue utilizándose la clasificación clinicopatológica de la OMS¹¹, basada en la clasificación propuesta por *Clark et al*^{9,10}. Sin embargo, a la vista de los nuevos descubrimientos sobre la distinta base genética de los melanomas, resulta evidente que esta clasificación está quedando obsoleta y es incapaz de diferenciar melanomas con distinta base molecular.

Por este motivo, en los últimos años existe una tendencia cada vez mayor a intentar clasificar los melanomas en función de sus características genéticas y no tanto en función de las características clínico-patológicas que hasta ahora se han estado usando. Ello no se debe únicamente a una mayor comprensión de su patogénesis, sino también a la aparición de distintas terapias dirigidas contra dianas moleculares concretas que son eficaces exclusivamente en aquellos casos que presentan una determinada mutación.

*Bastian*⁵⁷ propuso en 2014 una nueva clasificación que constituye un compendio de todos estos recientes descubrimientos. Fundamentándose en estos nuevos conocimientos, Bastian consigue crear toda una taxonomía de las lesiones melanocíticas que las agrupa según su distinta base etiopatogénica.

Tras una primera distinción entre neoplasias melanocíticas asociadas o no a epitelio, va diferenciando distintos grupos o taxones. Dentro de un mismo taxón,

las lesiones incluidas tendrían en común el evento oncogénico primario, de tal modo que en cada grupo la frecuencia de una determinada mutación oncogénica es similar. Además, los taxones están organizados en *dimensiones* en función del estadio evolutivo desde benigno a maligno (pasando por un estadio intermedio o límite *–borderline–* en algunos casos). Dentro de la *dimensión* maligna de las lesiones melanocíticas encontraríamos la nueva clasificación de los melanomas:

- Melanomas asociados a epitelio :
 - En piel con daño solar crónico:
 - **Melanomas cutáneos de piel CSD**
 - A este grupo pertenece fundamentalmente el LMM, aunque también los MES y MN que asientan en piel CSD (*si bien esta no es su localización más frecuente*).
 - **Melanomas cutáneos desmoplásicos**
 - En piel sin daño solar crónico (exposición intermitente):
 - **Melanomas cutáneos de piel non-CSD**
 - A este grupo pertenecen los MES y MN que asientan en piel non-CSD (*que es su localización más frecuente*).
 - **Melanomas cutáneos spitzoides**
 - En piel glabra (piel sin pelo y aparato ungueal)
 - **Melanomas cutáneos acrales**
 - A este grupo pertenece el MLA
 - En mucosas
 - **Melanomas mucosos**

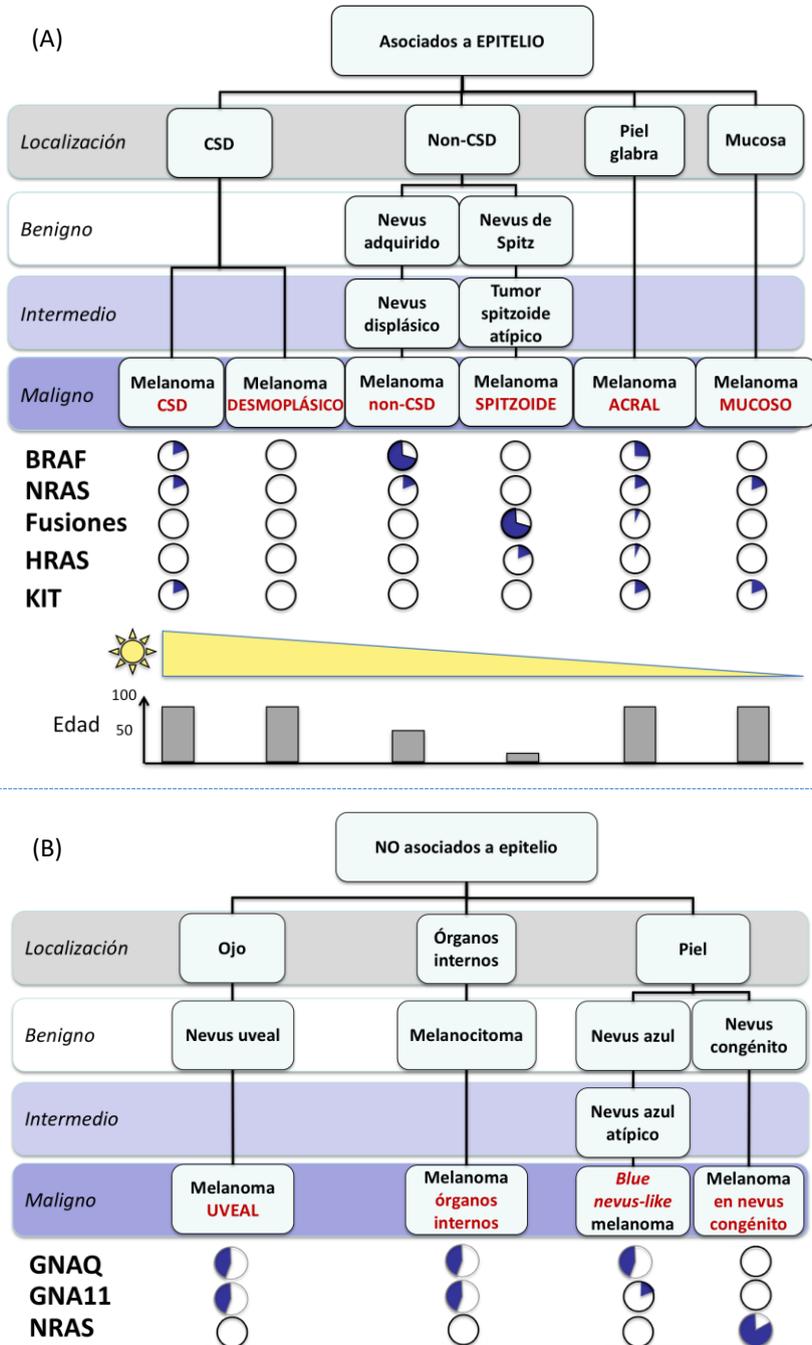
- Melanomas no asociados a epitelio:
 - **Melanomas cutáneos dérmicos:**
 - Melanoma que semeja nevus azul (*blue nevus-like melanoma*).
 - Melanomas sobre nevus congénito.
 - **Melanomas uveales**
 - **Melanomas de órganos internos** (gastrointestinal, genitourinario, sistema nervioso central)

En la Figura 1.4 se muestra la taxonomía propuesta por Bastian. Podemos comprobar cómo esta nueva clasificación se correlaciona con los descubrimientos de los últimos años, como el distinto papel que ejerce la RUV, la afectación a distintos grupos etarios y la distinta base genética que existe entre los diferentes grupos.

De este modo, respecto a los tumores melanocíticos cutáneos tenemos que:

- Los **nevus adquiridos** y el **melanoma de piel non-CSD** pertenecen a un mismo taxón, caracterizado por presentarse en piel sin daño solar crónico, en pacientes más jóvenes que otros grupos y con una alta frecuencia de mutaciones en BRAF.
- Los **tumores spitzoides** benignos y malignos aparecen también en piel non-CSD, pero generalmente afectan a pacientes todavía más jóvenes o

Figura 1.4 Nueva taxonomía de las neoplasias melanocíticas. Adaptada de Bastian⁵⁷.



Descripción Figura 1.4: (A) Neoplasias melanocíticas originadas desde los melanocitos asociados al epitelio. Donde así corresponde, se indican las fases de progresión benigna o intermedia. Las diferentes clases tienen una distinta base genética, una distinta relación con la radiación UV y una distinta distribución etaria, como se muestra en la porción inferior de la figura. Los gráficos circulares son únicamente una representación aproximada de la frecuencia de las diversas mutaciones en melanocitos no asociados al epitelio. Las categorías no tienen relación con la radiación UV y tienen una amplia distribución por edad, a excepción de los melanomas asociados a nevus congénito, que ocurren principalmente en niños prepúberes.

niños y tienen aberraciones moleculares distintas a los anteriores (mutaciones en HRAS y fusiones genéticas).

- Los **melanomas de piel CSD** aparecen en piel con daño solar crónico. A diferencia de los anteriores, en este taxón no encontramos dimensión benigna o intermedia y esto concuerda llamativamente con su fundamento etiopatogénico. Por una parte, estos melanomas no aparecen con mayor frecuencia en pacientes con un mayor número de nevus sino en pacientes con signos de exposición crónica a RUV, como la elastosis solar o el desarrollo de cáncer cutáneo no melanoma⁷³. Por otra parte, las mutaciones en BRAF, tan frecuentes en los nevus adquiridos, son muy infrecuentes en estos melanomas, en los que sin embargo se encuentran con relativa frecuencia mutaciones en KIT, prácticamente inexistentes en el taxón de los melanomas non-CSD⁷².
- Los **melanomas desmoplásicos** aparecen también en piel con daño solar crónico pero tienen un distinto fundamento genético ya que en ellos no se observan las mutaciones que se han descrito en otros melanomas. No obstante, recientemente se ha descubierto que en ellos son frecuentes las mutaciones en el gen de la neurofibromina-1 (NF1)⁷⁴. Esta distinta base genética parece correlacionarse con sus particularidades histológicas (tendencia a invasión perineural y a recurrencia local), si bien su aparición asociada a epitelio que ha sufrido daño solar crónico

también parece conferirle similitudes histológicas con los melanomas de piel CSD, como el componente lentiginoso que suelen tener⁵⁷.

- Los **nevus azules** y neoplasias relacionadas (**nevus azules atípicos** y **melanomas dérmicos que semejan nevus azules**) son tumores dérmicos no asociados a epitelio que no guardan relación con el tipo de exposición a la RUV y que tienen una amplia distribución etaria. Comparten, en cambio, características genéticas con otras neoplasias melanocíticas no asociadas a epitelio, como los melanomas oculares y de órganos internos, ya que en todos ellos son frecuentes las mutaciones en proteínas G, concretamente GNAQ y GNA11.
- Los **nevus congénitos** y los **melanomas sobre nevus congénito** se caracterizan por una alta frecuencia de mutaciones en NRAS y por afectar a niños prepúberes. Comparten con el resto de neoplasias melanocíticas no asociadas a epitelio la ausencia de relación con la exposición a RUV.

1.4.3 REPERCUSIONES TERAPÉUTICAS DE LOS NUEVOS CONOCIMIENTOS SOBRE LA BASE MOLECULAR DEL MELANOMA

Como hemos visto, la mutación en BRAF constituye un evento oncogénico primario que, aunque necesitará de otros eventos oncogénicos para dar lugar a un melanoma, tiene un papel crucial en una gran proporción de ellos. Por ello su investigación ha sido y es fundamental para lograr una mejor comprensión de la

patogenia del melanoma y, con ello, poder abordar su tratamiento de forma más eficaz. Estos nuevos conocimientos han conducido al desarrollo de fármacos antidiaria eficaces en melanomas que presentan mutaciones en este gen, que han revolucionado el tratamiento de los pacientes con melanoma metastásico, los cuales hasta hace pocos años no tenían ninguna opción terapéutica realmente eficaz.

El primer fármaco de este tipo en desarrollarse fue el Vemurafenib, un inhibidor de BRAF, tras haber demostrado una mejoría significativa en la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad en estos pacientes^{75,76}. Posteriormente se desarrolló otro inhibidor de BRAF (Dabrafenib)⁷⁷ y, más recientemente, inhibidores de MEK (Cobimetinib, Trametinib) que actúan en el siguiente escalón de la vía de las MAPK aumentando la eficacia de los inhibidores de BRAF y reduciendo la aparición de resistencias, sin añadir una toxicidad significativamente mayor y reduciendo los efectos adversos cutáneos de los primeros⁷⁸⁻⁸⁰.

Las principales guías de manejo del melanoma ya contemplan a día de hoy el uso combinado de un inhibidor de BRAF y un inhibidor de MEK como el tratamiento de elección en pacientes con melanoma metastásico, siempre y cuando este tenga mutado BRAF ya que de lo contrario resulta ineficaz¹⁶. Así pues, el conocimiento del estado de BRAF tiene actualmente una repercusión directa en el manejo del paciente.

1.4.4 BÚSQUEDA DE PARÁMETROS RELACIONADOS CON MUTACIONES EN BRAF

Con el fin de caracterizar mejor los melanomas con mutaciones en BRAF, en los últimos años se han estado investigando distintas características del tumor y del paciente que se asocian a la presencia de BRAF-mutado.

1.4.4.1 PARÁMETROS CLÍNICOS QUE SE ASOCIAN A BRAF-MUTADO

Desde el punto de vista clínico, se ha encontrado una mayor frecuencia de BRAF-mutado en melanomas de pacientes más jóvenes, localizados en piel sin daño solar crónico (especialmente en tronco) y, en algunos estudios, con un mayor grado de pigmentación de la lesión a la exploración^{70,71,81}.

1.4.4.2 PARÁMETROS HISTOPATOLÓGICOS QUE SE ASOCIAN A BRAF-MUTADO

Se ha encontrado en distintos trabajos que las mutaciones en BRAF son más frecuentes en los melanomas de extensión superficial en comparación con otros subtipos histológicos^{70,71,82}, así como en tumores con tipo celular predominante epitelioide, siendo raras cuando predominan otros tipos celulares^{83,84}. Además, y de acuerdo con su mayor frecuencia en localizaciones sin daño solar crónico, se ha comprobado reiteradamente que existe una correlación inversa entre el grado de elastosis solar y la presencia de mutaciones en BRAF^{71,83,85}.

Varios estudios encuentran mayor frecuencia de nevus asociado en los melanomas BRAF-mutados^{68,86,87}. Esto está en consonancia con trabajos previos que encontraron que los melanomas de piel sin daño solar crónico mostraban

una mayor prevalencia de restos de nevus en la histopatología⁸⁸, y cuadra muy bien con la taxonomía de las lesiones melanocíticas propuesta por Bastian⁵⁷, según la cual los nevus adquiridos y los melanomas non-CSD pertenecen al mismo grupo de neoplasias melanocíticas. No obstante, también hay varios estudios que no encuentran esta correlación^{83,89,90}.

Aunque algunos trabajos apuntan a una mayor frecuencia de parámetros histológicos de mal pronóstico en los melanomas BRAF-mutados (mayor espesor de Breslow, mayor frecuencia de ulceración y mayor índice mitótico)^{82,83,91}, lo cierto es que los datos al respecto son contradictorios^{70,82,92-94}. El mayor metaanálisis sobre este tema, publicado en 2015, no encuentra correlación entre el estado mutacional de BRAF y la frecuencia de ulceración ni el espesor de Breslow⁷¹. En cuanto al índice mitótico, pocos estudios analizan comparativamente este parámetro: en uno no encuentran diferencias⁹⁴ y en otro sí⁸².

La regresión histológica tampoco se correlaciona con BRAF-mutado^{95,96}, aunque en un estudio⁸⁹ encuentran que estos melanomas la presentan con una frecuencia menor que los no mutados (que llamaremos a partir de ahora melanomas *wild-type* o *WT*). Un reciente estudio encontró que los BRAF-mutados tenían predominantemente infiltrado inflamatorio leve, frente al moderado e intenso que eran más frecuentes en los *wild-type*⁸⁹.

Aparte de estas variables histopatológicas, que son las que habitualmente aparecen en los informes anatomopatológicos de los melanomas, *Viros et al*⁹⁷ analizaron minuciosamente otras características histomorfológicas y su correlación con el estado mutacional de BRAF y observaron que los melanomas BRAF-mutados presentaban, con una frecuencia significativamente mayor que los *wild-type*:

- Migración ascendente de melanocitos intraepidérmicos
- Formación de nidos intraepidérmicos
- Engrosamiento de la epidermis
- Delimitación abrupta de la piel sana circundante
- Células tumorales más grandes, más redondeadas y más pigmentadas

Un estudio posterior realizado *ad hoc* confirmó estos hallazgos⁹². La presencia o ausencia de estos parámetros histomorfológicos permitió a los autores crear modelos estadísticos capaces de predecir la presencia de mutaciones en BRAF con una precisión relativamente alta^{92,97}.

En cualquier caso, el dermatólogo clínico depende del patólogo para el análisis de todos estos parámetros. Sin embargo, la correlación demostrada con determinados hallazgos histopatológicos plantea una interesante posibilidad: la eventual (e incluso probable) existencia de algún parámetro dermatoscópico que se correlacione con la presencia de mutaciones en BRAF, ya que la

dermatoscopia constituye un puente entre la morfología clínica y la histopatología de las lesiones. El hallazgo de variables dermatoscópicas que se asocien al estado mutacional de BRAF tiene especial interés para los dermatólogos, dado que es una técnica no invasiva de uso habitual en la práctica clínica, que proporciona de forma inmediata información muy relevante sobre las características del melanoma examinado^{21,22}.

1.5 BRAF Y DERMATOSCOPIA

Cuando se inició la presente investigación, la correlación de parámetros dermatoscópicos con el estado mutacional de BRAF todavía no había sido estudiada y no existía en la literatura ningún trabajo que tratara este tema. Sin embargo, a lo largo de este tiempo han sido publicados 2 trabajos realizados con el objetivo de analizar esta correlación^{39,91}, y otro que muestra datos al respecto aunque este no es su propósito principal⁴⁰.

El primero de ellos fue el estudio de *Pozzobon et al*³⁹, del año 2014. En él, los investigadores realizaron una evaluación retrospectiva de 72 melanomas primarios de todas las localizaciones (cabeza/cuello, tronco y extremidades) a los que se había sometido a análisis de mutaciones en 2 genes de la vía de señalización MAPK: BRAF y NRAS. De ellos, 28 (39%) presentaban mutación en BRAF y 4 (6%) mutación en NRAS.

Las características dermatoscópicas analizadas fueron las siguientes:

- Estructuras blancas brillantes (*white shiny streaks*)
- Velo azul-blanquecino (*blue-white veil*)
- Despigmentación blanca tipo cicatriz (*white scar-like areas*)
- Punteado azul-gris en pimienta (*blue-grey peppering*)
- Regresión mixta (*mixed regression*)
- Puntos y glóbulos (*dots and globules*)
- Pseudópodos o proyecciones (*pseudopods or projections*)
- Manchas de pigmento (*pigment blotches*)
- Retículo pigmentado (*pigment network*)
- Ulceración (*ulceration*)
- Pigmentación perifolicular (*perifollicular pigmentation*)
- Vasos puntiformes (*dotted vessels*)
- Vasos polimorfos irregulares (*irregular polymorphous vessels*)
- Áreas rojo-lechosas (*milky red areas*)
- *Total Dermoscopy Score* (asimetría, bordes, colores y estructuras dermatoscópicas).

El punteado azul-gris en pimienta o *peppering* fue la característica dermatoscópica que se asoció de forma estadísticamente significativa a la presencia de mutaciones en BRAF o NRAS. El 68% de los melanomas con BRAF mutado y el 75% de los NRAS-mutado presentaban *peppering* en la dermatoscopia, frente a un 40% de los melanomas *wild-type*, con una OR de 1,68

($p=0,015$). Pero además, si se excluían del análisis los melanomas acrales y los melanomas faciales (dadas las peculiaridades dermatoscópicas que estos presentan, tal como se ha explicado en el *apartado 1.2.5*), la presencia de ulceración dermatoscópica también se asociaba a la presencia de mutaciones en BRAF.

Más o menos de forma simultánea, *Fargnoli et al*⁴⁰ publicaron los resultados de un estudio cuyo objetivo era investigar la asociación de los hallazgos dermatoscópicos de los melanomas cutáneos esporádicos con las características clínicas de los pacientes, con las características del tumor y con la presencia de alteraciones genéticas en MC1R y BRAF. En dicho estudio incluyeron un total de 64 imágenes dermatoscópicas (64 melanomas) de 62 pacientes y excluyeron directamente, a diferencia del estudio de *Pozzobon et al*³⁹, los melanomas faciales y los acrales, dadas las características específicas que presentan por su localización anatómica. Los parámetros dermatoscópicos que incluyeron fueron:

- *Total Dermoscopy Score (TDS)*
- *Retículo pigmentado atípico (atypical pigment network)*
- *Proyecciones irregulares (irregular streaks)*
- *Pigmentación irregular (irregular pigmentation)*
- *Estructuras de regresión (regression structures)*
- *Velo azul-blanquecino (blue-whitish veil)*
- *Patrón vascular atípico (atypical vascular pattern)*

De los 64 melanomas incluidos, 51 disponían de análisis de mutación en BRAF, y de ellos 23 (45%) presentaban dicha mutación. En este estudio, ningún parámetro dermatoscópico de los evaluados mostró correlación con mayor frecuencia de mutaciones en BRAF, si bien parecía haber una tendencia a una mayor prevalencia de velo azul-blanquecino entre los BRAF-mutados (30,4%) frente a los *wild-type* (10,7%) ($p=0,078$).

Más recientemente, a finales de 2016 *Bombonato et al*⁹¹ publicaron un estudio multicéntrico en el que se incluían los casos del estudio de *Pozzobon et al*⁸⁹ junto con otros de la *Skin Cancer Unit of Reggio Emilia* (Italia), hasta analizar un total de 172 melanomas de 149 pacientes (21 de ellos eran pacientes con múltiples melanomas primarios). Los parámetros dermatoscópicos analizados en este caso fueron los siguientes:

- Proyecciones periféricas (*Peripheral streaks*)
- Puntos y glóbulos (*Dots and globules*)
- Manchas de pigmento (*Blotches*)
- Regresión dermatoscópica (*Regression*)
- Ulceración dermatoscópica (*Ulceration*)
- Vasos puntiformes (*Dotted vessels*)
- Vasos polimorfos (*Polymorphous vessels*)
- Crisálidas / estructuras blancas brillantes (*Crystalline structures*)
- Punteado azul-gris en pimienta (*Peppering*)

- Áreas rojo-lechosas (*Milky-red areas*)
- Retículo invertido (*Inverse network*)
- Pigmentación perifolicular irregular (*Perifollicular irregular pigmentation*)

Aunque cuando hablan de la metodología del estudio sí que aparecen como parámetros a evaluar en las imágenes dermatoscópicas el retículo pigmentado y velo azul-blanquecino, sorprendentemente no incluyen estos parámetros en el análisis estadístico ni ofrecen ningún dato al respecto. De las características dermatoscópicas que sí que incluyen en el análisis (las enumeradas previamente), resultaron ser factores predictivos de mutación en BRAF, tanto en el análisis univariante como en el multivariante, las proyecciones periféricas (OR: 2,66; p=0,03) y la ulceración dermatoscópica (OR: 3,47; p<0,001). Por el contrario, los vasos puntiformes fueron predictores negativos (OR: 0,12; p=0,01) siendo más frecuentes en los *wild-type*. A pesar de incluir en el análisis los casos estudiados por *Pozzobon et al*³⁹, en este estudio no se encontró la asociación del *peppering* con melanomas BRAF-mutados que se describió en el artículo original. En este trabajo también se evaluaron los hallazgos de microscopía confocal de reflectancia en 46 de los casos, pero no se encontraron diferencias significativas. Finalmente, cabe mencionar que en 2015 se publicó una serie de 4 casos de melanoma con mutación BRAF V600K⁹⁸ de los que 3 (75%) mostraban velo azul-blanquecino (*blue-white veil*), manchas azul-grisáceas (*blue-grey blotches*) y/o

glóbulos de distribución irregular (*globules irregularly distributed*); 2 (50%) mostraban áreas reticuladas azul-grisáceas (*reticular grey-blue areas*), retículo atípico (*atypical network*), vasos irregulares (*irregular vessels*), regresión blanca (*white regression*) y/o ulceración; y solamente 1 (25%) presentaba *peppering*, puntos irregularmente distribuidos (*dots irregularly distributed*) o proyecciones irregulares (*irregular streaks*). En base a esta serie de tan solo 4 casos concluyen que los melanomas BRAF V600K muestran hallazgos dermatoscópicos distintos de los observados en los melanomas BRAF V600E según lo descrito por *Pozzobon et al*³⁹.

En conclusión, hasta el momento actual únicamente se han realizado 3 estudios que examinen la posible correlación entre parámetros dermatoscópicos y estado mutacional de BRAF. Los casos incluidos en el primero de ellos (*Pozzobon et al*³⁹) forman parte también del último publicado (*Bombonato et al*⁹¹), a pesar de lo cual las conclusiones son totalmente distintas. Además, en este último se dejan sin analizar características tan importantes como el velo azul-blanquecino o el retículo pigmentado. Finalmente, en el estudio de *Fargnoli et al*⁴⁰ no encuentran diferencias estadísticamente significativas, aunque según sus datos parece haber una tendencia a una mayor frecuencia de velo azul-blanquecino entre los BRAF-mutados que quizás no llega a alcanzar significación estadística por el escaso número de casos analizados (N=51).

2.

JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2 JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 JUSTIFICACIÓN

El manejo del melanoma se ve cada vez más condicionado por su base genética. Así, la presencia o ausencia de mutaciones en BRAF (las más frecuentemente implicadas en su patogénesis) ya constituye un factor determinante a la hora de decidir el abordaje terapéutico a realizar en pacientes con melanoma metastásico.

En este sentido, en los últimos años se ha llevado a cabo una intensa investigación intentando caracterizar mejor estos melanomas, con el fin de lograr una mayor comprensión acerca de cómo las alteraciones moleculares modifican su crecimiento y comportamiento. Respecto a los parámetros clínicos e histopatológicos ya hay algunos hallazgos bastante bien caracterizados aunque requieren ser revalidados, mientras que otros presentan mayores discrepancias entre estudios y necesitan que nuevos trabajos esclarezcan su correlación con estas mutaciones.

En cuanto a las características dermatoscópicas, todavía no hay datos concluyentes. Apenas existen 3 estudios que aporten algo de información al respecto y en realidad podrían reducirse prácticamente a 2, ya que los casos de uno de ellos forman parte también de otro publicado *a posteriori*. Además, sus hallazgos son muy heterogéneos y discordantes, algunos no valoran parámetros esenciales (como el velo azul-blanquecino o el retículo pigmentado) y otros se

encuentran limitados por el escaso número de casos analizados. Así pues, a día de hoy las características dermatoscópicas diferenciales de los melanomas BRAF-mutados todavía constituyen una incógnita sin resolver. Puesto que la dermatoscopia es una herramienta de uso prácticamente universal entre los dermatólogos que proporciona información inmediata sobre su morfología, su probable histopatología y su patrón de crecimiento, resulta de gran interés esclarecer la posible correlación existente entre determinados hallazgos dermatoscópicos y la presencia de mutaciones en BRAF. Por otra parte, si se consiguiera diferenciar dermatoscópicamente, con un grado de fiabilidad muy elevado, melanomas con BRAF-mutado de melanomas *wild-type*, podrían ahorrarse pruebas genéticas costosas.

2.2 HIPÓTESIS

Dado que se han encontrado unas características histopatológicas diferenciales en los melanomas con mutaciones en BRAF y que existe una clara correlación entre la anatomía patológica y la dermatoscopia de las lesiones cutáneas, es probable que existan características dermatoscópicas que se presenten con una frecuencia significativamente diferente en los melanomas BRAF-mutados respecto a los melanomas *wild-type*.

De ser así, quizás podría predecirse la presencia de BRAF-mutado en un melanoma dado en función de aquellas características dermatoscópicas y clinicopatológicas que hayan demostrado asociarse de forma significativa a su

estado mutacional, lo que permitiría prever qué pacientes podrían ser candidatos en el futuro a terapia dirigida antidiaria.

2.3 OBJETIVOS

1. Identificar las características dermatoscópicas que se asocian a mutación en BRAF en melanoma cutáneo.
2. Conocer la prevalencia de las distintas características dermatoscópicas en los melanomas cutáneos.
3. Evaluar la características clínicas que se asocian a mutación en BRAF en el melanoma cutáneo.
4. Identificar las características histopatológicas que se asocian a mutación en BRAF en el melanoma cutáneo.
5. Evaluar modelos predictivos capaces de calcular la probabilidad de que BRAF esté mutado basándose en aquellas características dermatoscópicas, clínicas e histopatológicas que se asocien al estado mutacional de BRAF.

3.

MATERIAL Y MÉTODOS

3 MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 ÁMBITO DEL ESTUDIO

El estudio se ha llevado a cabo en los Servicios de Dermatología del Departamento de Salud Arnau de Vilanova-Llíria (D.S. Arnau de Vilanova-Llíria) y del Instituto Valenciano de Oncología (IVO).

3.2 DISEÑO DEL ESTUDIO

Se ha realizado un estudio con un diseño observacional, transversal, de carácter prospectivo y descriptivo.

3.3 POBLACIÓN DEL ESTUDIO

En este estudio se recogieron prospectivamente pacientes con melanoma cutáneo, confirmado histológicamente, diagnosticados en el IVO y en el D.S. Arnau de Vilanova-Llíria entre el 1 de Agosto de 2011 y el 31 de Julio de 2015. De ellos finalmente se incluyeron solo aquellos pacientes que cumplieran los siguientes criterios:

Criterios de inclusión:

1. Melanomas cutáneos con fotografía dermatoscópica.
2. Melanomas cutáneos con estudio genético de mutaciones en BRAF realizado y válido.

Criterios de exclusión:

1. Melanomas cutáneos que, por su localización, presentan características dermatoscópicas específicas y no comparables: en concreto, se excluyeron los melanomas de localización acral (palmoplantar) y facial. En estas localizaciones las características anatómicas de la piel implican que algunas de las estructuras dermatoscópicas observadas en los melanomas aquí ubicados nunca podrán ser equiparables a las del resto de melanomas, por lo que no pueden atribuirse dichas diferencias a la presencia de las mutaciones sino a la histopatología propia de esta localización (p.e. el patrón paralelo del surco nunca se observará en un melanoma de localización no acral). Para mayor detalle ver *apartado 1.2.5 Dermatoscopia en localizaciones especiales: particularidades a considerar en el diseño de estudios comparativos*.

3.4 MUESTRA, MUESTREO Y MARCO DEL ESTUDIO

3.4.1 TAMAÑO DE LA MUESTRA

En el momento del diseño del estudio no se disponía de datos acerca de la relación entre dermatoscopia del melanoma y la presencia de mutaciones en BRAF que permitieran calcular el tamaño muestral más adecuado, por lo que de acuerdo con el diseño de estudio piloto no se calculó un tamaño muestral de inicio.

El tamaño de la muestra ha sido determinado por el número de casos atendidos durante el período de estudio que cumplieran los criterios de inclusión y exclusión previamente descritos. El factor que más ha condicionado el tamaño muestral ha sido la disponibilidad de fotografía dermatoscópica (ver *apartado 6: Limitaciones*). En todos los melanomas con fotografía dermatoscópica se consiguió conocer de forma válida el estado mutacional de BRAF.

3.4.2 CARACTERÍSTICAS EXIGIBLES A LA MUESTRA

El muestreo se ha realizado con pacientes consecutivos, durante un período prolongado. No se establecen *a priori* sesgos de selección en cuanto a edad, sexo, origen, estacionalidad o estadio evolutivo de la enfermedad. La muestra busca ser representativa de la población diana.

3.4.3 MUESTREO Y MARCO DEL ESTUDIO

Los melanomas incluidos proceden de pacientes visitados de forma consecutiva en el Servicio de Dermatología del D.S. Arnau de Vilanova-Llíria (Consultas Externas del Hospital Arnau de Vilanova y sus Centros de Especialidades ubicados en Burjassot y Llíria) y del Instituto Valenciano de Oncología (IVO). Se trata por tanto de un muestreo no probabilístico de tipo consecutivo realizado durante un periodo prolongado para que resulte representativo.

En ambos centros se visitan pacientes de todas las edades, originarios de áreas urbanas y rurales, de raza predominantemente caucásica. En el Servicio de

Dermatología del D.S. Arnau de Vilanova-Llíria se atienden pacientes derivados desde atención primaria por cualquier motivo de consulta dermatológica. En el Servicio de Dermatología del IVO se atienden principalmente pacientes con patología oncológica cutánea derivados desde otros centros, aunque también pacientes que solicitan ser atendidos en este centro.

El IVO constituye el centro de referencia para patología oncológica cutánea del D.S. Arnau de Vilanova-Llíria, de forma que los casos de melanoma diagnosticados en este Departamento son remitidos de forma rutinaria al IVO para su manejo ulterior (fundamentalmente aquellos en estadio IB o más avanzados). Los bloques parafinados de los melanomas extirpados en Hospital Arnau de Vilanova son sistemáticamente requeridos por parte del IVO para una revisión del estudio histopatológico y para la eventual realización de estudios moleculares.

3.5 VARIABLES MEDIDAS

Todas las variables fueron recogidas de forma prospectiva en un cuaderno de recogida de datos con los valores predefinidos de acuerdo a lo que se expone a continuación.

3.5.1 VARIABLES GENÉTICAS

- **BRAF**: variable cualitativa (categórica) dicotómica definida por la presencia o ausencia de mutación en BRAF, dividiéndose en *wild-type*

(ausencia de mutación) o BRAF-mutado (presencia de mutación). Esta variable es la variable respuesta del estudio.

3.5.2 VARIABLES CLÍNICAS

- **Edad**: variable cuantitativa continua correspondiente a la edad del paciente en el momento del diagnóstico. Adicionalmente se categorizó de forma dicotómica en <50 y ≥50 para poder realizar comparaciones con estudios previos⁷¹. A efectos del análisis estadístico se ha valorado tanto de manera continua como categorizada.
- **Sexo**: variable cualitativa dicotómica (hombre o mujer)
- **Localización**: localización anatómica del melanoma, categorizada de forma dicotómica en tronco o extremidades.

3.5.3 VARIABLES HISTOPATOLÓGICAS

Ambos centros siguen el mismo protocolo de recogida de datos histológicos. La descripción detallada del protocolo se puede encontrar en la *“Propuesta de protocolo para el informe histológico del tumor primario de los pacientes con un melanoma cutáneo del Grupo de Trabajo para el Melanoma Cutáneo de la Comunidad Valenciana”* publicada en 2007⁹⁹ y de la que se extraen mayoritariamente las breves descripciones que se mencionan a continuación.

Las variables incluidas fueron las siguientes:

- **Tipo histológico**: variable cualitativa nominal, reconociéndose los tipos melanoma de extensión superficial, melanoma nodular, lentigo maligno melanoma y otros (melanoma spitzoide, melanoma nevoide, etc).
- **Espesor tumoral o índice de Breslow**: variable cuantitativa continua, adicionalmente categorizada de forma dicotómica en $\leq 1\text{mm}$ o $>1\text{mm}$.
 - Grosor tumoral medido desde el límite externo de la capa granulosa (o base de la úlcera según el caso) hasta la zona más profunda de la infiltración tumoral.
- **Nivel de Clark**: variable cualitativa ordinal que presenta 5 categorías posibles (I, II, III, IV, V).
 - Según el nivel de invasión: melanocitos malignos confinados en la epidermis (nivel I o melanoma in situ), infiltración parcial de la dermis papilar (nivel II), infiltración de la dermis papilar en su totalidad (nivel III), infiltración de dermis reticular (nivel IV) o infiltración de tejido celular subcutáneo (nivel V)
- **Fase de crecimiento**: radial o vertical (variable cualitativa dicotómica)
 - *Radial*: cuando solo hay componente intraepidérmico (in situ), o con presencia de células tumorales en dermis si éstas se encuentran aisladas o forman nidos que son de menor tamaño

que los localizados en epidermis y no se observan mitosis (crecimiento radial microinvasor).

- *Vertical*: melanomas con células tumorales en dermis en las que se observa alguna mitosis o que forman nidos de mayor tamaño que los que hay en epidermis.
- **Ulceración**: presente o ausente (variable cualitativa dicotómica).
 - Se define como la pérdida del espesor total de la epidermis.
- **Índice mitótico** (mitosis dérmicas/mm²): variable cuantitativa continua, evaluada por el método del *hot spot*: comenzando por el campo con mayor número de mitosis y siguiendo en campos consecutivos hasta completar 1 mm² (aproximadamente 5 campos de gran aumento)⁹⁹. Adicionalmente la variable fue categorizada de forma dicotómica en 0 o ≥1 para valorar el límite establecido por la AJCC de 2009⁶. A efectos del análisis estadístico se ha valorado tanto de manera continua como categorizada.
- **Elastosis actínica piel peritumoral**: presente o ausente (variable cualitativa dicotómica).
 - Degeneración de las fibras elásticas observable en la dermis de la piel sana peritumoral, cuya presencia significa que existe daño actínico crónico⁷¹.

- **Regresión histológica:** presente o ausente (variable cualitativa dicotómica).
 - Se define como un área del tumor en el que las células neoplásicas han desaparecido (o se han reducido considerablemente en número) de la dermis (y ocasionalmente de la epidermis) y en el que existe al menos cierta fibrosis y generalmente uno o varios de los siguientes hallazgos: melanófagos acompañantes, nuevos vasos y un infiltrado inflamatorio variable¹⁰⁰.

- **Tipo celular predominante:** epiteliode, fusocelular, nevoide (variable cualitativa nominal con las 3 categorías registradas en los informes histológicos)⁸⁴:
 - *Células epitelioides:* células redondeadas, ovaladas o poligonales con citoplasma moderado-abundante y núcleo excéntrico.
 - *Células fusiformes (fusocelular):* células fusiformes, bipolares o dendríticas, de núcleo alargado u ovoide central.
 - *Células nevoides:* células redondeadas, pequeñas y monomórficas con escaso citoplasma y núcleo redondeado central.

- **Nevus asociado (lesión melanocítica asociada):** presente o ausente (variable cualitativa dicotómica).

- Persistencia de restos de nidos de células névicas benignas asociados con el melanoma.

3.5.4 VARIABLES DERMATOSCÓPICAS

En la [Tabla 3.1](#) se recogen las variables dermatoscópicas analizadas. Sus definiciones se pueden encontrar en el *apartado 1.2.3* de la *Introducción*.

Tabla 3.1 Variables dermatoscópicas analizadas

Variable	Tipo de variable	Valores
Retículo pigmentado	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
Retículo invertido	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
Puntos o glóbulos de pigmento	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
Proyecciones	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
Manchas de pigmento	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
Áreas de hipopigmentación	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
Velo azul-blanquecino	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
Estructuras blancas brillantes/crisálidas	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
Ulceración dermatoscópica	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
Estructuras exofíticas papilomatosas	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
Vasos lineales irregulares	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
Vasos puntiformes	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
Vasos glomerulares	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
Áreas rojo-lechosas	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
Vasos en coma	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia

Variable	Tipo de variable	Valores
Vasos en sacacorchos	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
Regresión dermatoscópica	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
Despigmentación blanca tipo cicatriz (regresión blanca)	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
Regresión azul	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
<i>Peppering</i>	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
<i>Blue reticular area</i>	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
<i>Blue whitish area</i>	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
<i>Blue globular area</i>	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
<i>Blue structureless area</i>	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
Eritema en áreas de regresión	Cualitativa dicotómica	Ausencia/Presencia
Total Dermoscopy Score (TDS)	Cuantitativa continua	Numérico

3.6 TÉCNICAS DE MEDIDA DE LAS VARIABLES DERMATOSCÓPICAS

3.6.1 OBTENCIÓN DE IMÁGENES DERMATOSCÓPICAS

Se tomaron fotografías dermatoscópicas de las lesiones sospechosas previamente a su exéresis. Para ello, se utilizó un equipo de fotografía dermatoscópica (*DermLite Foto equipment*; 3Gen, LLC, Dana point, CA, USA) que se adapta a una cámara digital (Canon Powershot 630), configurada en modo *autofocus*. Las imágenes se tomaron a una magnificación x10 (que es la que ofrece el dispositivo *Dermlite Foto*) y adicionalmente se tomaron algunas fotos

a mayor aumento (hasta x40) utilizando el zoom óptico de la cámara (x4), para visualizar mejor estructuras dermatoscópicas de pequeño tamaño.

Las imágenes dermatoscópicas se fueron almacenando de forma codificada mediante un *software* de gestión de imágenes (Picasa®).

3.6.2 ANÁLISIS DE LAS IMÁGENES DERMATOSCÓPICAS

Una vez confirmado el diagnóstico histopatológico, todas las imágenes dermatoscópicas fueron analizadas por dos observadores (M.A. y R.B.) cegados para el resto de la información, recogiendo la presencia o ausencia de las distintas variables dermatoscópicas enumeradas en el *apartado 3.5.4*.

Con el fin de lograr la mayor concordancia interobservador posible, previamente a la evaluación de las imágenes los observadores se reunieron para revisar y comentar una guía de valoración dermatoscópica consistente en un listado de las variables dermatoscópicas a evaluar, con sus definiciones (las descritas en el *apartado 1.2.3*) y ejemplos fotográficos obtenidos de la literatura (que no se reproducen aquí siguiendo la normativa de derechos de autor). Tras analizar las imágenes de los 25 primeros melanomas incluidos en el estudio, los observadores examinaron las discrepancias y comentaron los motivos de estas, con el propósito de unificar criterios de cara a la evaluación de los siguientes casos incluidos, para así maximizar la concordancia interobservador. Las discrepancias de los primeros 25 casos se resolvieron por acuerdo en los casos

que lo hubiere y, a efectos del análisis posterior, se consideraron los valores de consenso y se mantuvieron las discrepancias en las que no hubo acuerdo.

3.6.3 TÉCNICAS MOLECULARES: DETERMINACIÓN DE MUTACIONES

El estudio molecular de los casos incluidos se llevó a cabo en el Laboratorio de Biología Molecular del Instituto Valenciano de Oncología.

Para el análisis molecular se utilizó material parafinado del bloque del tumor primario. La extracción de ADN se llevó a cabo sobre bloques representativos del tumor, con un alto porcentaje de células tumorales (>50%). En aquellos casos en los que el porcentaje tumoral era inferior se procedió a la selección del material tumoral (para eliminar la contaminación con células sanas) mediante macrodissección con un *Tissue Arrayer* (3-4 cilindros de 0,6µm).

A la hora de estudiar el estado mutacional de BRAF se realizó en todos los casos estudio mediante la plataforma Cobas® y mediante secuenciación Sanger. La plataforma Cobas® se utilizó en primer lugar por ser el sistema con mayor sensibilidad¹⁰¹. Posteriormente se realizó secuenciación Sanger del exón 15 para caracterizar la mutación (si el Cobas la había detectado) o para analizar otras posibles mutaciones del codón 600 (que no hubiera detectado el sistema Cobas), así como para estudiar los codones adyacentes. A continuación se detallan las características y procedimientos de cada uno de estos sistemas de determinación de mutaciones en BRAF.

Cobas 4800 BRAF V600 Mutation Test^{102,103}

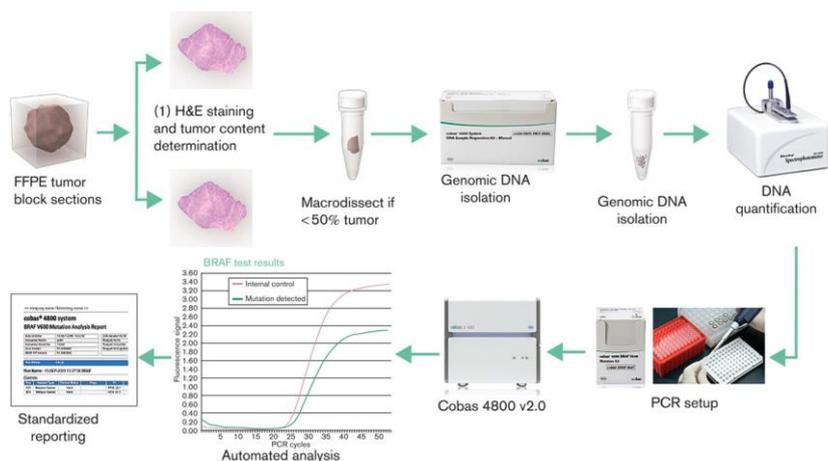
El *cobas 4800 BRAF V600 Mutation Test* (*cobas test*; Roche Molecular Systems, Pleasanton, CA) es un análisis de reacción en cadena de polimerasa en tiempo real (*real-time PCR -polymerase chain reaction-*) diseñado para detectar la presencia de V600E (1799 T > A) pero que ha mostrado reactividad cruzada con V600K (detecta el 70% de estas mutaciones¹⁰⁴, que son las segundas más frecuentes), V600D y V600E2¹⁰². El test consiste en 2 pasos principales:

1. En primer lugar, una preparación manual del espécimen para obtener ADN genómico a partir de tejido fijado en formol y embebido en parafina. Para ello se extrae usando el *Cobas DNA Sample Preparation Kit* (Roche Molecular Systems, Branchburg, New Jersey, USA).
2. En segundo lugar, una amplificación mediante PCR y detección del ADN objetivo utilizando un cebador par complementario y 2 sondas de oligonucleótidos marcadas con diferentes colorantes fluorescentes. Una sonda está diseñada para detectar la secuencia *wild-type* de BRAF V600 (GTG) y otra está diseñada para detectar la secuencia de mutación V600E (GAG). El alelo WT sirve como un control interno. Además existen dos controles externos, incluyendo un control BRAF *wild-type* y un control BRAF V600E. Todo este proceso se realiza mediante *Cobas 4800 (z480) System* (Roche Diagnostic Systems, Branchburg, New Jersey, USA)

usando *Cobas 4800 BRAF V600 Mutation Test reagents* (Roche Diagnostic Systems).

El análisis y la presentación de resultados son totalmente automatizados y se realizan mediante el *Cobas 4800 BRAF Analysis Package Software* (version 2.0, Roche Diagnostic Systems). El proceso queda esquematizado en la [Figura 3.1](#)

Figura 3.1 Flujo de trabajo del Cobas 4800 BRAF V600 Mutation Test. H&E: hematoxilina-eosina; PCR: reacción en cadena de polimerasa. Fuente: *Halait et al*¹⁰²



Secuenciación

Para realizar la secuenciación Sanger, la desparafinación de las muestras se llevó a cabo mediante la *Deparaffinization Solution* (QIAGEN) y la digestión del tejido mediante proteinasa K (20mg/ml de tampón de lisis) a 56°C. Tras la digestión se procedió a la purificación de ADN empleando el kit de purificación *QIAamp® DNA Investigator kit* (QIAGEN).

El análisis de mutaciones se realizó mediante amplificación específica de los fragmentos a estudiar y posterior secuenciación directa. En todos los casos se utilizó un secuenciador automático ABI3130XL de dieciséis capilares con *software* específico para el análisis de secuencias (*Sequencing Analysis v5.2*). El análisis de las mutaciones del gen BRAF se realizó mediante amplificación del exón 15 según lo descrito en *Fullen et al*¹⁰⁵.

3.7 EVALUACIÓN ESTADÍSTICA DE LOS RESULTADOS

3.7.1 TRATAMIENTO DE LA BASE DE DATOS

En un cuaderno de recogida de datos se fue reuniendo toda la información sobre las variables estudiadas (ver *apartado 3.5*), así como la relativa al número de historia clínica del centro de referencia y número de SIP del paciente (número del “Sistema de Información Poblacional” de la *Conselleria de Sanitat*).

Las imágenes dermatoscópicas se fueron almacenando de forma codificada usando el número de historia clínica mediante un programa de gestión de imágenes (Picasa®).

Los datos se introdujeron en un documento de Microsoft Excel® cuyo contenido fue posteriormente volcado al programa usado para el análisis estadístico.

3.7.2 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

El análisis estadístico de este trabajo se ha llevado a cabo utilizando el *software* estadístico R (versión 3.3.2).

En primer lugar, se realizó un **análisis descriptivo** de las variables del banco de datos, con el fin de conocer las características genéticas, clínicas, histológicas y dermatoscópicas de los melanomas evaluados. Las variables cualitativas se describieron mediante frecuencias absolutas y porcentajes. Las variables cuantitativas fueron resumidas mediante su media y desviación típica. A efectos del análisis descriptivo, se consideró que un melanoma presentaba una determinada estructura dermatoscópica cuando ambos investigadores coincidían en su caracterización.

Adicionalmente se calculó la **sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de la regresión y ulceración dermatoscópicas**, para evaluar la exactitud con la que dichas características clasifican a los melanomas según el estado de regresión y ulceración histológicas que presentan respectivamente.

El análisis de la concordancia de la valoración de las características dermatoscópicas por parte de los dos observadores (M.A. y R.B.) se realizó mediante el cálculo del **índice kappa de Cohen**. Hay que tener en cuenta que la validez de cualquier estudio puede verse gravemente alterada si la medición de las variables no es fiable. En este sentido, la falta de acuerdo interobservador puede condicionar una baja fiabilidad de los resultados del trabajo. La magnitud de la variabilidad interobservador se puede estimar a través de los estudios de concordancia, que valoran hasta qué punto dos observadores coinciden en su

medición¹⁰⁶. El índice o coeficiente kappa calculado en nuestro estudio refleja la concordancia interobservador en variables categóricas valoradas por 2 observadores. Puede tomar valores entre -1 y +1, de forma que cuanto más se acerca a +1, mayor es el grado de concordancia interobservador, mientras que cuanto más se acerca a -1, mayor es el grado de discordancia. Un valor de $\kappa = 0$ refleja que la concordancia/discordancia observada es la que se espera a causa exclusivamente del azar¹⁰⁶. Aparte de calcular el coeficiente, es importante también construir intervalos de confianza obtenidos a través de tests de hipótesis. Las hipótesis nula (H0) y alternativa (H1) de estos tests son H0: $\kappa = 0$ (es decir, las concordancias/discordancias observadas se pueden atribuir al azar) y H1: $\kappa \neq 0$ (las concordancias/discordancias observadas no se puede atribuir únicamente al azar). Si el intervalo de confianza se sitúa por encima (o por debajo) de 0, el coeficiente kappa obtenido es estadísticamente significativo¹⁰⁶.

La interpretación de los valores de este índice se basa en las escalas referidas en estudios previos, que muestran cierta variabilidad, aunque consideran en general válido un valor $>0,40$ ³⁹ (Tabla 3.2).

A la hora de interpretar nuestros resultados se utilizó la segunda variante descrita en la Tabla 3.2, que considera las siguientes fuerzas de concordancia: pobre ($<0,40$), aceptable (0,41-0,60), buena (0,61-0,80) y excelente (0,81-1).

Tabla 3.2 Interpretación del índice kappa

Valor de kappa	Fuerza de la concordancia (primera variante) ¹⁰⁷	Fuerza de la concordancia (segunda variante) ¹⁰⁸
<0,20	Pobre	Pobre
0,21-0,40	Moderada	
0,41-0,60	Buena	Aceptable
0,61-0,80	Muy buena	Buena
0,81-1,00	Excelente	Excelente

A continuación, con el fin de estudiar la asociación o independencia de las variables categóricas clínicas, histológicas y dermatoscópicas con el estado de mutación de BRAF (*wild-type*/BRAf-mutado), se realizaron **tablas de contingencia simples** entre cada par de variables. Para la comparación de proporciones se utilizó el test exacto de Fisher (con simulación Montecarlo del p-valor en el caso de variables cualitativas con más de dos categorías). La comparación de las variables cuantitativas según el estado de mutación *wild-type*/BRAf-mutado se realizó utilizando el test t-Student. El test de Levene se usó para determinar la igualdad de varianzas de estas variables en cada grupo y poder concluir así la validez de aplicación del test t-Student. Tras contrastar la igualdad de varianzas de las variables cuantitativas según el estado de mutación *wild-type*/BRAf-mutado mediante el test de Levene, se concluyó en todos los casos que no se rechazaba dicha igualdad. Por tanto, se verificaban las

condiciones de aplicación del test t-Student (Normalidad o $n > 30$ e igualdad de varianzas).

Posteriormente, para determinar la influencia de las variables de estudio sobre el estado de mutación *wild-type*/BRAF-mutado se realizó un **análisis de regresión logística múltiple**, considerando como variable respuesta el estado de mutación y como variables explicativas aquellas que resultaron significativas en los test de asociación (clínicas, histológicas y dermatoscópicas). Para incluir las variables continuas se comprobó que seguían la distribución normal mediante la prueba de Shapiro-Wilk.

Las variables relacionadas con las características dermatoscópicas de los melanomas fueron incluidas en el modelo como probabilidades de que cada melanoma presentara dichas características, atendiendo al juicio de los dos investigadores (0 = ambos investigadores consideraron que no presentaba la característica, $\frac{1}{2}$ = solo uno de los investigadores consideraba que presentaba la característica dermatoscópica, 1 = los dos investigadores consideraron que presentaba la característica dermatoscópica). De este modo el análisis de regresión logística proporcionó un estudio más completo.

La variable de interés (que se nota por Y_i), es una variable indicadora de la ausencia (0) o presencia (1) de BRAF mutado en el paciente i . El hecho de que la variable respuesta solo tome dos valores, permitió utilizar la distribución

Bernoulli para modelizarla, $Y_i \sim \text{Bernoulli}(p_i)$, siendo p_i la probabilidad de que el paciente i presente BRAF mutado.

A partir del análisis de regresión logística múltiple se construyó un modelo estadístico predictivo de mutación en BRAF expresado en forma de fórmula matemática. Se estudió también la precisión del modelo (capacidad para predecir correctamente el estado mutacional de BRAF). Además, con el fin de estimar la capacidad predictiva del modelo con datos nuevos, se realizó un proceso de validación cruzada (ver *apartado 6: Limitaciones*). Para ello se seleccionaron aleatoriamente 47 melanomas de la base de datos (aproximadamente la mitad) que se utilizaron para ajustar el modelo de regresión. A continuación el modelo ajustado se utilizó para estimar el estado mutacional de BRAF del resto de melanomas de la base de datos y se comparó lo predicho con lo real.

Finalmente, se construyó un **árbol de clasificación** con el objetivo de predecir, de forma intuitiva, el estado de mutación *wild-type*/BRAF-mutado a partir de las variables clínicas, histopatológicas y dermatoscópicas. Como en la regresión logística múltiple, las variables dermatoscópicas de los melanomas fueron incluidas en el modelo como probabilidades de que cada melanoma presentara dichas características, atendiendo al juicio de los dos investigadores (0 = ambos investigadores consideraron que el melanoma no presentaba la característica, $\frac{1}{2}$ = solo uno de los investigadores consideraba que el melanoma presentaba la

característica dermatoscópica, 1 = los dos investigadores consideraron que el melanoma presentaba la característica dermatoscópica). Igualmente, para estudiar la capacidad predictiva del modelo con datos nuevos se utilizó el método de validación cruzada tal como se ha descrito para la regresión logística.

3.7.3 NIVEL DE SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA

Se consideró una diferencia estadísticamente significativa cuando el p-valor de la prueba era $<0,05$. Para minimizar el riesgo de cometer un error de tipo II (que pasaran desapercibidas diferencias reales), se decidió no aplicar la corrección para comparaciones múltiples de Bonferroni (ver *apartado 6: Limitaciones*).

3.8 TRATAMIENTO DE LA BIBLIOGRAFÍA

Las fuentes bibliográficas se obtuvieron a través de los motores de búsqueda Pubmed (que accede a la base de datos MEDLINE y está disponible a través del enlace <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) y Google Scholar (<https://scholar.google.es>, un buscador de Google® diseñado específicamente para uso académico y científico).

La introducción de las citas en el texto se ha realizado mediante el programa gestor de referencias bibliográficas Zotero® (versión 4.0.28) seleccionando el estilo Vancouver de citación.

3.9 ASPECTOS ÉTICOS

Salvo por el análisis de BRAF en todos los casos (llevado a cabo en el Laboratorio de Biología Molecular del IVO), el resto de procedimientos (toma de fotografías dermatoscópicas, visitas y procedimientos diagnósticos o terapéuticos) fueron los mismos que en práctica clínica habitual y no experimentaron ninguna modificación por razón de su participación en el estudio. Las imágenes dermatoscópicas no permiten la identificación del paciente, y la clasificación de las fotografías se realizó de forma codificada. Los datos fueron tratados de forma confidencial.

Los pacientes fueron informados sobre las características del estudio y aceptaron su inclusión en el mismo mediante la firma de un consentimiento informado elaborado a tal efecto ([Anexo 1](#)).

El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Arnau de Vilanova de Valencia ([Anexo 2](#)).

4.

RESULTADOS

4 RESULTADOS

4.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO

4.1.1 VARIABLES GENÉTICAS Y CLÍNICAS

Se han estudiado un total de 93 melanomas de 93 pacientes (47 hombres y 46 mujeres), de los cuales 35 (37,6%) presentaban BRAF-mutado. En la [Tabla 4.1](#) se recogen los datos descriptivos referentes a estado mutacional de BRAF, edad, sexo y localización.

Tabla 4.1 Datos descriptivos genéticos y clínicos de la muestra estudiada

Variables	Categoría	n (%) (N=93)
Genéticas		
BRAF	<i>Wild-type</i>	58 (62,4)
	Mutado	35 (37,6)
Clínicas		
Edad		60,5 ± 16,3 ^a
<i>Edad categorizada</i>	< 50	27 (29)
	≥ 50	66 (71)
Sexo	Hombre	47 (50,5)
	Mujer	46 (49,5)
Localización	Tronco	51 (54,8)
	Extremidades	42 (45,2)

^aValores expresados como media y desviación típica

4.1.2 VARIABLES HISTOPATOLÓGICAS

En la [Tabla 4.2](#) se recogen los datos referentes a las variables histológicas:

Tabla 4.2 Datos descriptivos histopatológicos de la muestra estudiada

Variables histopatológicas	Categoría	n (%) (N=93)
Tipo histológico	MES	77 (82,8)
	MN	10 (10,7)
	LMM	4 (4,3)
	Spitzoide	1 (1,1)
	Nevoide	1 (1,1)
Espesor de Breslow (mm)		1,2 ± 1,3 ^a
<i>Breslow categorizado</i>	≤ 1 mm	63 (67,7)
	> 1 mm	30 (32,3)
Niveles de Clark	I	5 (5,7)
	II	28 (31,8)
	III	27 (30,7)
	IV	28 (31,8)
	V	0 (0)
Fase de crecimiento	Radial	31 (33,3)
	Vertical	62 (66,7)
Ulceración histológica	Ausente	79 (85)
	Presente	14 (15)
Índice mitótico		2,2 ± 5,1 ^a
<i>Índice mitótico categorizado</i>	0/mm ²	44 (47,8)
	≥ 1/mm ²	48 (52,2)
Elastosis actínica piel peritumoral	Ausente	61 (75,3)
	Presente	20 (24,7)
Regresión histológica	Ausente	63 (70)
	Presente	27 (30)
Tipo celular*	Epitelioide	81 (88)
	Fusocelular	8 (8,7)
	Nevoide	3 (3,3)
Nevus asociado	Ausente	60 (67,4)
	Presente	29 (32,6)

^aValores expresados como media y desviación típica. *Si la celularidad es mixta (epitelioide + fusocelular o epitelioide + nevoide), se asigna al grupo correspondiente a la celularidad no epitelioide (fusocelular o nevoide respectivamente).

4.1.3 VARIABLES DERMATOSCÓPICAS

En la [Tabla 4.3](#) se recogen los datos referentes a las variables dermatoscópicas de los melanomas incluidos. Como se ha indicado en el *apartado 3.7.2*, se ha considerado que un melanoma presenta una estructura dermatoscópica si ambos investigadores coinciden en su caracterización. Las características observadas con mayor frecuencia fueron el retículo pigmentado, los puntos/glóbulos y las manchas de pigmento.

Tabla 4.3 Datos descriptivos dermatoscópicos de la muestra estudiada

Variables dermatoscópicas ^a	Categoría	n (%) (N=93)
Retículo pigmentado	Ausencia	28 (31,8)
	Presencia	60 (68,2)
Retículo invertido	Ausencia	82 (90,1)
	Presencia	9 (9,9)
Puntos o glóbulos de pigmento	Ausencia	17 (21,8)
	Presencia	61 (78,2)
Proyecciones	Ausencia	58 (66,7)
	Presencia	29 (33,3)
Manchas de pigmento	Ausencia	8 (9,8)
	Presencia	74 (90,2)
Áreas de hipopigmentación	Ausencia	44 (57,9)
	Presencia	32 (42,1)
Velo azul-blanquecino	Ausencia	43 (48,9)
	Presencia	45 (51,1)
Estructuras blancas brillantes (crisálidas)	Ausencia	65 (75,6)
	Presencia	21 (24,4)
Ulceración dermatoscópica	Ausencia	71 (78,9)
	Presencia	19 (21,1)
Estructuras exofíticas papilomatosas	Ausencia	89 (96,7)
	Presencia	3 (3,3)
Tapones córneos	Ausencia	93 (100)
	Presencia	0 (0)

Variables dermatoscópicas^a	Categoría	n (%) (N=93)
Vasos lineales irregulares	Ausencia	72 (80,9)
	Presencia	17 (19,1)
Vasos puntiformes	Ausencia	75 (90,4)
	Presencia	8 (9,6)
Vasos glomerulares	Ausencia	88 (94,6)
	Presencia	5 (5,4)
Áreas rojo-lechosas	Ausencia	71 (82,6)
	Presencia	15 (17,4)
Vasos en coma	Ausencia	92 (98,9)
	Presencia	1 (1,1)
Vasos en sacacorchos	Ausencia	92 (100)
	Presencia	0 (0)
Regresión dermatoscópica	Ausencia	46 (61,3)
	Presencia	29 (38,7)
Despigmentación blanca tipo cicatriz	Ausencia	55 (70,5)
	Presencia	23 (29,5)
Regresión azul	Ausencia	65 (78,3)
	Presencia	18 (21,7)
<i>Peppering</i>	Ausencia	73 (81,1)
	Presencia	17 (18,9)
<i>Blue reticular area</i>	Ausencia	89 (96,7)
	Presencia	3 (3,3)
<i>Blue whitish area</i>	Ausencia	87 (97,8)
	Presencia	2 (2,2)
<i>Blue globular area</i>	Ausencia	91 (100)
	Presencia	0 (0)
<i>Blue structureless area</i>	Ausencia	91 (100)
	Presencia	0 (0)
Eritema/vasos en áreas de regresión	Ausencia	66 (81,5)
	Presencia	15 (18,5)
TDS		6,2 ± 1,3^b

^aPara calcular la frecuencia absoluta y el porcentaje de melanomas que presentan cada una de las características dermatoscópicas se han tenido en cuenta únicamente aquellos en los que los dos observadores coinciden en su caracterización; ^bValores expresados como media y desviación típica.

4.1.3.1 ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, VPP Y VPN DE LA REGRESIÓN Y LA ULCERACIÓN DERMATOSCÓPICAS

Puesto que la ulceración dermatoscópica fue más frecuente que la ulceración histológica y la regresión dermatoscópica también fue más frecuente que la histológica (siendo parámetros de los que se espera que guarden una correlación directa), se procedió a estudiar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de estas variables dermatoscópicas, evaluando la exactitud con la que son capaces de clasificar a los melanomas según el estado de ulceración y regresión histológicas, considerando estas como el *gold-estándar*. Los resultados de este análisis se muestran en las Tablas 4.4 y 4.5.

Tabla 4.4 Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de la ulceración dermatoscópica en cuanto a la ulceración histológica

Característica dermatoscópica ^a (Test diagnóstico)	Ulceración histológica (Gold-estándar)		S	E	VPP	VPN
	Sí	No				
Ulceración dermatoscópica	Sí	11 8	92%	90%	56%	98%
	No	1 70				
	Total	12 78				

^aSe han tenido en cuenta únicamente aquellos melanomas en los que los dos observadores coinciden en la valoración de sus características dermatoscópicas. / Abreviaturas: Sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN)

Tabla 4.5 Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de la regresión dermatoscópica en cuanto a la regresión histológica.

Característica dermatoscópica ^a (Test diagnóstico)	Regresión histológica (Gold-estándar)		S	E	VPP	VPN	
	Sí	No					
		Sí					15
Regresión dermatoscópica	No	6	39	71%	75%	54%	87%
	Total	21	52				

^aSe han tenido en cuenta únicamente aquellos melanomas en los que los dos observadores coinciden en la valoración de sus características dermatoscópicas. / Abreviaturas: Sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN)

4.1.3.2 CONCORDANCIA INTEROBSERVADOR DE LAS CARACTERÍSTICAS DERMATOSCÓPICAS

En nuestro estudio, la concordancia de la evaluación de las distintas variables dermatoscópicas entre los 2 observadores (M.A. y R.B.) se valoró a través del *índice kappa de Cohen* y se calcularon los intervalos de confianza (IC) al 95%. (Tabla 4.6). La interpretación del valor de estos índices/coeficientes ya se ha discutido con anterioridad y puede verse en el apartado 3.7.2 y en la Tabla 3.2. Excepto 3 variables que mostraron una concordancia pobre (vasos en sacacorchos y dos de los nuevos tipos descritos de regresión azul: *blue globular area* y *blue structureless area*), en general la concordancia fue aceptable ($\kappa=0,41-0,60$), buena ($\kappa=0,61-0,80$) o excelente ($\kappa=0,81-1,00$). Las variables que mostraron mayor concordancia interobservador fueron la ulceración dermatoscópica, el velo azul-blanquecino, el *peppering*, el retículo invertido, las

proyecciones, los vasos lineales irregulares y las estructuras exofíticas papilomatosas. Las que mostraron menor concordancia interobservador fueron las manchas de pigmento, los vasos puntiformes, la *blue whitish area*, la *blue globular area* y la *blue structureless area*.

Tabla 4.6 Índice kappa de Cohen para estudiar la concordancia de la valoración de las características dermatoscópicas entre los dos observadores (M.A. y R.B.)

Características dermatoscópicas	Índice kappa (IC 95%)
Retículo pigmentado	0,88 (0,75 - 0,98)
Retículo invertido	0,89 (0,69 - 1)
Puntos o glóbulos de pigmento	0,60 (0,42 - 0,77)
Proyecciones	0,86 (0,73 - 0,95)
Manchas de pigmento	0,53 (0,28 - 0,77)
Áreas de hipopigmentación	0,63 (0,48 - 0,78)
Velo azul-blanquecino	0,89 (0,78 - 0,98)
Estructuras blancas brillantes o crisálidas	0,80 (0,66 - 0,93)
Ulceración dermatoscópica	0,91 (0,78 - 1)
Estructuras exofíticas papilomatosas	0,85 (0 - 1)
Vasos lineales irregulares	0,87 (0,72 - 0,97)
Vasos puntiformes	0,55 (0,28 - 0,78)
Vasos glomerulares	1 (1 - 1)
Áreas rojo-lechosas	0,76 (0,58 - 0,91)
Vasos en coma	1 (1 - 1)
Vasos en sacacorchos	0 (0 - 0)
Regresión dermatoscópica	0,60 (0,44 - 0,76)
Despigmentación blanca tipo cicatriz	0,64 (0,47 - 0,79)
Regresión azul	0,71 (0,51 - 0,86)
<i>Peppering</i>	0,90 (0,76 - 1)
<i>Blue reticular area</i>	0,85 (0,32 - 1)
<i>Blue whitish area</i>	0,48 (-0,026 - 0,85)
<i>Blue globular area</i>	-0,01 (-0,026 - 0)
<i>Blue structureless area</i>	-0,01 (-0,026 - 0)
Vasos o eritema en áreas de regresión	0,65 (0,44 - 0,83)

4.2 ANÁLISIS COMPARATIVO

En los siguientes apartados se muestran los datos relativos al estudio de la asociación entre las variables clínicas, histopatológicas y dermatoscópicas con la mutación de BRAF.

4.2.1 ANÁLISIS UNIVARIANTE

4.2.1.1 VARIABLES CLÍNICAS

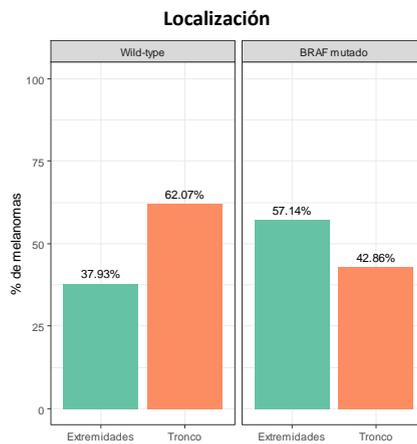
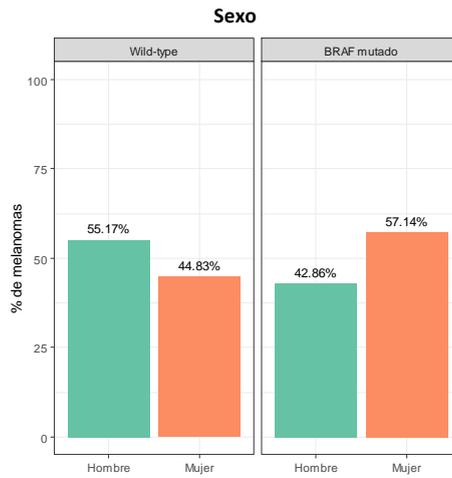
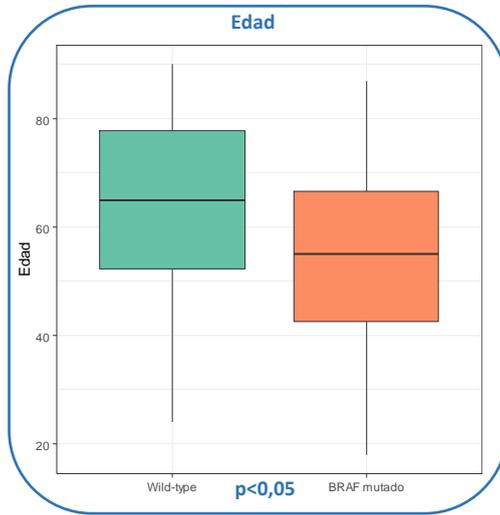
En la [Tabla 4.7](#) se muestra el estudio de asociación entre las variables clínicas y la presencia o ausencia de mutación en BRAF. La edad se asoció de forma estadísticamente significativa al estado mutacional de BRAF. Concretamente, los pacientes con melanoma BRAF-mutado tenían una edad media significativamente menor (54 años) que los melanomas *wild-type* (64 años) ($p=0,004$). El sexo y la localización no se correlacionaron con la presencia de mutaciones en BRAF. En la [Figura 4.1](#) se pueden ver estos datos ilustrados.

Tabla 4.7 Características clínicas según el estado mutacional de BRAF

Variables	Categoría	BRAF		P-valor	OR (IC 95%)
		<i>Wild-type</i>	Mutado		
		58 (62,4)	35 (37,6)		
Edad		64,3 ± 15,4 ^a	54,3 ± 16 ^a	0,004^{b*}	-
<i>Edad categorizada</i>	< 50	11 (19)	16 (45,7)	0,009^{c*}	Ref.
	≥ 50	47 (81)	19 (54,3)		0,3 (0,1 – 0,8)
Sexo	Hombre	32 (55,2)	15 (42,9)	0,289 ^c	Ref.
	Mujer	26 (44,8)	20 (57,1)		1,6 (0,6 – 4,2)
Localización	Tronco	36 (62,1)	15 (42,9)	0,087 ^c	Ref.
	Extremidades	22 (37,9)	20 (57,1)		2,2 (0,8 – 5,6)

^aValores expresados como media y desviación típica; ^bTest t-Student; ^cTest exacto de Fisher; *P-valor < 0,05.
OR: Odds Ratio

Figura 4.1 Gráficos de las características clínicas según el estado de BRAF



4.2.1.2 VARIABLES HISTOPATOLÓGICAS

Los resultados del estudio de asociación entre las variables histopatológicas y la presencia de mutaciones en BRAF se recogen en la [Tabla 4.8](#) y en la [Figura 4.2](#). De las características analizadas, la única que alcanzó significación estadística fue el tipo celular:

- Prácticamente todos los melanomas BRAF-mutados (94,29%) presentaban únicamente células epitelioides en la anatomía patológica, excepto 2 (5,7%) que presentaban celularidad nevoide (en uno de ellos este tipo era el predominante del tumor y el otro tenía una celularidad mixta epitelioide/nevoide); pero en cualquier caso ninguno de los BRAF-mutados mostró células fusiformes en la histología.
- Los melanomas *wild-type* eran también mayoritariamente epitelioides, pero en menor medida (84,2%), y lo más destacado fue que un 14% de ellos mostró celularidad fusiforme, en contraste con lo que ocurría en los BRAF-mutados.

Esta asociación negativa entre presencia de celularidad fusiforme y existencia de mutaciones en BRAF fue estadísticamente significativa (OR 0; IC 95% 0-0,9; p=0,02).

Tabla 4.8 Características histopatológicas según el estado mutacional de BRAF

Variables	Categoría	BRAF		P-valor	OR (IC 95%)
		Wild-type 58 (62,4)	Mutado 35 (37,6)		
Tipo histológico	MES	48 (82,8)	29 (82,9)	0,224 ^c	NC
	MN	5 (8,6)	5 (14,3)		
	LMM	4 (6,9)	0 (0)		
	Spitzoide	1 (1,7)	0 (0)		
	Nevoide	0 (0)	1 (2,8)		
Breslow (mm)		1,2 ± 1,2 ^a	1,4 ± 1,5 ^a	0,492 ^b	NC
<i>Breslow categorizado</i>	≤ 1 mm	39 (67,2)	24 (68,6)	1 ^c	Ref.
	> 1 mm	19 (32,7)	11 (31,4)		0,9 (0,3 – 2,5)
Clark	I	4 (7,1)	1 (3,1)	0,709 ^c	Ref.
	II	18 (32,1)	10 (31,3)		2,2 (0,2 – 120,1)
	III	15 (26,8)	12 (37,5)		3,1 (0,3 – 170,3)
	IV	19 (34)	9 (28,1)		1,9 (0,2 – 103,5)
	V	0 (0)	0 (0)		NC
Fase de crecimiento	Radial	20 (34,5)	11 (31,4)	0,823 ^c	Ref.
	Vertical	38 (65,5)	24 (68,6)		1,1 (0,4 – 3,1)
Ulceración histológica	No	50 (86,2)	29 (82,9)	0,767 ^c	Ref.
	Sí	8 (13,8)	6 (17,1)		1,3 (0,3 – 4,7)
Índice mitótico		2,1 ± 4,4 ^a	2,4 ± 6,1 ^a	0,752 ^b	NC
<i>Índice mitótico categorizado</i>	< 1	28 (49,1)	16 (45,7)	0,831 ^c	Ref.
	≥ 1	29 (50,9)	19 (54,3)		1,1 (0,5 – 2,9)
Elastosis actínica piel peritumoral	Ausente	33 (67,3)	28 (87,5)	0,064 ^c	Ref.
	Presente	16 (32,7)	4 (12,5)		0,3 (0,2 – 1,1)
Regresión histológica	No	37 (67,3)	26 (74,3)	0,638 ^c	Ref.
	Sí	18 (32,7)	9 (25,7)		0,7 (0,2 – 2,0)
Tipo celular ^d	Epitelioide	48 (84,2)	33 (94,3)	0,020 ^{e*}	Ref.
	Fusocelular	8 (14,0)	0 (0)		0 (0 – 0,9)
	Nevoide	1 (1,8)	2 (5,7)		2,9 (0,1 – 174,9)
Nevus asociado	No	42 (75)	18 (54,6)	0,062 ^c	Ref.
	Sí	14 (25)	15 (45,4)		2,5 (0,9 – 6,9)

^aValores expresados como media y desviación típica; ^bTest t-Student; ^cTest exacto de Fisher; ^dSi la celularidad es mixta (epitelioide + fusocelular o epitelioide + nevoide), se asigna al grupo correspondiente a la celularidad no epitelioide (fusocelular o nevoide respectivamente); ^e*P-valor < 0,05.

OR: Odds Ratio; NC: No calculable

Figura 4.2 Gráficos de las características histopatológicas según el estado de BRAF

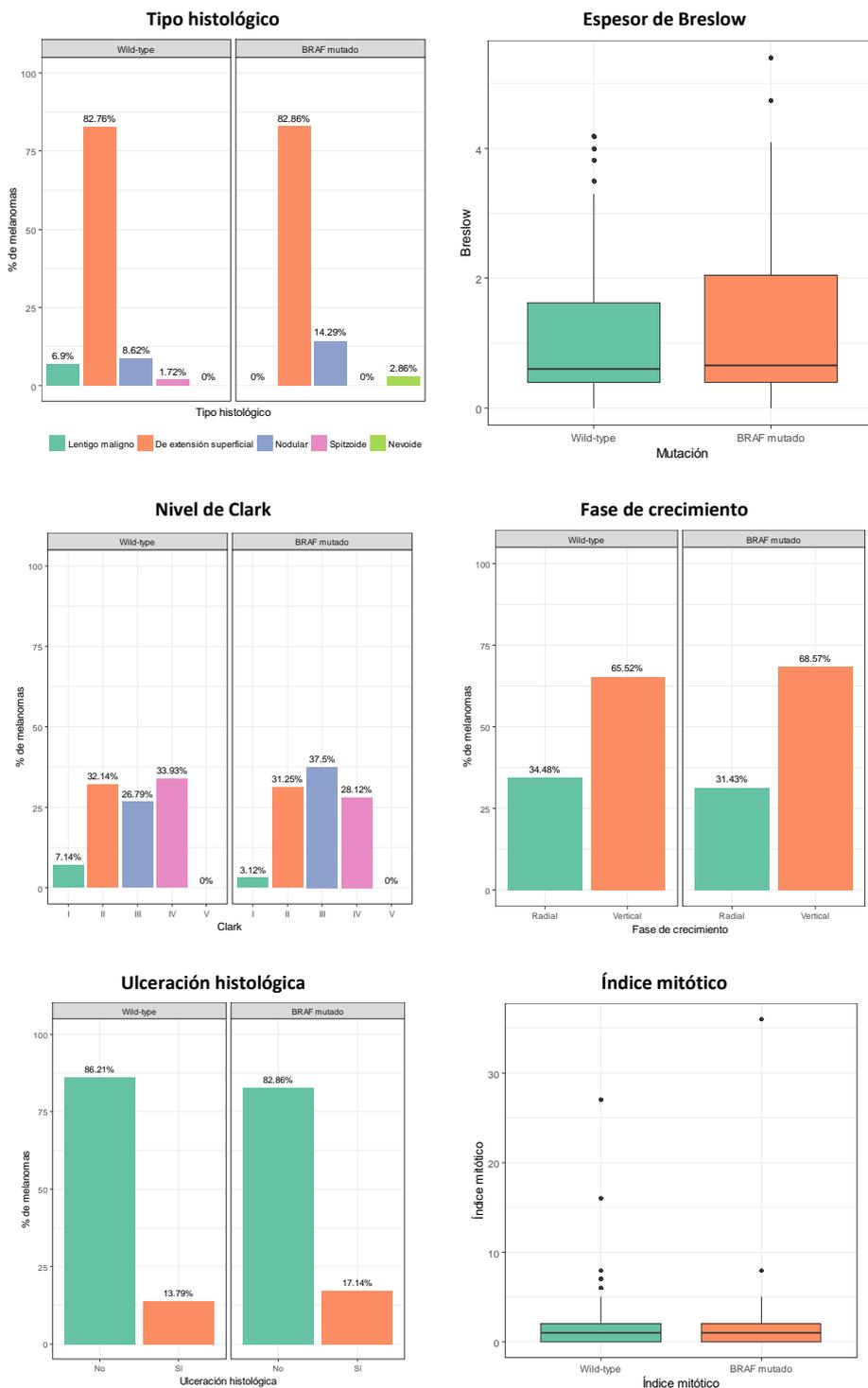
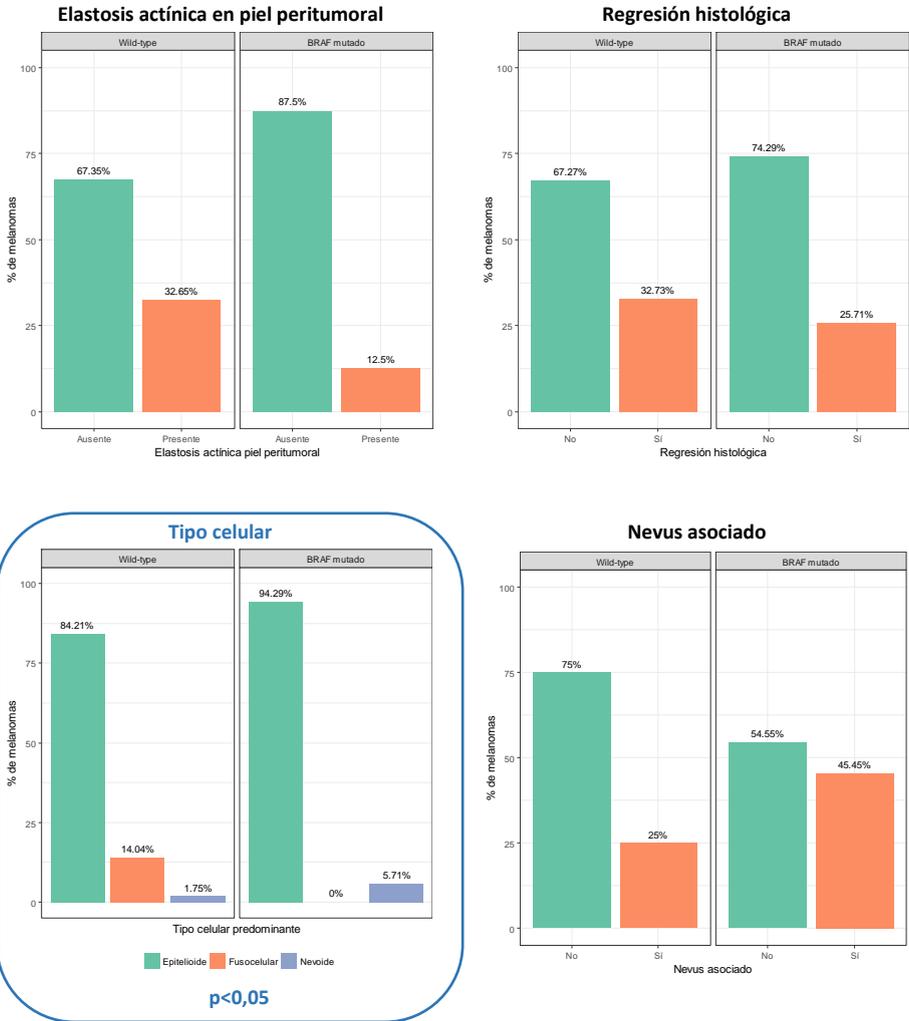


Figura 4.2 (Continuación)



4.2.1.3 VARIABLES DERMATOSCÓPICAS

Los resultados del estudio de asociación entre las variables dermatoscópicas y la presencia de mutaciones en BRAF se recogen en la [Tabla 4.9](#) y la [Figura 4.3](#). Hubo 3 variables dermatoscópicas cuya presencia se asoció de forma estadísticamente significativa a BRAF-mutado: las proyecciones ($p=0,034$), el velo azul-blanquecino ($p=0,002$) y las estructuras exofíticas papilomatosas ($p=0,048$). De ellos, el velo azul-blanquecino fue el parámetro que se asoció con mayor fuerza a BRAF-mutado, presentando una OR de 4,2.

Tabla 4.9 Características dermatoscópicas según el estado mutacional de BRAF

Variables ^a	Categoría	BRAF		P-valor	OR (IC 95%)
		Wild-type 58 (62,4)	Mutado 35 (37,6)		
Reticulo pigmentado	Ausencia	13 (24,1)	15 (44,1)	0,062 ^d	Ref.
	Presencia	41 (75,9)	19 (55,9)		0,4 (0,1 – 1,1)
Reticulo invertido	Ausencia	49 (87,5)	33 (94,3)	0,474 ^d	Ref.
	Presencia	7 (12,5)	2 (5,7)		0,4 (0 – 2,4)
Puntos o glóbulos	Ausencia	12 (26,1)	5 (15,6)	0,404 ^d	Ref.
	Presencia	34 (73,9)	27 (84,4)		1,9 (0,5 – 7,7)
Proyecciones	Ausencia	41 (75,9)	17 (51,5)	0,034^{d*}	Ref.
	Presencia	13 (24,1)	16 (48,5)		2,9 (1,1 – 8,3)
Manchas de pigmento	Ausencia	6 (12,2)	2 (6,1)	0,465 ^d	Ref.
	Presencia	43 (87,8)	31 (93,9)		2,1 (0,4 – 23,1)
Áreas de hipopigmentación	Ausencia	27 (56,3)	17 (60,7)	0,811 ^d	Ref.
	Presencia	21 (43,7)	11 (39,3)		0,8 (0,3 – 2,4)
Velo azul-blanquecino	Ausencia	34 (61,8)	9 (27,3)	0,002^{d*}	Ref.
	Presencia	21 (38,2)	24 (72,7)		4,2 (1,5 – 12,5)
Estructuras blancas brillantes (crisálidas)	Ausencia	44 (83)	21 (63,6)	0,069 ^d	Ref.
	Presencia	9 (17)	12 (36,4)		2,8 (0,9-8,7)
Ulceración dermatoscópica	Ausencia	44 (78,6)	27 (79,4)	1 ^d	Ref.
	Presencia	12 (21,4)	7 (20,6)		0,9 (0,3 – 3)
Estructuras exofíticas papilomatosas	Ausencia	58 (100)	31 (91,2)	0,048^{d*}	NC
	Presencia	0 (0)	3 (8,8)		

Variables ^a	Categoría	BRAF		P-valor	OR (IC 95%)
		Wild-type 58 (62,4)	Mutado 35 (37,6)		
Vasos lineales irregulares	Ausencia	43 (78,2)	29 (85,3)	0,580 ^d	Ref.
	Presencia	12 (21,8)	5 (14,7)		0,6 (0,2 – 2,2)
Vasos puntiformes	Ausencia	46 (86,8)	29 (96,7)	0,248 ^d	Ref.
	Presencia	7 (13,2)	1 (3,3)		0,2 (0 – 1,9)
Vasos glomerulares	Ausencia	53 (91,4)	35 (100)	0,153 ^d	Ref.
	Presencia	5 (8,6)	0 (0)		0 (0 – 1,768)
Áreas rojo-lechosas	Ausencia	43 (81,1)	28 (84,8)	0,775 ^d	Ref.
	Presencia	10 (18,9)	5 (15,2)		0,8 (0,2 – 2,8)
Vasos en coma	Ausencia	58 (100)	34 (97,1)	0,376 ^d	NC
	Presencia	0 (0)	1 (2,9)		
Vasos en sacacorchos	Ausencia	57 (100)	35 (100)	NC	NC
	Presencia	0 (0)	0 (0)		
Regresión dermatoscópica	Ausencia	27 (57,5)	19 (67,9)	0,465 ^d	Ref.
	Presencia	20 (42,5)	9 (32,1)		0,6 (0,2 – 1,9)
Despigmentación blanca tipo cicatriz	Ausencia	34 (68)	21 (75)	0,609 ^d	Ref.
	Presencia	16 (32)	7 (25)		0,7 (0,2 – 2,2)
Regresión azul	Ausencia	39 (76,5)	26 (81,2)	0,785 ^d	Ref.
	Presencia	12 (23,5)	6 (18,8)		0,8 (0,2 – 2,5)
<i>Peppering</i>	Ausencia	44 (78,6)	29 (85,3)	0,581 ^d	Ref.
	Presencia	12 (21,4)	5 (14,7)		0,6 (0,2 – 2,2)
<i>Blue reticular area</i>	Ausencia	55 (94,8)	34 (100)	0,293 ^d	Ref.
	Presencia	3 (5,2)	0 (0)		0 (0 – 4,1)
<i>Blue whitish area</i>	Ausencia	54 (100)	33 (94,3)	0,152 ^d	NC
	Presencia	0 (0)	2 (5,7)		
<i>Blue globular area</i>	Ausencia	58 (100)	33 (100)	NC	NC
	Presencia	0 (0)	0 (0)		
<i>Blue structureless area</i>	Ausencia	57 (100)	34 (100)	NC	NC
	Presencia	0 (0)	0 (0)		
Eritema o vasos en áreas de regresión	Ausencia	40 (80)	26 (83,9)	0,773 ^d	Ref.
	Presencia	10 (20)	5 (16,1)		0,8 (0,2 – 2,8)
TDS		6,1 ± 1,4 ^b	6,3 ± 1,2 ^b	0,409 ^c	NC

^aSe han tenido en cuenta únicamente aquellos melanomas en los que los dos observadores coinciden en la valoración de sus características dermatoscópicas; ^bValores expresados como media y desviación típica; ^cTest t-Student; ^dTest exacto de Fisher; *P-valor < 0,05.

OR: Odds Ratio; NC: No calculable

Figura 4.3 Gráficos de las características dermatoscópicas según el estado de BRAF

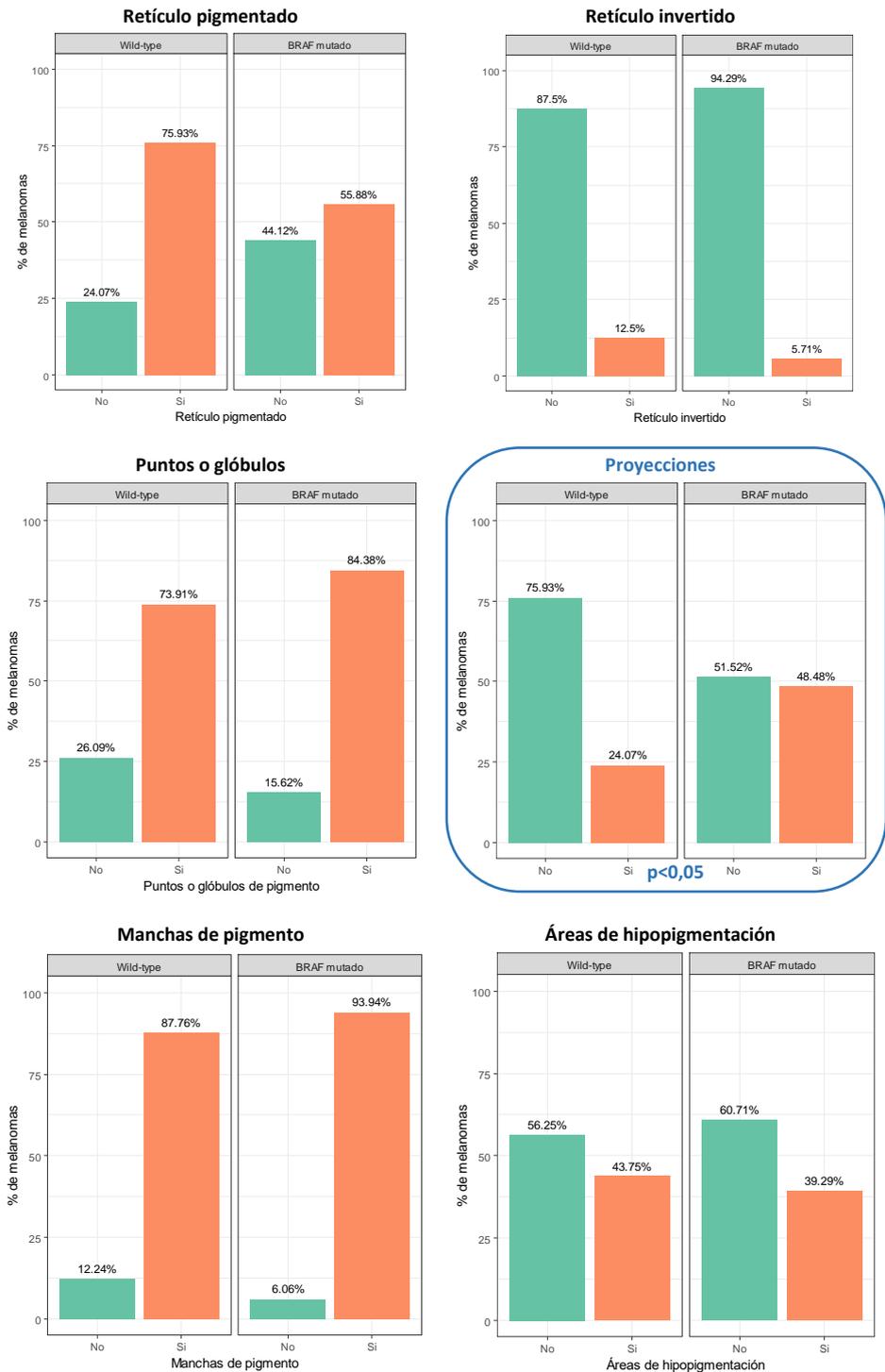


Figura 4.3 (continuación)

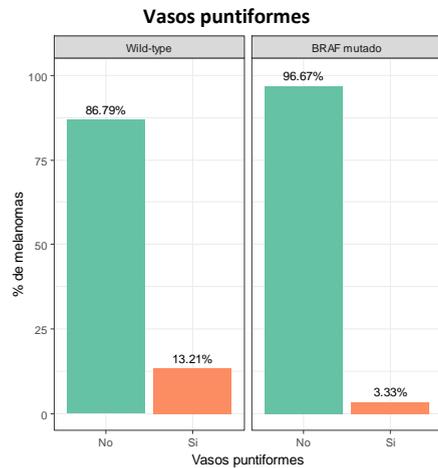
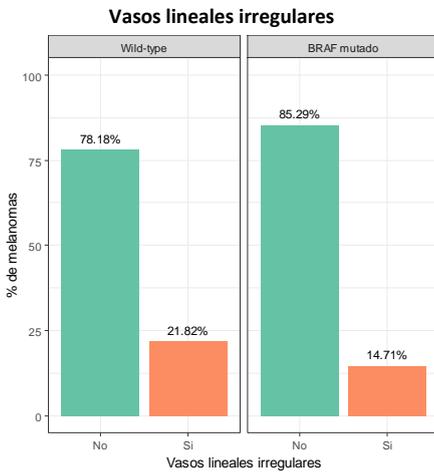
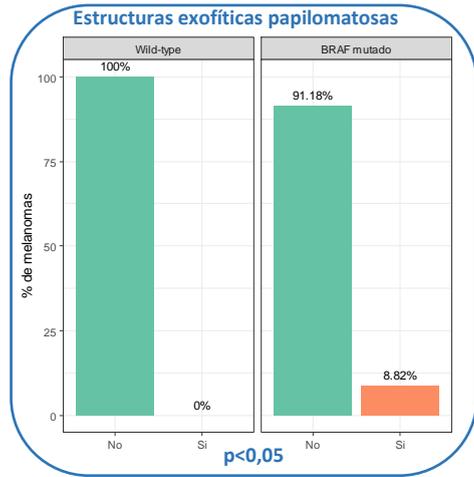
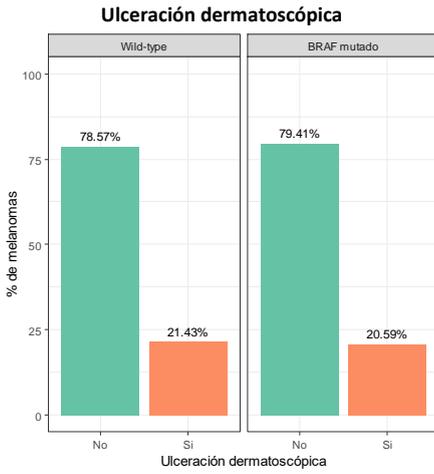
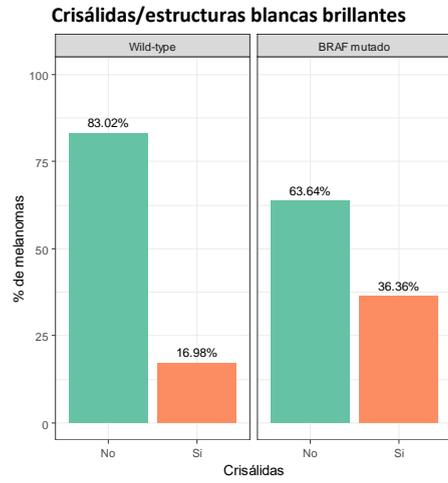
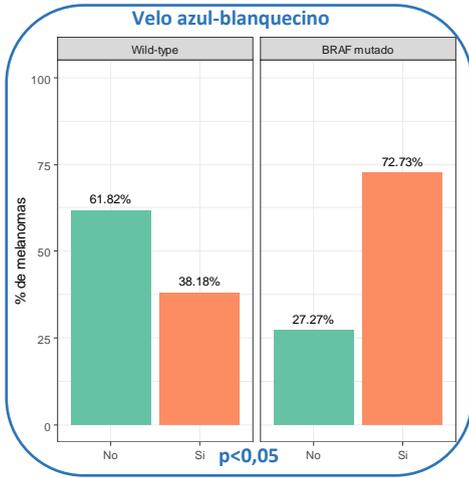
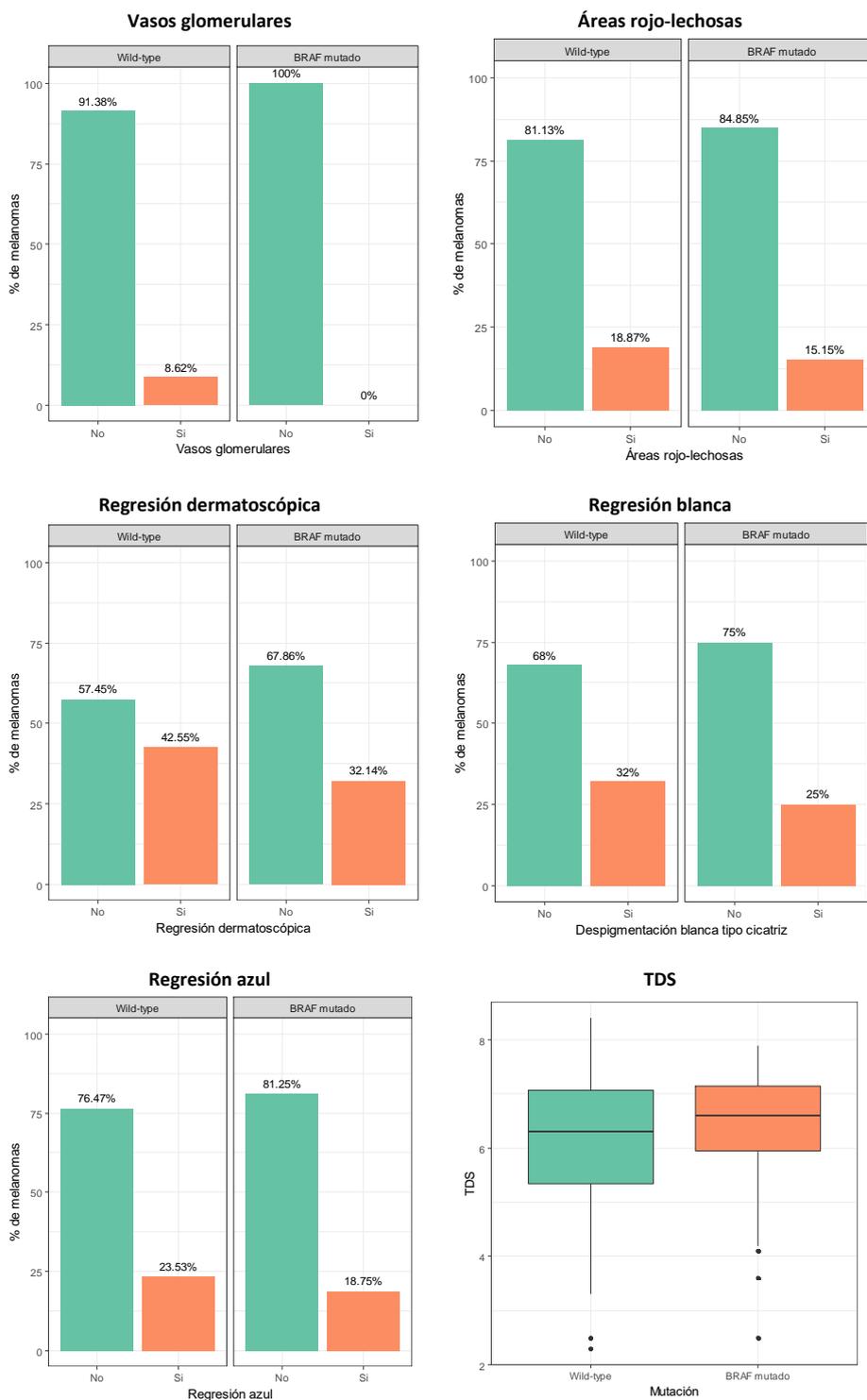


Figura 4.3 (continuación)



4.2.2 ANÁLISIS MULTIVARIANTE. MODELOS PREDICTIVOS

4.2.2.1 REGRESIÓN LOGÍSTICA MÚLTIPLE

Como se ha indicado en el *apartado 3.7.2*, con el fin de estudiar la relación entre el estado mutacional de BRAF y las características clínicas, histológicas y dermatoscópicas de los melanomas se realizó un análisis de regresión logística múltiple considerando como variable respuesta el estado de mutación y como variables explicativas aquellas que resultaron significativas en los test de asociación univariantes (edad, tipo celular, proyecciones, velo azul-blanquecino y estructuras exofíticas papilomatosas).

Considerando la transformación logística para relacionar p_i (probabilidad de que el paciente i presente BRAF mutado) con el predictor lineal, el modelo de regresión que considera el efecto de todas las variables explicativas que resultaron significativas en los test de asociación puede expresarse como:

$$\text{logit}(p_i) = \log\left(\frac{p_i}{1-p_i}\right) = \beta_0 + \beta_1 \cdot \text{edad} + \beta_2 \cdot \text{tipo_celular} + \beta_3 \cdot \text{proyecciones} + \beta_4 \cdot \text{velo} + \beta_5 \cdot \text{estructuras_exofíticas}.$$

Tras realizar el ajuste de dicho modelo, se observó que no todos los efectos de las variables explicativas consideradas resultaron significativos y que podía eliminarse alguno de ellos. Para seleccionar el modelo que mejor describe los datos, se aplicó a continuación el procedimiento automático de selección de variables por pasos hacia delante (*Stepwise-forward*), teniendo en cuenta el

Bayesian Information Criterion (BIC). Este método consiste en partir de un modelo inicial sin ninguna variable explicativa. En cada paso, se prueba la inclusión en el modelo de cada una de las variables explicativas, de forma que se irán incluyendo aquellas variables para las que se obtiene una mejor calidad del ajuste del modelo según el valor del estadístico BIC.

Finalmente, el modelo resultante es aquel que considera como variables explicativas: edad y probabilidad de que el melanoma presente la característica velo azul-blanquecino. Es decir:

$$\text{logit}(p_i) = \log\left(\frac{p_i}{1-p_i}\right) = \beta_0 + \beta_1 \cdot \text{edad} + \beta_2 \cdot \text{velo}$$

En la [Tabla 4.10](#) se muestran los resultados del modelo de regresión logística múltiple.

Tabla 4.10 Resultados del modelo de regresión logística múltiple

Coeficientes	Estimación	Error estándar	p-valor	Odds Ratio (IC 95%)
β_0 (Intercept)	1,0396	0,9420	0,27	-
β_1 (Edad)	-0,0396	0,0149	0,008	0,96 (0,93 - 0,99)
β_2 (Velo azul-blanquecino)	1,4658	0,4985	0,003	4,3 (1,63 - 11,51)

4.2.2.1.1 INTERPRETACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA MÚLTIPLE. PREDICCIÓN DEL ESTADO MUTACIONAL DE BRAF

El modelo estimado es, pues, de la forma:

$$\begin{aligned} \text{logit}(\hat{p}_i) &= \log\left(\frac{\hat{p}_i}{1-\hat{p}_i}\right) = \hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_1 \cdot \text{edad}_i + \hat{\beta}_2 \cdot \text{velo}_i \\ &= 1,0396 - 0,0396 \cdot \text{edad}_i + 1,4658 \cdot \text{velo}_i \end{aligned}$$

Por tanto, a partir de la *edad* de un paciente y de su probabilidad de presentar la característica *velo azul-blanquecino*, podemos predecir la probabilidad de que dicho paciente presente BRAF-mutado (p_i) de la siguiente forma (despejando p_i de la ecuación anterior):

$$\hat{p}_i = \frac{e^{1,0396 - 0,0396 \cdot \text{edad}_i + 1,4658 \cdot \text{velo}_i}}{1 + e^{1,0396 - 0,0396 \cdot \text{edad}_i + 1,4658 \cdot \text{velo}_i}}$$

Esta fórmula puede introducirse en una hoja de cálculo para poder obtener el resultado de forma rápida y sencilla (ver *apartado 5.4*).

La interpretación de los parámetros del modelo estimado es la siguiente:

- $\hat{\beta}_0 = 1,0396$ representa el valor del logit de la probabilidad de que un paciente presente BRAF mutado ($\text{logit}(\hat{p}_i)$) cuando su edad y su probabilidad de presentar velo azul-blanquecino son 0.

$$\text{logit}(p_i) = \log\left(\frac{p_i}{1-p_i}\right) = \beta_0$$

Por tanto, la probabilidad de BRAF mutado cuando la edad y la probabilidad de velo azul-blanquecino son 0 es de 0,739:

$$p_i = \frac{\exp(\beta_0)}{(1 + \exp(\beta_0))} = 0,739$$

- $\hat{\beta}_1 = -0,0396$ representa el cambio que se produce en el $\text{logit}(p_i)$ de que un paciente presente BRAF mutado cuando la edad del paciente se incrementa en una unidad y el resto de variables permanecen constantes. La estimación de $\hat{\beta}_1$ es negativa (<0), por lo tanto la probabilidad de BRAF-mutado disminuye conforme aumenta la edad del paciente. En un modelo de regresión logística las exponenciales de los parámetros coinciden con *Odds Ratio (OR)*:

$$e^{\hat{\beta}_1} = e^{-0,0396} = 0,9612$$

Esto significa que la probabilidad de que se encuentre BRAF-mutado se divide por 1,04 ($1/0,9612=1,04$) por cada aumento de un año en la edad del paciente. Es decir, la *Odds* de BRAF-mutado (probabilidad de BRAF-mutado sobre probabilidad de *wild-type*) disminuye un 4% por cada aumento de un año en la edad del paciente.

- $\hat{\beta}_2 = 1,4658$ representa el cambio que se produce en el $\text{logit}(p_i)$ cuando el melanoma del paciente i presenta la característica velo azul-blanquecino frente a los pacientes que no la presentan. La estimación de $\hat{\beta}_2$ es positiva (>0), por lo tanto la probabilidad de BRAF

mutado aumenta conforme aumenta la probabilidad de velo azul-blanquecino. Como en un modelo de regresión logística las exponenciales de los parámetros coinciden con *OR* tenemos que:

$$e^{\hat{\beta}_2} = e^{1,4658} = 4,331$$

Esto significa que la probabilidad de que se encuentre de BRAF-mutado se multiplica por 4,33 cuando el melanoma presenta la característica velo azul-blanquecino con respecto a los melanomas que no la presentan.

4.2.2.1.2 PRECISIÓN DEL MODELO PREDICTIVO (REGRESIÓN LOGÍSTICA)

✓ ¿Cómo de bien predice este modelo nuestros datos?

Si entendemos que predecir correctamente equivale a que los ceros (*wild-type*) sean estimados con una probabilidad de mutación $p_i < 0,5$ y los unos (BRAF-mutado) con una probabilidad de mutación $p_i \geq 0,5$, podemos concluir que (Tabla 4.11):

Tabla 4.11 Capacidad predictiva del modelo de regresión logística múltiple considerado

		Predichos		S	E	VPP	VPN
		Wild-type	BRAF-mut				
Observados	Wild-type	49 (84,5 %)	9 (15,5 %)	49%	85%	65%	73%
	BRAF-mut	18 (51,4 %)	17 (48,6 %)				

Este modelo clasifica correctamente al 84,5 % de los melanomas *wild-type* y al 48,6% de los melanomas con mutación BRAF. Este modelo clasifica correctamente, por lo tanto, al 71 % de los melanomas.

✓ **Comparación del porcentaje total de pacientes clasificados correctamente con la proporción de precisión por azar:**

La proporción de precisión por azar se calcula sumando la proporción de pacientes en cada grupo al cuadrado. En nuestro caso, la proporción de pacientes con estado de mutación *wild-type* es 0,624 (62,4%) y con BRAF mutado 0,376 (37,6%), por tanto:

$$0,624^2 + 0,376^2 = 0,531$$

Si se considera como útil el modelo de regresión logística cuando éste mejora un 25% la proporción de precisión por azar¹⁰⁹: $0,531 \cdot 1,25 = 0,664$ (66,4%). Debemos comparar esta proporción con el porcentaje global del modelo que, como se puede comprobar, es superior (71%).

✓ **¿Cómo de bien predice este modelo datos que no han sido tenidos en cuenta en su construcción?**

Para estudiar la capacidad predictiva del modelo con datos nuevos, se seleccionaron aleatoriamente 47 melanomas de la base de datos (aproximadamente la mitad). Los datos correspondientes a estos 47 melanomas fueron utilizados para ajustar el modelo de regresión. El estado

de mutación *wild-type*/BRAF del resto de melanomas se predijo en función de su *edad* y probabilidad de presentar la característica *velo azul-blanquecino* a partir del modelo ajustado, comparándose lo predicho con lo observado (método de validación cruzada, ver *apartado 3.7.2* y *apartado 6: Limitaciones*). Los resultados se muestran en la Tabla 4.12.

Tabla 4.12 Capacidad predictiva del modelo de regresión logística múltiple considerando datos que no han sido utilizados en el ajuste de modelo

		Predichos		S	E	VPP	VPN
		<i>Wild-type</i>	BRAF-mut				
Observados	<i>Wild-type</i>	21 (72,4 %)	8 (27,6 %)	65%	72%	58%	78%
	BRAF-mut	6 (35,3 %)	11 (64,7 %)				

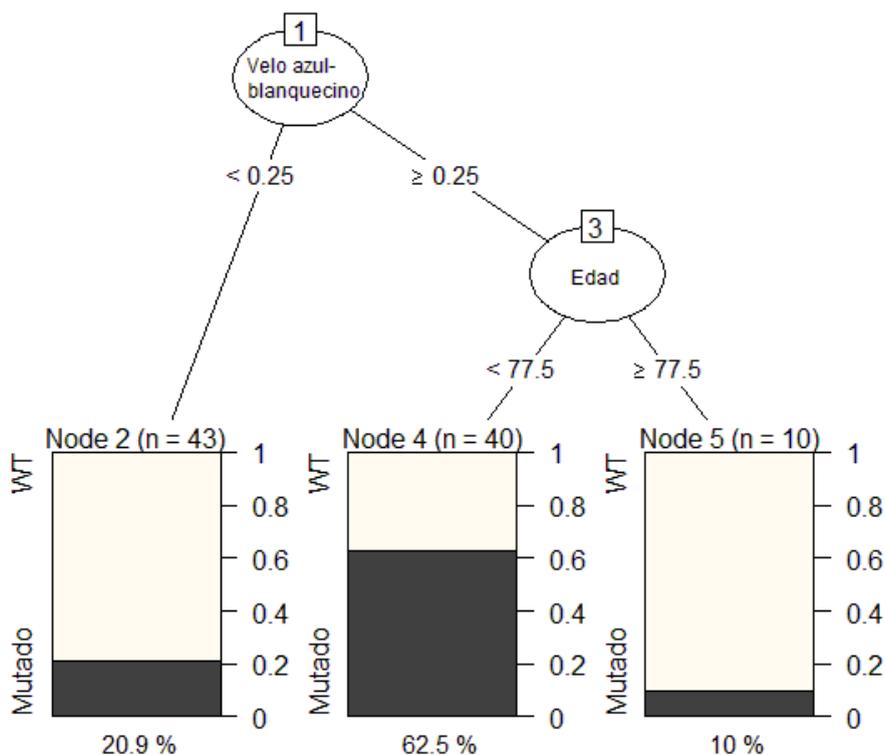
Este modelo clasifica correctamente al 72,4 % de los melanomas *wild-type* y al 64,7 % de los melanomas con BRAF-mutado, considerando melanomas que no han sido tenidos en cuenta en el ajuste del modelo de regresión. Este modelo clasifica correctamente al 69,6 % de los melanomas no tenidos en cuenta a la hora de ajustar el modelo.

4.2.2.2 ÁRBOL DE CLASIFICACIÓN.

Al igual que en el modelo de regresión logística, al construir un árbol de clasificación se pudo comprobar que las variables más importantes para predecir el estado de mutación BRAF eran el *velo azul-blanquecino* y la *edad*. En la Figura

4.4 se muestra el árbol de clasificación obtenido en el programa estadístico. En la Figura 5.10 (Discusión) se ofrece una adaptación simplificada de este árbol.

Figura 4.4 Árbol de clasificación para predecir el estado de mutación *wild-type*/BRAF-mutado



La interpretación predictiva del árbol sería la siguiente:

Si el melanoma no presenta velo azul-blanquecino (la probabilidad de que el melanoma presente la característica velo azul-blanquecino es inferior a 0,25; esto es: ninguno de los dos observadores consideró que el melanoma presentaba esta característica), se puede concluir que el estado de mutación es *wild-type*.

Por el contrario, si el melanoma presenta velo azul-blanquecino (aunque solo

uno de los observadores considerara que lo presentaba) y el paciente tiene menos de 77,5 años, se puede concluir que el estado de mutación es BRAF-mutado. En cambio, si el melanoma presenta velo azul-blancuecino (*aunque solo uno de los dos observadores haya considerado que lo presenta*) pero el paciente tiene más de 77,5 años, el estado de mutación será probablemente *wild-type*. Los datos concretos respecto al número de casos y porcentaje de melanomas con BRAF-mutado en cada rama se muestran en la [Figura 4.4](#).

Por lo tanto, el indicador más importante de mutación en BRAF es la presencia de velo azul-blancuecino, ya que su presencia o ausencia constituye la primera ramificación del modelo.

✓ **¿Cómo de bien predice nuestros datos este árbol de clasificación?**

Este árbol clasifica correctamente al 74,1% de los melanomas *wild-type* y al 71,4% de los melanomas con mutación BRAF. Este árbol clasifica correctamente al 73,1 % de los melanomas ([Tabla 4.13](#)).

Tabla 4.13 Capacidad predictiva del árbol de clasificación

		Predichos		S	E	VPP	VPN
		<i>Wild-type</i>	BRAF-mut				
Observados	<i>Wild-type</i>	43 (74,1 %)	15 (25,9 %)	71%	74%	63%	81%
	BRAF-mut	10 (28,6 %)	25 (71,4 %)				

- ✓ **¿Cómo de bien predice este árbol datos que no han sido tenidos en cuenta en su construcción?**

Al igual que con el modelo de regresión logística múltiple, para estudiar la capacidad predictiva del árbol de clasificación con datos nuevos, se seleccionaron aleatoriamente 47 melanomas de la base de datos (aproximadamente la mitad) para ajustar el modelo y predecir el estado mutacional del resto, comparando posteriormente lo predicho con lo observado (método de validación cruzada, ver *apartado 3.7.2* y *apartado 6: Limitaciones*). Los resultados se muestran en la Tabla 4.14.

Tabla 4.14 Capacidad predictiva del árbol de clasificación utilizando datos que no han sido tenidos en cuenta en su construcción.

	Predichos		S	E	VPP	VPN
	Wild-type	BRAF-mut				
Observados	Wild-type	19 (79,2 %)	71%	66%	55%	79%
	BRAF-mut	5 (54,5 %)				

Así pues, este árbol clasifica correctamente al 79,2% de los melanomas *wild-type* y al 54,5% de los melanomas con mutación BRAF, considerando melanomas que no han sido tenidos en cuenta en la construcción del árbol de clasificación. Este árbol clasifica correctamente al 67,4 % de los melanomas no tenidos en cuenta en el ajuste del modelo.

5.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se ha investigado la asociación entre las características dermatoscópicas del melanoma cutáneo y el estado mutacional de BRAF. En el momento en que se inició el estudio no existía ninguna publicación previa que analizara esta asociación, por lo que se diseñó como un estudio exploratorio al respecto.

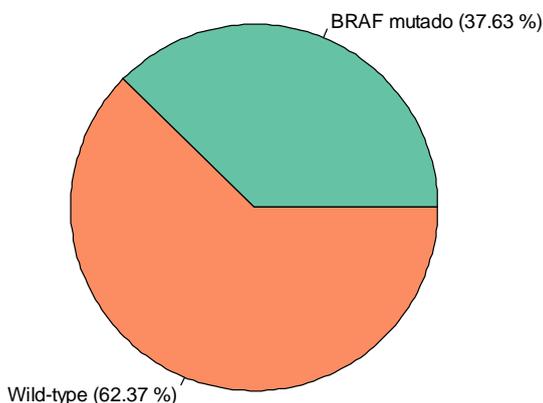
Además de las características dermatoscópicas, se incluyeron también variables clínicas e histopatológicas con el fin de ajustar los resultados obtenidos en el análisis de las variables dermatoscópicas, así como para comparar nuestros resultados con los de estudios previos que examinan la asociación de características clínicopatológicas con la presencia de mutaciones en BRAF.

De este modo, hemos podido constatar que los melanomas sí que presentan características dermatoscópicas diferenciales en función del estado mutacional de BRAF. A continuación se discutirán uno a uno los resultados de nuestro estudio, tanto en lo que se refiere a las características descriptivas de la muestra analizada como, principalmente, en lo que se refiere a las características distintivas entre melanomas BRAF-mutados y melanomas *wild-type* (y la capacidad de predecir el estado mutacional en base a estas), comparándolo todo con los datos existentes al respecto en el momento actual.

5.1 CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS

Un 37,6% de los melanomas de nuestro trabajo presentaban mutación en BRAF (Figura 5.1), lo cual está en consonancia con la frecuencia referida en los estudios previos, tanto del ámbito nacional (32-39%)^{39,83} como internacional (36,4% en el metaanálisis más reciente⁷¹).

Figura 5.1 Prevalencia de BRAF-mutado en la muestra estudiada



5.2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E HISTOPATOLÓGICAS

En 2013 se publicaron los resultados de la primera fase del proyecto del Registro Nacional de Melanoma Cutáneo (RNMC) de España⁴, en el que se describen las características del tumor en el momento del diagnóstico. En este estudio se analizaron las características de 13.628 melanomas diagnosticados a lo largo de un periodo de 15 años en nuestro país (1997-2011), constituyendo el trabajo más amplio de este tipo en nuestro medio. Por lo tanto constituye el principal

referente con el que comparar los datos descriptivos clínicos e histopatológicos de nuestra muestra.

5.2.1 EDAD

Las edades de los casos incluidos en nuestro estudio estaban comprendidas entre los 18 y los 90 años, con una media de 60 años. Esta media es prácticamente superponible a la obtenida por el RNMC, que fue de 57 años⁴, así como a la obtenida en otros estudios de nuestro país, que oscila entre los 57 y los 60 años^{7,8,110,111}.

En cuanto a la comparativa entre melanomas BRAF-mutados y *wild-type*, encontramos que existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ($p=0,004$): los melanomas BRAF-mutados aparecen en pacientes más jóvenes (media: 54 años) que los melanomas *wild-type* (media: 64 años). La significación estadística se mantiene además en el análisis multivariante ($p=0,008$).

Este hallazgo está en consonancia con lo descrito en el mayor y más reciente metaanálisis sobre la asociación de las características clínicopatológicas del melanoma primario con la presencia de mutaciones en BRAF de *Kim et al*⁷¹, publicado en junio de 2015⁷¹. En él, encuentran que la prevalencia de mutación en BRAF es significativamente mayor en pacientes de edad más joven. Concretamente, categorizando la edad de forma dicotómica, encuentran que el

36,9% de los pacientes <50 años presentan mutación en BRAF, frente a un 25,3% de los pacientes ≥50 años ($p < 0,001$). Si examinamos nuestros datos de la misma forma, encontramos que en nuestra muestra en el grupo de pacientes <50 años se observa mutación BRAF en 16/27 (59,3% de los casos), frente a 19/66 (28,8%) en el grupo de pacientes ≥50 años ($p = 0,009$). Esta mayor frecuencia de mutación de BRAF en melanomas de pacientes más jóvenes ha sido observada de forma reiterada en muchas otras publicaciones^{72,82,84,112,113}.

Todo esto, además, es acorde con la nueva clasificación o taxonomía de los melanomas sugerida por *Bastian*⁵⁷ en la que, como se señalaba en la *Introducción (apartado 1.4.2)*, los melanomas con alta frecuencia de mutaciones en BRAF constituirían un grupo (ubicado en el mismo taxón que los nevus adquiridos) que se caracteriza por aparecer en pacientes más jóvenes y que han experimentado exposición solar intermitente (versus crónica)^{71,72,112,113}.

En resumen, la edad media de nuestra muestra es superponible a la descrita en otras publicaciones de nuestro medio. Nuestra observación de que las mutaciones en BRAF son significativamente más frecuentes en melanomas de pacientes más jóvenes está en consonancia con lo descrito hasta el momento en la literatura, así como con la nueva clasificación de los melanomas y los nuevos conocimientos que se tienen sobre las distintas vías patogénicas que conducen a la aparición del melanoma.

5.2.2 SEXO

En nuestro estudio hay prácticamente el mismo número de mujeres (46 mujeres: 49,5%) que de hombres (47 hombres: 50,5%), de forma similar a lo que ocurre en otros estudios de nuestro medio^{8,114}. Sin embargo, en los datos del RNMC existe cierto predominio femenino, con un 56,5% de mujeres y un 43,5% de hombres⁴, y ocurre lo mismo en algunos estudios de nuestro país anteriormente publicados^{7,110,111,115}.

La ausencia de predominio femenino en nuestra serie podría deberse a la tendencia a una mayor incidencia de melanoma en varones que se ha ido produciendo en los últimos años². De hecho, en varios países ya supera de forma considerable a la incidencia en mujeres, como ocurre en Estados Unidos, donde actualmente la incidencia en hombres (28,5casos/100.000personas-año) prácticamente duplica a la de mujeres (16,9casos/100.000personas-año)⁵. En este sentido, el hecho de incluir en nuestro estudio únicamente melanomas diagnosticados a partir de 2011 podría justificar la ausencia de predominio femenino en nuestra muestra. En efecto, así ocurre en otros trabajos recientes de nuestro país^{39,114}.

Por lo que respecta al análisis de asociación con BRAF-mutado, en nuestro estudio no se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres, en consonancia con lo publicado anteriormente^{70,71,82,83,91,112,113}.

5.2.3 LOCALIZACIÓN

En nuestro trabajo, los melanomas se localizaron con mayor frecuencia en el tronco (54,8%), que en las extremidades (45,2%), al contrario que en el RNMC (47,2% y 52,8% respectivamente, una vez excluidos los melanomas de cabeza y mucosas para igualar el total sobre el que se calcula el porcentaje⁴). Esta diferencia probablemente se deba a la exclusión de los melanomas palmoplantares de nuestro estudio, que en el RNMC estarían incrementando el número de melanomas de localización en extremidades. Apoyando esta explicación, encontramos que en otros estudios de nuestro medio que analizan los melanomas de manos y pies como grupo independiente (no incluyéndolos dentro del grupo de melanomas de localización en extremidades) también se observa este predominio de tronco sobre extremidades^{7,116}. De todos modos, en otros trabajos también se ha descrito, como en el nuestro, una mayor frecuencia de melanomas en tronco que en extremidades, aún incluyendo los melanomas palmoplantares^{8,83,115}.

Respecto al análisis de asociación con BRAF-mutado, en numerosas publicaciones se ha descrito una mayor frecuencia de mutación en BRAF en los melanomas localizados en tronco (versus extremidades)^{39,70,71,83,112}. Sin embargo, en nuestro estudio no se han hallado diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la localización. Es más, solo el 42,9% de los melanomas con BRAF mutado de nuestra muestra estaban localizados el tronco, mientras que el 57,1%

estaban en las extremidades. Sin embargo, los melanomas con BRAF *wild-type* fueron en nuestra muestra más frecuentes en tronco (62,1%) que en extremidades (37,9%).

Esta mayor frecuencia de mutaciones en BRAF en melanomas localizados en extremidades no es estadísticamente significativa, y no debe entenderse como un hallazgo que contradiga los nuevos conocimientos sobre la patogenia del melanoma (y la nueva clasificación de Bastian). Lo que importa cuando pensamos en la vía patogénica del melanoma no es la localización en sí, sino la presencia o ausencia de daño solar crónico en la piel.

Generalmente se acepta que el tronco es una localización habitualmente fotoprotegida sometida a exposición solar intermitente y, por tanto, una zona de piel sin daño solar crónico en la que deberían predominar los melanomas con BRAF-mutado. Sin embargo, las extremidades son consideradas en algunos estudios como zona habitualmente fotoprotegida^{7,68,117} y en otros como zona de daño actínico crónico (algunos consideran así antebrazos y piernas¹¹⁸, otros solo dorso de manos¹¹⁹), existiendo una importante heterogeneidad entre publicaciones⁷¹.

Asumir que una zona anatómica está habitualmente fotoprotegida y otra habitualmente fotoexpuesta puede llevar a error, ya que esto va a depender de la localización geográfica de los pacientes y de sus hábitos de vida. Si queremos

valorar con fiabilidad la presencia o ausencia de daño actínico crónico, la medida más objetiva es la histología (elastosis solar), no la localización anatómica⁷¹. De hecho, en un reciente estudio se comprueba que los melanomas que aparecen en piel con elastosis solar tienen características clínico-patológicas similares entre sí y significativamente distintas a los que aparecen en piel sin elastosis solar, independientemente de su localización anatómica¹²⁰.

Por lo tanto, la localización anatómica tiene un menor valor que la elastosis solar a la hora de agrupar a melanomas con similar patogenia (y, por tanto, con similar base genética). De hecho, como se discute más adelante (*apartado 5.2.8*), en nuestro estudio la relación entre elastosis solar y frecuencia de mutaciones en BRAF sí que muestra (aunque sin alcanzar la significación estadística) la tendencia esperada.

5.2.4 TIPO HISTOLÓGICO

Según los datos del RNMC⁴, en España el melanoma de extensión superficial supone el 65% de los casos, el melanoma nodular un 19,8%, el lentigo maligno melanoma un 8,9% y el melanoma lentiginoso acral un 5,8% (el 0,4% restante es de mucosas). Sin embargo, en nuestro estudio el melanoma de extensión superficial supone un mayor porcentaje de los casos (82,8%), seguido por el melanoma nodular (10,7%), el lentigo maligno melanoma (4,3%) y otros tipos histológicos (spitzoide y nevoide, 1 caso de cada, que suponen entre ambos un 2,2%).

A la hora de comparar la frecuencia de los distintos tipos de melanoma que observamos en nuestra serie con los descritos en la literatura, debemos tener presente que la localización facial o palmoplantar es criterio de exclusión. Por lo tanto, no hay en nuestra muestra ningún caso de melanoma lentiginoso acral, y muy pocos de tipo lentigo maligno melanoma (únicamente aquellos de localización extrafacial). De hecho, en otro estudio sobre la relación dermatoscopia-genética en el que se tienen en cuenta criterios de exclusión muy parecidos a los nuestros, de *Fargnoli et al*⁴⁰, el melanoma de extensión superficial supone un 80% de los casos y el melanoma nodular un 12,5%, que son frecuencias casi idénticas a las que nosotros hemos obtenido. Asimismo, en un estudio publicado en 2006 en el que se analizaban las características de 1571 melanomas en Valencia diagnosticados en 2 centros de referencia (IVO y Hospital General), y en el que los melanomas de manos y pies también se separaban del resto de melanomas de extremidades, encontramos que de 1073 melanomas localizados en tronco o extremidades, cerca también del 80% eran de extensión superficial (822: 77%)⁷.

Por lo tanto, en cuanto a la frecuencia observada de los distintos tipos histológicos, tampoco parece haber una discordancia entre los datos obtenidos en nuestra muestra y lo descrito anteriormente en la literatura, una vez se tienen en cuenta los criterios de exclusión de nuestro estudio.

Por lo que respecta a la posible relación con la presencia de mutaciones en BRAF, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas respecto al tipo histológico. En nuestro estudio un 50% (5/10) de los melanomas nodulares presentaban BRAF mutado frente a un 37,6% de los melanomas de extensión superficial (29/77), diferencia que no es significativa. Esto contrasta con lo descrito mayormente en la literatura, en la que se encuentra una mayor frecuencia de mutaciones BRAF en melanomas de extensión superficial^{70,71,82}. Así, en el metaanálisis de *Kim et al*⁷¹ encuentran que la frecuencia más alta de mutación en BRAF se encuentra en melanomas de extensión superficial (50,4%), seguida del melanoma nodular (40,7%), lentigo maligno melanoma (19,5%) y melanoma lentiginoso acral (14,6%) ($p < 0,001$)⁷¹. Para entender esta discordancia, de nuevo debemos tener en cuenta los criterios de exclusión de nuestro estudio.

En el estudio multicéntrico de la Comunidad Valenciana, de *García-Casado et al*⁸³, cuya población de estudio es más parecida a la nuestra (se incluyen únicamente melanomas localizados en tronco y extremidades –excluyendo acrales–) encuentran, como nosotros, que las mutaciones en BRAF no se asocian al tipo histológico de extensión superficial. En él, las frecuencias de mutación recuerdan más a las nuestras, presentando mutación el 59,2% de los melanomas nodulares y el 27% de los de extensión superficial, asociándose la mutación BRAF con el tipo nodular de forma estadísticamente significativa⁸³.

Aunque en nuestra muestra solo hubo 4 casos de lentigo maligno melanoma, cabe señalar que ninguno de ellos mostraba mutación en BRAF. Esta baja frecuencia de mutación BRAF en este tipo histológico, íntimamente relacionado con el daño solar crónico¹²¹, va en consonancia tanto con lo publicado al respecto^{71,82} como con lo que sabemos actualmente sobre la patogénesis molecular del melanoma^{57,72,85}.

5.2.5 PROFUNDIDAD DE INVASIÓN

El espesor de Breslow medio de nuestra muestra fue de 1,2mm, que se sitúa por debajo del descrito en el RNMC, que es de 1,97mm. Si se categoriza, tenemos que un 67,7% de nuestros melanomas presentaban un índice de Breslow ≤ 1 mm, frente a un 50,1% de los del RNMC.

De nuevo, como ocurría con el género de los pacientes, debemos tener en cuenta que nuestra muestra se limita a melanomas diagnosticados a partir de 2011, y que la muestra del RNMC se recoge desde 1997. La progresiva disminución en el espesor tumoral de las lesiones diagnosticadas, con una evidente disminución de los melanomas gruesos (todo ello a pesar de un aumento global de la incidencia y gracias a un diagnóstico más precoz), se ha puesto de manifiesto en múltiples estudios^{2,7,8}, y puede justificar lo observado en el nuestro. De hecho, en otros trabajos recientes de nuestro país ya se observan datos de espesor tumoral más parecidos a los nuestros, como en el de *Ciudad-Blanco et al*¹¹⁵, con un 67% de melanomas con un índice de Breslow

$\leq 1\text{mm}$, el de *Troya-Martín et al*¹¹⁴, en el que suponen el 66,7%, o el de *Gamo* (tesis doctoral)¹²², en el que son el 67,6%. Por lo tanto, parece que en estudios españoles que recogen melanomas diagnosticados a partir de 2005, 2/3 de los casos corresponden a melanomas delgados con Breslow $\leq 1\text{mm}$, y nuestra muestra refleja esta nueva realidad.

En cuanto al estudio de asociación, ninguna de las variables que valoran la profundidad de invasión tumoral (espesor de Breslow, nivel de Clark y fase de crecimiento) se asoció de forma estadísticamente significativa a la presencia de mutaciones en BRAF. Ni siquiera se observó una tendencia: el 67,2% y el 68,6% de los melanomas BRAF *wild-type* y los BRAF-mutados respectivamente mostraban un espesor de Breslow $\leq 1\text{mm}$.

Los datos al respecto en la literatura son contradictorios, aunque predominantemente no muestran relación entre el espesor tumoral y el estado mutacional de BRAF^{71,92,93,97}. No obstante, hay tanto estudios que encuentran que las mutaciones predominan en melanomas más delgados⁷⁰, como otros que encuentran que predominan en melanomas más gruesos⁸³.

En cualquier caso, el hecho de que nuestro grupo de melanomas BRAF-mutados y el grupo de melanomas *wild-type* sean equivalentes en cuanto al espesor tumoral es un dato de gran relevancia teniendo en cuenta el primer (y principal) objetivo de nuestro trabajo: el estudio de las diferencias dermatoscópicas entre

ellos. Se sabe que una mayor o menor profundidad de invasión tumoral supone la visualización de unos hallazgos dermatoscópicos distintos^{21,24}. Por lo tanto, si el grupo BRAF-mutado y el grupo *wild-type* son homogéneos en cuanto a profundidad tumoral, resulta más probable que las diferencias dermatoscópicas observadas entre ellos se deban a la genética del melanoma y no a una diferencia de profundidad de invasión.

De hecho, esta es una clara limitación en la interpretación de los resultados del estudio dermatoscopia-BRAF de *Bombonato et al*⁹¹ que los propios autores admiten⁹¹. En su trabajo encuentran un espesor de Breslow medio significativamente superior en el grupo de lesiones con BRAF-mutado. Esto podría verse condicionado por el hecho de que realizan la determinación de BRAF predominantemente en melanomas avanzados, con finalidad terapéutica o de estudio pronóstico⁹¹ (*este punto se discute con más detalle en el apartado 5.3.2.4*). El hecho es que en nuestro trabajo hemos logrado evitar este posible sesgo, gracias a que la determinación de BRAF se ha realizado en todos los casos de melanoma en los que se disponía de imagen dermatoscópica, independientemente de su grosor.

Por lo tanto, el espesor tumoral de los melanomas de nuestro estudio no solo refleja la nueva realidad epidemiológica del melanoma en nuestro país^{2,114,115,122}, sino que además la homogeneidad en cuanto a profundidad de invasión entre el grupo de melanomas con y sin mutación de BRAF da mayor validez a la posible

relación entre las diferencias dermatoscópicas observadas entre los grupos y su distinta base genética.

5.2.6 ULCERACIÓN HISTOLÓGICA

En nuestro estudio, un 15,1% de los melanomas presentaba ulceración, un porcentaje cercano, aunque inferior, al referido por el RNMC, que es del 20,6%. Tal como ocurría con el espesor de Breslow, la tendencia actual es a un diagnóstico cada vez más precoz², lo cual supone también una menor proporción de casos ulcerados⁷, como ponen de manifiesto los estudios más recientes de nuestro medio, en los que el porcentaje de casos ulcerados oscila entre el 7-11%^{114,115,122}.

De nuevo nos encontramos con que nuestra muestra parece concordar con lo observado en la práctica clínica habitual de los últimos años en nuestro país, de forma que no existe un predominio de melanomas más avanzados, a diferencia de lo que parece ocurrir en los estudios dermatoscopia-BRAF de *Pozzobon et al*³⁹ (42% de casos ulcerados) y, en menor medida, *Bombonato et al*⁹¹ (26% de casos ulcerados). De todos modos, el dato de prevalencia de ulceración ofrecido en el de *Pozzobon et al*³⁹ no es todo lo confiable que debiera ser. En realidad solo 17 casos estaban ulcerados, pero solo disponen de datos sobre ulceración histológica en 40 de los 72 casos incluidos, por lo que hay 32 casos en los que no cuentan con información al respecto. Sin embargo, es probable que pocos o ninguno de esos 32 casos tuviera ulceración histológica, ya que el número de

casos con ulceración dermatoscópica no fue mucho mayor (20 casos de los 72 valorados) y, como se discute más adelante, la dermatoscopia parece tener una alta sensibilidad en la detección de ulceración (*apartado 5.3.1.2*).

En lo que se refiere al estudio de asociación, en nuestro trabajo no observamos diferencias significativas entre el grupo de melanomas con BRAF mutado (17,1% ulcerados) y el grupo de melanomas *wild-type* (13,8% ulcerados), en consonancia con lo descrito en el metaanálisis de *Kim et al*⁷¹ y otros trabajos posteriores no incluidos en el metaanálisis^{82,92,93}. No obstante, cabe señalar también que hay otros estudios en los que sí que se ha encontrado mayor frecuencia de ulceración en melanomas con mutación en BRAF^{39,83,91}.

5.2.7 ÍNDICE MITÓTICO

Ni el RNMC ni el resto de estudios que describen las características clínico-patológicas del melanoma en nuestro país referidos hasta el momento presentan datos sobre la frecuencia de la presencia de mitosis en el estudio histológico. No obstante, si extraemos los datos de otros trabajos vemos que en dos recientes^{82,123} encuentran presencia de mitosis ($\geq 1/\text{mm}^2$) en un 45% de los melanomas (57/126 y 401/892 respectivamente). En nuestro estudio encontramos una frecuencia similar, con un 52% presentando ≥ 1 mitosis/ mm^2 en el estudio histológico.

En cuanto al estudio de asociación, nosotros no hemos encontrado diferencias significativas en cuanto a índice mitótico entre el grupo con BRAF-mutado y el grupo *wild-type*, como ocurre en uno de los pocos estudios que analiza este aspecto⁹⁴. No obstante, *Thomas et al*⁸² sí que encontraron una asociación con un mayor índice mitótico, así como previamente *Long et al*¹²⁴, si bien en este último caso estudiaban únicamente melanomas metastásicos y había una altísima proporción de ellos con presencia de mitosis en la histología del primario (86%, 126/146).

5.2.8 ELASTOSIS ACTÍNICA EN PIEL PERITUMORAL

Nuevamente, el RNMC no nos aporta información respecto a esta característica. En el trabajo de *García-Casado et al*⁸³ encontramos que un 23% del total de los melanomas presentaba elastosis solar. En el metaanálisis de *Kim et al*⁷¹ tenemos que de 2064 melanomas (de 14 estudios distintos con datos sobre elastosis solar), 620 presentaban este hallazgo (30%). En nuestra muestra se disponía de información sobre este parámetro en 81 de los 93 casos incluidos y 20 de ellos (24,7%) presentaban elastosis solar, siendo por tanto un porcentaje equivalente a lo publicado anteriormente.

Por lo que respecta al estudio de asociación, nosotros observamos una tendencia a una asociación inversa entre elastosis solar y frecuencia de mutaciones en BRAF que se acerca a la significación estadística aunque sin alcanzarla ($p=0,06$). Así, de los melanomas BRAF-mutados, solo un 12,5% de los casos asienta en piel

con elastosis solar, frente a un 32,7% de los casos *wild-type*. En el estudio de *García-Casado et al*⁸³ la diferencia es significativa y los porcentajes son muy parecidos, del 16,9% y el 33,6% respectivamente ($p=0,04$).

En el metaanálisis de *Kim et al*⁷¹ presentan los datos de otro modo, observándose que un 28,5% de los melanomas que asienta en piel con elastosis solar presentan mutación en BRAF, frente a un 51,9% de los que asientan en piel sin elastosis solar ($p<0,001$). Si mostramos nuestros datos del mismo modo, obtenemos proporciones similares, con un 20% (4/20) frente a un 46% (28/61) respectivamente. Otros estudios confirman también la menor frecuencia de elastosis solar en los melanomas BRAF-mutados^{92,97}.

Por lo tanto, la tendencia observada en nuestro estudio hacia una asociación inversa entre la presencia de elastosis solar y la frecuencia de mutaciones en BRAF concuerda con lo publicado hasta el momento^{71,85,92,97} y con los nuevos conocimientos sobre la patogenia molecular del melanoma^{57,72}. El limitado número de casos de nuestra muestra podría haber impedido alcanzar la significación estadística.

5.2.9 REGRESIÓN HISTOLÓGICA

Un 30% de nuestros melanomas mostraba regresión histológica. El RNMC no ofrece datos respecto a este parámetro pero es conocido que la prevalencia se sitúa entre el 10-35%¹⁰⁰, y en un estudio reciente de nuestro medio es del

25,9%¹²⁵, por lo que nuestra muestra parece coincidir con lo esperado, a diferencia de lo que ocurre en el estudio dermatoscopia-BRAF de *Pozzobon et al*³⁹, en el que un 53% de los melanomas presentaba regresión histológica. *Bombonato et al*⁹¹ no incluyen información sobre este parámetro.

En lo relativo al análisis de asociación, en nuestro estudio no se observaron diferencias significativas en cuanto a regresión entre el grupo de melanomas con BRAF mutado y el grupo con BRAF *wild-type*. Muy pocos estudios han analizado comparativamente este parámetro y los pocos que lo han hecho, o bien no han encontrado asociación^{95,96}, como nosotros, o bien han encontrado una menor frecuencia de regresión en los melanomas con BRAF mutado (*Estrozi et al*⁸⁹, $p=0,001$). Esto contrasta con lo descrito por *Pozzobon et al*³⁹, que sugieren una tendencia a una mayor frecuencia de regresión en los melanomas BRAF mutado ($p=0,08$), lo cual les concuerda con su hallazgo de que uno de los signos dermatoscópicos de regresión, el *peppering*, sí que les resulta asociado a mutación en BRAF de forma estadísticamente significativa ($p=0,015$), y sugieren que la ausencia de significación en la regresión histológica se podría deber al escaso número de casos en los que disponían de este dato (solo el 42%). Sin embargo, en el reciente estudio de *Bombonato et al*⁹¹, que incluye los casos de *Pozzobon et al*³⁹, aunque no ofrecen datos sobre la regresión histológica, ya no obtienen asociación significativa entre regresión dermatoscópica y mutación de BRAF.

Por lo tanto, globalmente podemos afirmar que la frecuencia de regresión histológica en nuestra muestra fue la esperable en una muestra de nuestro entorno, y que la ausencia de asociación con el estado mutacional de BRAF es acorde con lo publicado hasta el momento.

5.2.10 TIPO CELULAR

Aunque este es un parámetro poco estudiado en los trabajos previamente publicados, decidimos incluirlo ante los hallazgos de *Viros et al*⁹⁷ que concluían que los melanomas con BRAF-mutado tendían a tener células más grandes y redondeadas (podríamos decir *más epitelioides*) que los *wild-type*.

En nuestro estudio, el tipo celular predominante fue el epiteliode en el 88% de los melanomas, el fusocelular en el 8,7% y el nevoide en el 3,3%. Si comparamos según estado de BRAF, sí que existían diferencias estadísticamente significativas: ningún melanoma BRAF-mutado mostró componente celular fusiforme (0%), frente a un 14% de los melanomas *wild-type* ($p=0,02$), de forma que prácticamente todos los melanomas con BRAF-mutado (94,3%) mostraban tipo celular epiteliode, frente a un 84,2% de los melanomas *wild-type*. Del tercer tipo celular encontrado, el nevoide, hubo solo 3 casos, 2 de ellos eran BRAF-mutados y 1 era *wild-type*.

*Pozzobon et al*⁹⁹ incluyen información respecto al tipo celular y encuentran una frecuencia de tipo celular epiteliode del 79%, aunque solo disponen de este dato

histológico en 24 casos, que suponen el 33% de sus pacientes. Respecto a los melanomas con componente fusocelular solo tienen 2 casos (8%), uno con BRAF-mutado y otro *wild-type*. Finalmente, encuentran otro tipo celular, sarcomatoide, en 3 casos con BRAF-mutado. En cualquier caso, no encuentran diferencias significativas entre los grupos.

En el estudio de *Viros et al*⁹⁷, aunque se elabora una clasificación de la morfología celular más compleja (1 = redondeada, 2 = ovalada, 3 = elongada y 4 = fusiforme) y no contemplan como tal el tipo celular epitelioides, sí que contemplan el tipo celular fusiforme, suponiendo un 6,3% de los 296 casos que estudian, porcentaje similar al nuestro (8,7%). En su trabajo, solo un 2,8% de los melanomas con BRAF-mutado (4/141) presentaron células fusiformes, frente a prácticamente un 10% (15/155: 9,7%) de los *wild-type*, porcentajes que concuerdan con lo observado en nuestro estudio a este respecto. Es más, tanto en el estudio de *Viros et al*⁹⁷ como en el posterior de *Broekaert et al*⁹² (que usan los mismos criterios y buscan confirmar los hallazgos del primero), la presencia de morfología celular distinta a la redondeada (*más hacia fusiforme*) se reveló como un predictor negativo de BRAF-mutado, con una OR de 0,58 (IC 95% 0,44-0,76; $P < 0,0001$) y de 0,49 (IC 95% 0,035-0,66, $p < 0,0001$) en el primer y el segundo estudio respectivamente. De forma equivalente, en nuestro trabajo la presencia de células fusiformes mostró una correlación inversa con la presencia de

mutación en BRAF, revelándose también como un predictor negativo, con OR=0 (IC 95% 0-0,9; p=0,02).

En un trabajo más reciente sobre la morfología celular y su relación con BRAF⁸⁴, en los melanomas primarios BRAF-mutados un 85% de los casos mostraba celularidad epitelioides y un 0% celularidad fusiforme, frente al 73% y el 3% respectivamente de los *wild-type*, sin alcanzar significación estadística.

También *García-Casado et al*⁸³ encuentran que los melanomas BRAF-mutados muestran un mayor predominio del tipo celular epitelioides de forma estadísticamente significativa (89,3% de los mutados frente a 73,9% de los *wild-type*). La celularidad no era predominantemente epitelioides en un 10,7% de los BRAF-mutados frente a un 26,1% de los *wild-type* (p=0,03). Es de suponer que en buena parte de estos melanomas la celularidad predominante sería fusiforme y que por tanto esta sería, como en nuestro estudio, más frecuente en los *wild-type* que en los BRAF-mutados, pero como no ofrecen datos desglosados al respecto no se puede comparar adecuadamente.

En definitiva, nuestros hallazgos respecto al tipo celular son acordes a lo publicado hasta el momento: el tipo celular fusiforme es significativamente más infrecuente en los melanomas BRAF-mutados que en los *wild-type*, siendo los melanomas BRAF-mutados predominantemente epitelioides. La significación se pierde, sin embargo, al realizar el análisis multivariante.

5.2.11 NEVUS ASOCIADO

La frecuencia con que se encuentra nevus preexistente en la histología del melanoma varía entre un 10-36%^{39,68,83,87-89,115}. En nuestro estudio fue de un 32,6%, por lo que coincide con lo esperable.

Los datos existentes respecto a la posible correlación entre mutaciones en BRAF y presencia de nevus asociado en la histología son contradictorios. Hay varios trabajos que no encuentran correlación^{39,83,89,90}, y otros tantos que sí que encuentran una frecuencia significativamente mayor en los melanomas BRAF-mutados^{68,86,87,113}. En estos últimos estudios, la frecuencia de nevus entre los BRAF-mutados es de un 40-53% y entre los *wild-type* es de un 20,5-24%.

En nuestro estudio encontramos resultados similares a estos, ya que observamos una clara tendencia a una mayor frecuencia de nevus asociado entre los melanomas BRAF-mutados (45,4%) que entre los *wild-type* (25%), si bien no llega a alcanzarse el nivel de significación estadística ($p=0,06$).

Aunque dados los resultados contradictorios existentes no podemos llegar a conclusiones al respecto, es cierto que en la taxonomía de las lesiones melanocíticas propuesta por *Bastian*⁵⁷ encajaría muy bien esta mayor frecuencia de nevus coexistente en los melanomas BRAF-mutados (ver apartado 1.4.4.2).

5.2.12 RESUMEN DE LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E HISTOPATOLÓGICAS DE LA MUESTRA ESTUDIADA

Por lo que respecta a las características globales de la muestra estudiada, aunque desde un punto de vista estadístico su representatividad no se puede

establecer con exactitud (ver *apartado 6: Limitaciones*), parece que se ajusta adecuadamente a las características clínicas e histopatológicas esperables teniendo en cuenta la epidemiología actual del melanoma en nuestro entorno.

En cuanto a las diferencias que hemos encontrado entre los melanomas BRAF-mutados y melanomas *wild-type* respecto a todas estas características, son acordes con la evidencia disponible hasta el momento. En base a ellas, podemos caracterizar los melanomas BRAF-mutados como melanomas que aparecen en pacientes más jóvenes, en los que es especialmente infrecuente la presencia de células fusiformes, predominando las epitelioides, y con una tendencia a aparecer con mayor frecuencia en piel sin elastosis solar (sin daño solar crónico) y con presencia de nevus asociado en la histología. Este perfil se ajusta con llamativa precisión al previsto en base a los nuevos conocimientos sobre la patogenia molecular del melanoma y la nueva clasificación propuesta por *Bastian*⁵⁷.

Finalmente, cabe destacar que en características histológicas con importante repercusión dermatoscópica (espesor de Breslow, ulceración y regresión), nuestra muestra parece adecuarse mejor a la epidemiología actual del melanoma en nuestro medio que las estudiadas en los otros 2 principales trabajos realizados hasta el momento con el mismo objetivo (*Pozzobon et al*³⁹ y *Bombonato et al*⁹¹), por los motivos que han sido detallados en los apartados correspondientes (*apartados 5.2.5, 5.2.6 y 5.2.9*) –siempre teniendo en cuenta

que en ninguno de estos estudios se ha establecido la representatividad por métodos estadísticos—.

Todo esto supone un sólido fundamento que proporciona mayor validez a los hallazgos de nuestro trabajo en el análisis comparativo entre las características dermatoscópicas de los melanomas BRAF-mutados y los *wild-type*.

5.3 CARACTERÍSTICAS DERMATOSCÓPICAS

5.3.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA PREVALENCIA DE LAS DISTINTAS CARACTERÍSTICAS DERMATOSCÓPICAS

En la [Tabla 5.1](#) se comparan las frecuencias con que se observan las distintas estructuras dermatoscópicas en nuestro trabajo con las descritas en la literatura.

Podemos comprobar cómo las frecuencias de las características dermatoscópicas observadas en nuestro estudio son, en general, similares a las frecuencias descritas en la literatura tomada en su conjunto, teniendo en cuenta la amplia variabilidad de algunas de ellas.

Los valores obtenidos en el *Consensus Net Meeting on Dermoscopy* (CNMD) se exponen en primer lugar. Si bien el número de lesiones analizadas en este estudio fueron limitadas (85 lesiones), el número de observadores fue el más elevado de todos los estudios dermatoscópicos realizados hasta el momento (40 observadores), lo cual confiere un especial interés a sus datos sobre concordancia interobservador. Estos, que debido al elevado número de observadores muestran unos índices de *kappa* bajos (oscilando entre la pobre concordancia y la aceptable concordancia), ayudan a explicar algunas llamativas discordancias observadas en la literatura sobre la prevalencia de determinadas características dermatoscópicas, como veremos a continuación.

Tabla 5.1 Comparativa de la frecuencia de las principales estructuras dermatoscópicas. Los números corresponden a porcentajes (%). Se resaltan en negrita los resultados que más se aproximan a los nuestros (aproximadamente ± 10 puntos porcentuales de diferencia).

Estructura	Presente estudio	†CNMD	Estudios BRAF-dermatoscopia				Estudios con información relevante sobre la frecuencia de las características dermatoscópicas				
	Armen-got	CNMD ²²	Pozzo-bon ³⁹	*Bombo-nato ⁹¹	*Farg-noli ⁴⁰	*Tejera ¹²⁶	Ciudad ¹¹⁵	Troya ¹¹⁴	Seide-nari ¹²⁷	Otros‡	
Retículo	68,2	86	76	-	82,4	75	57	57,8	62	-	
Retículo invertido	9,9	-	-	12,8	-	-	9,5	-	-	27 ¹²⁸	
Puntos o glóbulos	78,2	79	94	28,5	-	37,1	44	**	86,9	-	
Proyecciones	33,3	55	32	16,9	41,2	31,8	13	20	29,2	-	
Manchas	90,2	46	62	41,3	-	-	**	84,4	-	-	
Áreas de hipopigmentación	42,1	44	-	-	-	**	-	86,7	-	-	
Velo	51,1	49	57	-	19,6	36,4	22	42,2	37,6	59,7 ⁴²	
Crisálidas	24,4	-	64	37,8	-	-	11	-	-	31 ⁴²	
Ulceración	21,1	-	28	26,7	-	25	-	-	-	-	
Regresión dermatoscópica	38,7	64	-	33,1	54,9	**	-	80	85,5	54 ⁴²	
Despigmentación blanca tipo cicatriz	29,5	-	33	-	-	**	19,5	-	-	41,1 ⁴²	
Peppering	16,3	-	53	18	-	**	**	-	-	30 ⁴²	
Vasos lineales	19,1	-	-	-	-	19,7	18	-	-	33,3 ³¹	
V. puntiformes	9,6	-	11	11	-	1,5	8,5	-	-	22,7 ³¹	
V. glomerulares	5,4	-	-	-	-	-	0,5	-	-	1,3 ³¹	
Áreas rojo-lechosas	17,4	-	65	30,8	-	7,6	-	-	-	4,7 ³¹	
Eritema	18,5	-	-	-	-	-	-	-	-	17,3 ³¹	
TDS	6,2	-	7,1	-	6,58	-	-	-	5,96	-	

(†) CNMD: Consensus Net Meeting on Dermoscopy. Los porcentajes se han extraído de la Tabla III del artículo de Argenziano et al²², en la que se muestra la distribución de criterios dermatoscópicos individuales en lesiones de melanoma.

(*) En estos estudios los porcentajes no aparecen directamente, se han calculado en base a los datos presentados en ellos.

(-) No presentan datos respecto a la característica dermatoscópica comparada.

(**) Sí que presentan datos pero la característica se ha evaluado de forma distinta por lo que no es comparable.

(‡) Datos de estudios realizados específicamente para la determinación de la frecuencia de ciertas características dermatoscópicas

5.3.1.1 DISCORDANCIAS LLAMATIVAS ENTRE ESTUDIOS

Destaca la discordancia entre la alta frecuencia de **MANCHAS DE PIGMENTO** observada en nuestro estudio (90,2%) y las observadas en el CNMD (46%)²² y por *Bombonato et al*⁹¹ (41,3%). Esta característica dermatoscópica es especialmente problemática, como revela la amplia variabilidad entre estudios. Una parte importante del problema puede ser que las manchas no están definidas de forma precisa en términos de tamaño y color. Por consiguiente, el reconocimiento de este parámetro dermatoscópico sufre en comparación con el de otros, como ya se ha señalado anteriormente en la literatura¹²⁹. Así, la concordancia interobservador de este parámetro dermatoscópico fue la más baja de todas las analizadas en el CNMD, con un índice kappa de solo 0,21²². Aunque en nuestro estudio la concordancia es aceptable, el índice kappa es de los más bajos, con un 0,53, a pesar de que los 2 observadores tenían una misma guía de definición de las variables con fotografías con la intención de aumentar al máximo la concordancia, como se ha indicado en el *apartado 3.6.2*.

Nuestra definición de mancha de pigmento se ajustó a la expuesta por *Troya-Martín et al*¹¹⁴ (cualquier área de pigmento sin estructuras, independientemente del color o el tamaño). Precisamente ellos obtienen un resultado prácticamente idéntico al nuestro (84,4%). También en nuestro país, *Ciudad-Blanco et al*¹¹⁵ tienen resultados muy distintos porque dividen esas “áreas de pigmento sin estructuras” en *manchas de pigmento* propiamente dichas y *áreas*

desestructuradas u homogéneas, sin aclarar demasiado esta diferenciación, ya que definen las áreas desestructuradas como “*áreas de pigmentación difusa en ausencia de otras estructuras identificables*”, una definición que se superpone a la de las manchas de pigmento. Esto resulta en un bajo porcentaje de manchas de pigmento en su estudio, del 37,5%, que sin embargo se acerca más a la frecuencia descrita en el CNMD que el nuestro. Con todo, parece que los hallazgos referidos a las manchas de pigmento deben interpretarse con cierta cautela.

Otro parámetro que muestra valores muy dispares entre distintas publicaciones es el de los **PUNTOS O GLÓBULOS DE PIGMENTO**, cuya frecuencia va desde un 28,5% de los melanomas en el estudio de *Bombonato et al*⁹¹ hasta un 86,9% en el de *Seidenari et al*¹²⁷. En el CNMD este parámetro (con una frecuencia de 79%, prácticamente igual a la nuestra, del 78,2%) mostró una pobre concordancia interobservador (índice kappa 0,33). Esto podría justificar, al menos en parte, la variabilidad entre estudios. Los glóbulos son estructuras mejor definidas mientras que los puntos y, sobre todo, su diferenciación de los glóbulos, son más complejos de valorar. De hecho, se suelen valorar conjuntamente con los glóbulos, a pesar de su diferente fundamento histopatológico²¹. La presencia de un único punto en toda la lesión podría, además, pasar desapercibida en ciertos casos, o incluso podría no considerarse suficiente como para afirmar que el melanoma presenta “puntos o glóbulos”.

También en cuanto a **REGRESIÓN** encontramos diferencias notables entre estudios. No solo en cuanto a las frecuencias descritas, sino también en cuanto a la forma de referirse a esta característica, lo que dificulta la comparación. Hay estudios en los que se presentan datos sobre regresión dermatoscópica en general, oscilando desde un 33,1% hasta un 85,5%.

En algunos estudios a la regresión dermatoscópica en general la llaman *Blue-White Structures* (BWS)²⁴⁻²⁶, término que incluye tanto la regresión azul como la blanca, que con frecuencia aparecen entremezcladas. Otros, sin embargo, muestran datos concretos del tipo de regresión dermatoscópica observada, y aquí es donde encontramos mayor variabilidad de nomenclaturas y mayor dificultad para comparar. El *peppering* ha recibido en la literatura distintos nombres (*peppering*^{27,39}, *blue pepper-like granules*²², *granularity*¹³⁰, *blue-gray dots*¹²⁷, *blue-gray areas*^{126,131}), mientras que la *despigmentación blanca tipo cicatriz* tiene una nomenclatura más uniforme, usando este término (*white scar-like depigmentation*^{22,39,130}) o, menos frecuentemente, el de *regresión blanca* o *áreas blancas*^{27,115}.

Sin embargo, el mayor problema es que esta división es notablemente confusa en algunos estudios. Por ejemplo, en el de *Tejera-Vaquerizo et al*¹²⁶ utilizan los términos *Regression* y *Blue-gray areas* como 2 características dermatoscópicas independientes, por lo que *Regression* no es un concepto general que incluya la regresión azul, y podría estar refiriéndose únicamente a la regresión blanca, pero

no aclaran este punto. Por su parte, *Ciudad-Blanco et al*¹⁵ hablan de unas “*estructuras blanco-azuladas*”, denominación que parece corresponder a BWS, es decir, a regresión en general; de hecho, refieren que “su hallazgo traduce la presencia de zonas de regresión tumoral en las lesiones”. Sin embargo, a la hora de mostrar los datos, la información relativa a las “*áreas blancas cicatriciales*” se muestra de forma separada, independiente de las “*estructuras blanco-azuladas*”, concepto que por lo tanto no las incluiría.

Más allá de estos conceptos confusos, el hecho es que hay una amplia variabilidad en la frecuencia con que se observa regresión dermatoscópica, tanto como concepto global como dividida en regresión blanca y azul. Idealmente, todos los artículos que estudian la regresión dermatoscópica deberían aportar información sobre la existencia o no de regresión histológica, sin embargo la mayoría no lo hace. En un artículo citado constantemente en casi todos los artículos posteriores sobre regresión dermatoscópica, *Zalaudek et al*²⁵ seleccionaron 158 lesiones cutáneas (nevi y lesiones melanocíticas ambiguas) que mostraban BWS en la dermatoscopia e hicieron una correlación histopatológica, estableciendo una guía de actuación ante la presencia de regresión dermatoscópica. Sin embargo, lo que no se suele resaltar es el hecho de que en este estudio todas las lesiones que dermatoscópicamente mostraban BWS, histológicamente mostraban regresión, hecho muy relevante.

Sería de esperar que, aunque la correlación no fuera exacta, sí que hubiera cierta similitud y proporcionalidad entre la prevalencia de regresión dermatoscópica y la de regresión histológica. Esto se cumple sin duda en nuestro caso, ya que observamos regresión dermatoscópica en un 38,7% de los melanomas y regresión histológica en un 30%. También se cumple en el de *Pozzobon et al*³⁹, que muestra una prevalencia de *peppering* del 53%, que es elevada pero acorde a la prevalencia de regresión histológica de su estudio (también del 53%). Sin embargo, no se cumple en absoluto en el estudio de *Troya-Martín et al*¹¹⁴, en el que los propios autores resaltan la discordancia entre el 80% de regresión dermatoscópica y el 33,4% de regresión histológica. Argumentan que quizás los cortes histológicos podrían subestimar el porcentaje de regresión tumoral. Pero si esto fuera así, y realmente con nuevos cortes se demostrara lo esperado (que la regresión dermatoscópica tuviera su correlato histológico), la prevalencia de regresión histológica sería desproporcionadamente elevada respecto a la que se ha descrito en la literatura que, como se ha señalado en el apartado 5.2.9, oscila entre el 10-35%¹⁰⁰. Por lo tanto, parece más probable una sobreestimación de la regresión dermatoscópica que una infravaloración de la histológica.

Otros estudios que muestran una prevalencia muy elevada de regresión dermatoscópica (85,5-92,9%^{27,127}) no muestran datos sobre la prevalencia de regresión histológica. No obstante, o bien ocurre en ellos lo mismo que en el de *Troya-Martín et al*¹¹⁴ y no hay un correlato histológico a tanta regresión

dermatoscópica, o si lo hay quizás haya habido un sesgo de selección de los melanomas que hace que la prevalencia de regresión histológica sea desproporcionadamente elevada.

Por lo tanto, lo observado en nuestro estudio parece ajustarse mejor a los conocimientos disponibles sobre la regresión dermatoscópica y su correlación con la histopatología, y la frecuencia que nosotros describimos parece más ajustada a la realidad de una muestra representativa y no sesgada de melanomas que la observada en otros trabajos.

De hecho, los valores que nosotros hemos obtenido de sensibilidad (71%), especificidad (75%) y valor predictivo negativo (87%) de la regresión dermatoscópica han sido notablemente elevados (tomando la regresión histológica como *gold-estándar*), si bien el valor predictivo positivo ha sido bastante más bajo (54%). Es de suponer que en los estudios previamente mencionados, en los que se produce esa gran desproporción entre regresión dermatoscópica y regresión histológica, estos valores serán mucho peores, particularmente en lo que a especificidad y valor predictivo positivo se refiere.

Así pues, son necesarios nuevos estudios que confirmen que existe una correspondencia más o menos directa y proporcionada entre la prevalencia de regresión histológica y dermatoscópica.

Para concluir con la discusión acerca de la regresión dermatoscópica, de las otras apariencias que puede adquirir la regresión azul en la dermatoscopia (distintas al *peppering*)²⁷ hemos podido observar *Blue-reticular area* en 3 casos (Figura 5.2) y *Blue-whitish area* en 2 (Figura 5.3). Este último de especial importancia porque debe diferenciarse del velo azul-blanquecino^{21,27}:

- Velo azul-blanquecino: zona sobreelevada/nodular del melanoma que histológicamente muestra acantosis y ortoqueratosis compacta sobre una proliferación tumoral intensamente pigmentada.
- *Blue-whitish area*: zona plana/macular de la lesión que histológicamente corresponde a área de regresión con intensa melanofagia + hiperqueratosis.

Figura 5.2 Melanomas con *Blue-reticular areas* de regresión

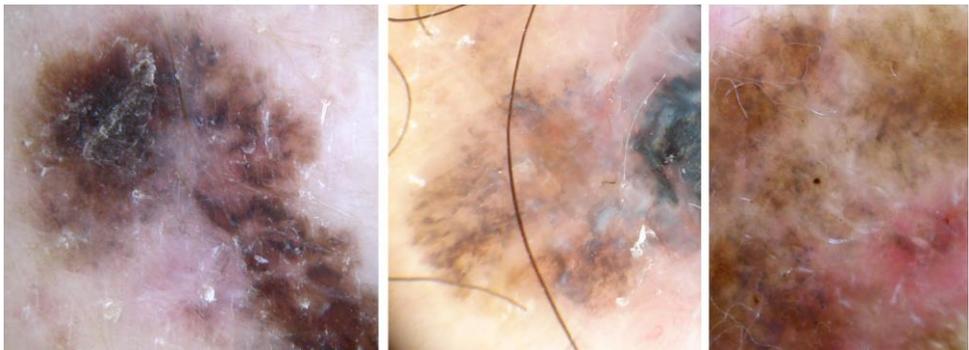
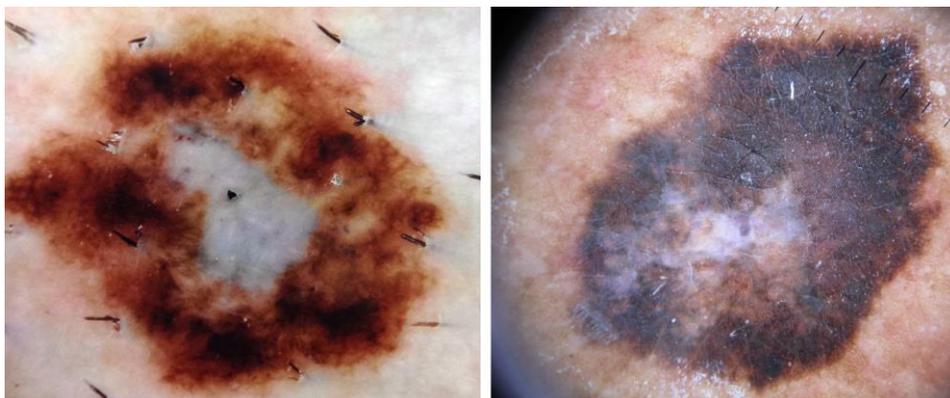


Figura 5.3 Melanomas con *Blue-whitish areas* de regresión



La poca frecuencia con que hemos observado estas características es acorde a la frecuencia global de regresión dermatoscópica observada en nuestro trabajo, si bien contrasta con la altísima frecuencia descrita por *Seidenari et al*²⁷. En su estudio, la prevalencia de *blue-reticular area* en melanomas es del 60,7% y el 20,5% en melanomas in situ e invasores respectivamente; y la de la *blue-whitish area* es del 20% y el 63,5% en melanomas in situ e invasores respectivamente.

De todos modos, las diferencias entre estos otros tipos de regresión azul han sido muy poco exploradas en la literatura, en muchos casos son sutiles y dudosas (como demuestra el hecho de que, en conjunto, los nuevos tipos de regresión azul fueron los parámetros con peor concordancia interobservador de todo nuestro estudio). En consecuencia, lo habitual es que toda la regresión azul se agrupe como una única variable, que además puede a su vez agruparse con la regresión blanca en una única variable general (regresión dermatoscópica).

Las **ÁREAS DE HIPOPIGMENTACIÓN**, definidas como áreas sin estructura de pigmentación menor al resto de la lesión²², tuvieron una prevalencia en nuestro estudio (42,1%) prácticamente idéntica a la descrita en el CNMD (44%)²². Se trata de un parámetro de valoración confusa, con una pobre concordancia interobservador (índice kappa 0,25 en el CNMD²²). Quizás por eso el valor obtenido por *Troya-Martín et al*¹⁴, del 86,7%, es tan dispar con el nuestro y el del CNMD. Además, es un hallazgo inespecífico de escasa utilidad en el diagnóstico de melanoma²², por lo que prácticamente carece de interés. Probablemente este es el motivo por el que muy pocos estudios lo analizan.

5.3.1.2 CONCORDANCIAS Y PARÁMETROS POCO ESTUDIADOS

El resto de estructuras definidas en el CNMD tienen en nuestro estudio una prevalencia similar a la descrita mayoritariamente en la literatura preexistente, como se puede comprobar en la Tabla 5.1: **RETÍCULO PIGMENTADO, PSEUDÓPODOS/PROYECCIONES, VELO AZUL-BLANQUECINO** y las distintas **ESTRUCTURAS VASCULARES**.

El retículo invertido y las crisálidas son estructuras dermatoscópicas menos representadas en estudios dermatoscópicos generales por haber sido definidas con posterioridad al CNMD. Por lo que respecta al **RETÍCULO INVERTIDO**, en nuestro estudio presenta una prevalencia (9,9%) que es superponible a la descrita por *Bombonato et al*⁹¹ (12,8%) y por *Ciudad-Blanco et al*¹¹⁵ (9,5%), si bien inferior al 27% descrito en un estudio realizado *ad hoc*¹²⁸.

Las **CRISÁLIDAS O ESTRUCTURAS BLANCAS BRILLANTES** se observaron en nuestro estudio con una frecuencia del 24,4% de los melanomas, similar a la descrita por *Bombonato et al*^{β1} (37,8%). Además, en un amplio estudio realizado por *Di Stefani et al*⁴² y publicado en 2010 se analizaron dermatoscópicamente 400 melanomas con la intención de determinar la frecuencia de este parámetro dermatoscópico, observándolo en el 31% de los casos, en consonancia con nuestros hallazgos.

La prevalencia de **ULCERACIÓN DERMATOSCÓPICA** que hemos observado (21,1%) es superponible a la observada en otros estudios (25-28%). A su vez, es proporcionada a la prevalencia de ulceración histológica en nuestra muestra (15%), presentando respecto a esta unos valores muy altos de sensibilidad (92%), especificidad (90%) y valor predictivo negativo (98%), aunque con un valor predictivo positivo más limitado (56%).

Estos valores, aunque no han sido analizados en otros trabajos, probablemente serían similares en otros estudios, dado que en todos ellos existe una relación estrecha entre el número de melanomas con ulceración dermatoscópica y con ulceración histológica (casos con ulceración dermatoscópica/casos con ulceración histológica: 19/14 en nuestro estudio, 20/17 en el de *Pozzobon et al*^{β9}, 46/37 en el de *Bombonato et al*^{β1}. *Tejera-Vaquerizo et al*¹²⁶ no ofrecen datos de ulceración histológica).

Como se puede comprobar, en todos ellos el número de casos con ulceración dermatoscópica superaba al de ulceración histológica. Esto plantea 2 posibles explicaciones, no excluyentes entre sí:

- *Falsos positivos en la dermatoscopia*: puede que lo que parece ulceración en la dermatoscopia, no lo sea en la histopatología. Es, probablemente, lo que explique la mayoría de las discordancias dermatoscopia-histología. No existe una definición “oficial” de la ulceración dermatoscópica, ni en el CNMD de 2003 ni en la muy reciente estandarización de la terminología en dermatoscopia de junio de 2016¹³². En esta última, de hecho, mencionan en la discusión que el término “ulceración” no se incluye en el diccionario que elaboran porque es fácilmente comprensible. En la práctica, la presencia de una costra en la lesión se interpreta como ulceración dermatoscópica. Sin embargo, la costra también puede deberse a una herida traumática del melanoma con características histológicas diferenciales de la auténtica ulceración provocada por el crecimiento tumoral⁹⁹, constituyendo un falso positivo de la dermatoscopia. Esto ocurre y lo hemos podido comprobar en nuestros casos. Por ejemplo, en uno de ellos, en los que el clínico señaló que el melanoma estaba ulcerado, el patólogo aclara específicamente que no se observa ulceración, señalando que sí que hay una costra fibrinopurulenta en la superficie de la lesión y adelgazamiento de la epidermis, pero sin solución de continuidad en ningún corte (Figura 5.4 A). En otro caso, en el que se

solicitaron más cortes, de nuevo el patólogo encontró costra superficial y adelgazamiento epidérmico, pero sin solución de continuidad (Fig. 5.4 B y C).

- *Falsos negativos en la histología*: podría ser que la dermatoscopia fuera capaz de detectar pequeñas ulceraciones que histológicamente no se habrían observado porque habrían quedado fuera de los cortes estudiados. Esto tendría una importante repercusión ya que de ser así, sería fundamental que el dermatólogo notificara siempre al patólogo la presencia de ulceración dermatoscópica, para que este la buscara insistentemente en el estudio histológico, solicitando más cortes si fuera necesario. Tendría una gran relevancia, ya que la presencia o ausencia de ulceración tiene una repercusión directa y fundamental en la correcta estadificación del melanoma. No hemos podido confirmar esta posibilidad, pero parece razonable y creemos que debería ser objeto de estudio en el futuro.

Por su parte, la sensibilidad y el valor predictivo negativo de la ulceración dermatoscópica son muy altos a la luz de los datos obtenidos en nuestro estudio. Tan solo un melanoma con ulceración histológica escapó a la detección mediante dermatoscopia. Fue el único falso negativo de la dermatoscopia. Revisando la imagen dermatoscópica *a posteriori*, sí que observamos un área que podría corresponder a la pequeña ulceración focal observada en la histología (Figura 5.5).

Figura 5.4 Melanomas con supuesta ulceración dermatoscópica no demostrada en histología

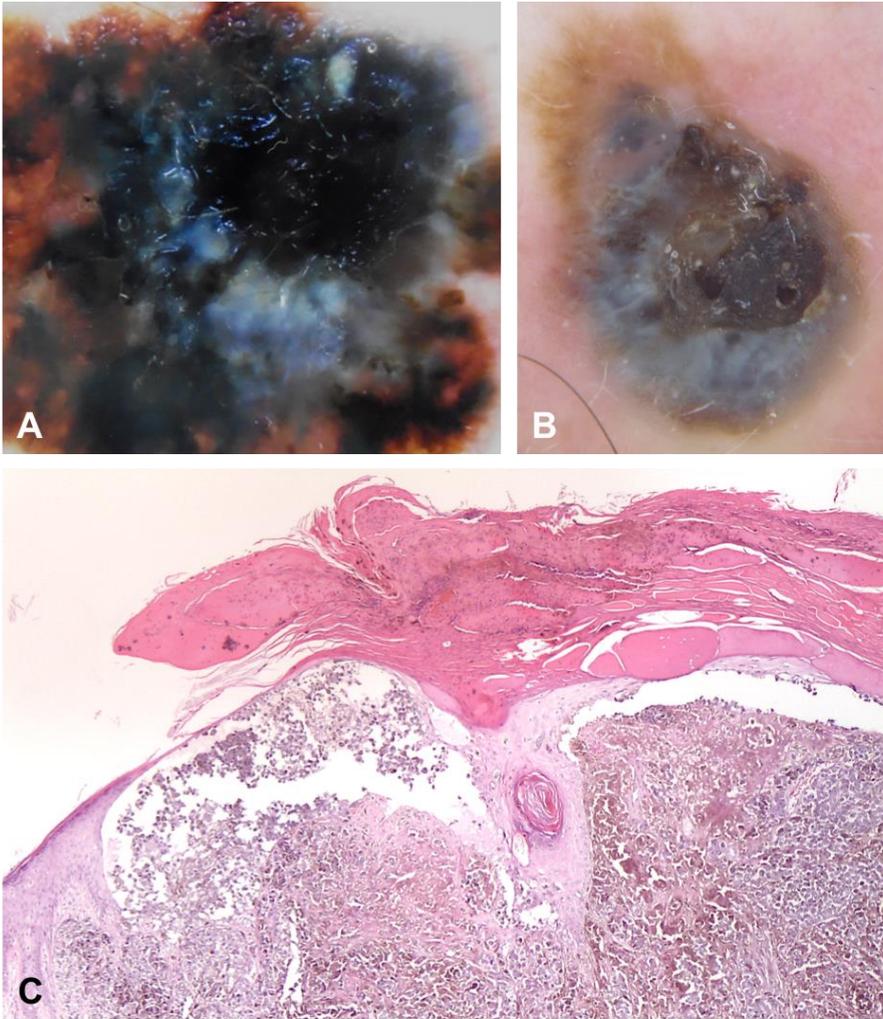
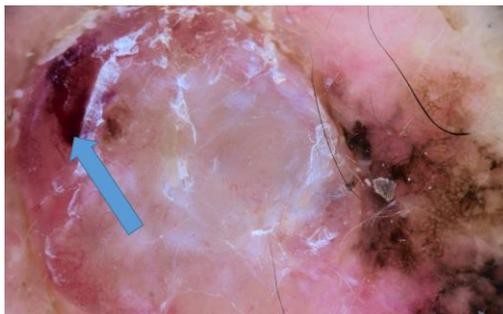


Figura 5.5 Melanoma con ulceración histológica no detectada en dermatoscopia. La flecha señala el área que posiblemente corresponda a la ulceración



En cuanto a las **ESTRUCTURAS EXOFÍTICAS PAPILOMATOSAS**, no hemos encontrado estudios previos que valoren como tal su prevalencia en una serie de melanomas. En nuestra muestra las presentaban 3 melanomas (3,3%) (Figura 5.6). En pocas publicaciones podemos encontrar mención a este hallazgo, y lo hacen de forma sucinta y general, señalando su rareza en melanomas^{21,131}. De todos modos este es un parámetro no incluido como tal ni en el CNMD de 2003²² ni en la reciente estandarización de la terminología en dermatoscopia¹³². Es un concepto que, de hecho, se superpone directamente con otra característica dermatoscópica más descrita: las FISURAS Y CRIPTAS. Estas no son más que los espacios crateriformes (criptas o tapones córneos de morfología irregular – *comedo-like openings irregularly shaped*–²²) o hendiduras ramificadas (fisuras) que se observan en el cuerpo tumoral, delimitando precisamente las estructuras exofíticas papilomatosas, habitualmente en nevus y queratosis seborreicas²¹. Por lo tanto, podríamos considerar todas estas características dermatoscópicas como superpuestas entre sí.

Teniendo todo esto presente (presencia de *estructuras exofíticas papilomatosas, fisuras, criptas o superficie papilomatosa* en general), encontramos este tipo de hallazgos dermatoscópicos descritos fundamentalmente en melanomas nevoides¹³³ y en melanomas verrucosos o queratosis seborreica-*like*^{134,135}.

Por lo que respecta a los melanomas nevoides, un reciente estudio sobre este tipo de melanoma encontró que el 48% de ellos mostraba superficie

papilomatosa y simulaban nevus intradérmicos a la inspección clínica y dermatoscópica¹³³. Uno de los 3 melanomas de nuestro estudio con estructuras exofíticas papilomatosas mostraba este aspecto y, efectivamente, histológicamente correspondía a un melanoma nevoide (Figura 5.6, imagen superior izquierda).

Por su parte, los melanomas queratosis seborreica-*like*, una variante extraordinariamente rara¹³⁶, pueden mostrar pseudoquistes de millium, tapones córneos y/o una superficie papilomatosa y queratósica (verrucosa)^{134,135}, con la que se corresponde otro de nuestros casos (Figura 5.6, las 2 imágenes inferiores). De hecho, el diagnóstico diferencial que se planteaba el dermatólogo que extirpó la lesión era entre queratosis seborreica y melanoma. Detrás de este aspecto clínico-dermatoscópico puede subyacer cualquiera de los tipos histológicos clásicos de melanoma¹³⁶; en nuestro caso correspondía a un melanoma nodular cuya histología combinaba celularidad epitelioides y nevoide.

Finalmente, el tercero de nuestros casos era un melanoma de extensión superficial que mostraba un área sobrelevada en la que podíamos observar varias estructuras exofíticas papilomatosas delimitadas entre sí por fisuras (Figura 5.6, imagen superior derecha).

Figura 5.6 Melanomas con estructuras exofíticas papilomatosas / fisuras



5.3.2 ANÁLISIS COMPARATIVO DE LAS CARACTERÍSTICAS DERMATOSCÓPICAS DE MELANOMAS BRAF-MUTADOS FRENTE A MELANOMAS *WILD-TYPE*

Los melanomas con BRAF-mutado mostraron proyecciones (pseudópodos o proyecciones radiales), velo azul-blanquecino y estructuras exofíticas papilomatosas con mayor frecuencia que los *wild-type*. El resto de parámetros dermatoscópicos no mostraron diferencias significativas entre ambos grupos.

5.3.2.1 PROYECCIONES

En lo que se refiere a las proyecciones (pseudópodos y proyecciones radiales), en nuestro estudio un 48,5% de los melanomas BRAF-mutados las presentaban (Figura 5.7), frente a solo un 24% de los *wild-type* ($p=0,034$). Aunque en el análisis multivariante pierde significación, este hallazgo es acorde con lo recientemente descrito por *Bombonato et al*⁹¹. En su estudio, el 25,4% de los melanomas BRAF-mutados los presentaba (18/71), frente a un 10,9% de los *wild-type* (11/101), siendo también estadísticamente significativo y manteniendo además esta significación en el análisis multivariante (OR 2,66; $p=0,03$). Ni el estudio de *Pozzobon et al*³⁹ ni el de *Fargnoli et al*⁴⁰ encuentran asociación estadísticamente significativa, aunque cabe señalar que en el segundo sí que se observan proyecciones con mayor frecuencia en los BRAF-mutados (52,2%) que en los *wild-type* (32,1%) ($p=0,148$), y hay que recordar que los casos de *Pozzobon et al*³⁹ están incluidos en el de *Bombonato et al*⁹¹.

Figura 5.7 Ejemplos de melanomas BRAF-mutados con proyecciones



Las proyecciones corresponden histológicamente a nidos elongados de células tumorales, dispuestos como túbulos paralelos a la superficie de la piel, ubicados en la periferia de la lesión^{21,137,138}. Se consideran un signo de proliferación y crecimiento tumoral⁹¹, concretamente crecimiento superficial (radial)²⁴ relativamente rápido⁹¹.

En 2004 *Loewe et al*¹³⁹ describieron una mayor prevalencia de mutaciones en BRAF en lesiones melanocíticas dermatoscópicamente inestables (correspondientes a lesiones en seguimiento con dermatoscopia digital, con un periodo de seguimiento medio de 12 meses). Así, hallaron que la probabilidad de encontrar BRAF mutado era 7 veces mayor en aquellas lesiones que mostraron cambios estructurales, y 13 veces mayor en aquellas que mostraban crecimiento activo, incluso tratándose de nevus melanocíticos benignos. De hecho, incluyen precisamente una imagen dermatoscópica de un melanoma con proyecciones como ejemplo de lesión en crecimiento con BRAF mutado.

Posteriormente, *Zalaudek et al*¹⁴⁰ publicaron en 2011 un interesante artículo que estudiaba la prevalencia de mutación BRAF en distintos patrones dermatoscópicos de nevus melanocíticos benignos. En él se comprobó que había una mayor frecuencia de mutaciones en los nevus con patrón dermatoscópico globular (G) o patrón mixto con glóbulos en periferia (MP), en comparación con los nevus con patrón dermatoscópico reticular (R) o mixto con glóbulos centrales o área homogénea central (MC).

Previamente, *Kittler et al*¹⁴¹ habían demostrado que el patrón MP corresponde a nevus en crecimiento (en crecimiento básicamente radial, ya que lo que aumenta fundamentalmente es su diámetro). Estos nevus se agrandan simétricamente mientras desarrollan progresivamente un retículo central o un área marrón sin estructura. Finalmente desaparecen los glóbulos periféricos indicando que el crecimiento activo ha cesado. Al finalizar ese crecimiento, los nevus presentan un patrón dermatoscópico reticulado (R) o mixto con glóbulos centrales o área homogénea central (MC). De este modo, en adultos los nevus muestran principalmente el patrón R y el patrón MC, mientras que en niños y adolescentes predominan el patrón G y MP¹⁴².

Por lo tanto, los nevus melanocíticos en crecimiento (radial) activo, que en la dermatoscopia muestran glóbulos en la periferia¹⁴¹, presentan mutaciones en BRAF con mayor frecuencia que los nevus estables¹⁴⁰, en consonancia con lo descrito por *Loewe et al*¹³⁹.

Teniendo en cuenta esto, no sorprende hallar una mayor frecuencia de proyecciones, que son un signo dermatoscópico de crecimiento radial activo^{24,91}, en los melanomas con BRAF-mutado.

En 2014 apareció publicado un artículo en el que se planteaba una posible correlación entre un patrón dermatoscópico que denominaron *Dark Homogeneous Streak Pattern* con mutaciones en el gen KIT¹⁴³. Fue, de hecho, el

primer artículo publicado en plantear la posibilidad de que distintas mutaciones podían condicionar distintos patrones de crecimiento tumoral que podrían identificarse mediante dermatoscopia. Este patrón correspondía a lesiones que mostraban en dermatoscopia extensas áreas homogéneas oscuras (hiperpigmentadas) con proyecciones en la periferia. La hiperpigmentación, además, ya había sido descrita previamente en la literatura como una característica de los melanomas KIT-mutados¹⁴⁴.

Podría parecer que la asociación de este patrón dermatoscópico con KIT-mutado entraría en contradicción con la asociación que tanto *Bombonato et al*⁹¹ como nosotros hemos observado entre las proyecciones y las mutaciones en BRAF. Sin embargo hay que tener en cuenta algunas consideraciones al respecto.

En primer lugar, tanto nosotros como *Bombonato et al*⁹¹ valoramos la presencia o ausencia de proyecciones en la dermatoscopia, no un patrón concreto compuesto por una lesión que es homogénea hiperpigmentada con (numerosas) proyecciones en sus márgenes.

En segundo lugar, hay que tener presentes las limitaciones del estudio que sugirió la correlación entre mutación en KIT y el *Dark Homogeneous Streak Pattern*. En dicho estudio seleccionan únicamente 3 melanomas que comparten este aspecto dermatoscópico. A esos 3 melanomas les hacen estudio genético y obtienen que los 3 tienen mutación en KIT. En base a este hallazgo sugieren que

existe una correlación entre dicha mutación y el patrón dermatoscópico observado. No obstante, esta sugerencia se basa en lo observado en esos 3 únicos melanomas, sin ningún análisis comparativo que proporcione solidez estadística a la posible asociación. De momento ninguna otra publicación ha reproducido estos resultados.

Es importante destacar, además, que 2 de los 3 melanomas pertenecían a un mismo paciente, por lo que no podría descartarse que la similitud del patrón dermatoscópico tuviera más relación con la posible mutación de línea germinal que pueda tener el paciente (en algún gen de susceptibilidad a múltiples melanomas) que con la mutación en KIT detectada. En este sentido, en un reciente estudio realizado en pacientes con múltiples melanomas primarios se observó que en los portadores de mutación en CDKN2A (que se relaciona con el desarrollo de múltiples melanomas primarios y melanoma familiar), cada paciente mostró un patrón dermatoscópico similar y específico en sus lesiones¹⁴⁵. Sabemos por otro estudio que las mutaciones adicionales que llevan a la aparición de cada uno de los melanomas que desarrollan este tipo de pacientes no suelen ser las mismas, de forma que solo en un 24% de los casos coincide el gen mutado entre 2 melanomas primarios¹⁴⁶, por lo que la similitud dermatoscópica observada entre los melanomas de un mismo paciente con múltiples melanomas¹⁴⁵ es más probable que se deba a la mutación en línea germinal (que es la misma) que a las mutaciones posteriores (que son

habitualmente distintas¹⁴⁶). Esto podría restar valor a la correlación sugerida entre mutación en KIT y el *Dark Homogeneous Streak Pattern* puesto que 2 de los 3 melanomas analizados pertenecían a un mismo paciente: no se puede descartar que la similitud dermatoscópica entre esos 2 melanomas se deba a la mutación en línea germinal que tenga dicho paciente y no a la mutación posterior en KIT.

Finalmente, es todavía más relevante la existencia de varios datos en la literatura que van en contra de la posible asociación de las proyecciones con KIT-mutado:

- Por una parte, se sabe que las mutaciones en KIT son frecuentes en melanomas de piel con daño solar crónico (28%), mientras que son extremadamente raras o inexistentes en melanomas de piel sin daño solar crónico (0%)¹⁴⁷. Pues bien, se ha observado que precisamente en los melanomas de piel con daño solar crónico (en los que es más frecuente encontrar KIT mutado¹⁴⁷) las proyecciones son la estructura dermatoscópica más infrecuente (solo presente en un 0,5%)¹⁴⁸.
- Por otra parte, también se sabe que las mutaciones en KIT se relacionan con un crecimiento tumoral especialmente lento⁵⁷, mientras que las proyecciones reflejan un crecimiento activo y relativamente rápido^{24,91}. Además, los melanomas en los que es más frecuente la mutación de KIT se caracterizan histológicamente por un crecimiento lentiginoso, con melanocitos aislados sin tendencia a formar nidos⁵⁶, mientras que las

proyecciones corresponden precisamente a células tumorales agrupadas formando nidos elongados ubicados en la periferia de la lesión^{21,137,138}.

Con todo, parece improbable que las proyecciones se correlacionen precisamente con mutaciones en KIT, mientras que sí que parece razonable que se correlacionen con BRAF ya que concuerda con lo que se conoce sobre el patrón de crecimiento de los tumores que tienen mutado este gen.

5.3.2.2 VELO AZUL-BLANQUECINO

Un 72,7% de los melanomas BRAF-mutados presentaba velo azul-blanquecino en nuestro estudio (Figura 5.8), frente a un 38,2% de los melanomas *wild-type*, una diferencia muy llamativa que es estadísticamente significativa tanto en el análisis univariante ($p=0,002$) como en el multivariante ($p=0,003$).

Sorprendentemente, *Bombonato et al*⁹¹ no incluyen el velo azul-blanquecino entre las características dermatoscópicas que someten a análisis estadístico comparativo, por lo que desafortunadamente no es posible comparar nuestro hallazgo con el principal estudio similar previo. Sin embargo, en el de *Fargnoli et al*⁴⁰ sí que se observa una tendencia a una mayor frecuencia de velo azul-blanquecino en melanomas BRAF-mutados (30,4%) frente a los *wild-type* (10,7%) ($p=0,078$), y en el de *Pozzobon et al*³⁹ también es algo más frecuente el velo azul-blanquecino en los BRAF-mutados (64%) que en los *wild-type* (52%), aunque no se puede hablar ni siquiera de tendencia ($p=0,740$).

Figura 5.8 Ejemplos de melanomas BRAF-mutados con velo azul-blanquecino



El velo azul-blanquecino se define como un área irregular, sin estructura, de pigmentación azulada, recubierta por un velo blanquecino que le confiere un aspecto en vidrio esmerilado y que no ocupa toda la lesión²². Su correlato histológico es una epidermis acantósica con ortoqueratosis compacta sobre un área de dermis superficial cargada de melanina¹³¹. Más concretamente, este parámetro dermatoscópico, que se ubica en una zona elevada del tumor, corresponde a grandes nidos confluentes de células tumorales intensamente pigmentadas en dermis superficial, que aparecen *velados* por un engrosamiento epidérmico suprayacente (acantosis, ortoqueratosis compacta e hipergranulosis más o menos pronunciadas)^{21,138}.

Hay que recordar que si lo que hay en dermis es un denso agregado de melanófagos (en lugar de una proliferación tumoral), la imagen dermatoscópica se parece, por el aspecto velado azul-blanquecino, pero se sitúa en una zona aplanada de la lesión y corresponde al *Blue-whitish area*, signo de regresión²⁷. Esta diferenciación, a veces sutil, no estaba bien establecida cuando se realizó el CNMD²², lo que podría explicar la pobre concordancia interobservador que tenía este parámetro en dicho trabajo²¹. En trabajos recientes se intenta ya diferenciarlos mejor usando distintos términos, como por ejemplo *velo azul blanquecino sobre área elevada* en contraste con *velo azul blanquecino sobre área macular*¹³⁰. Desafortunadamente, en la reciente estandarización de la terminología en dermatoscopia no queda especificada la forma de diferenciar

terminológicamente estos dos parámetros¹³². Para evitar confusiones, nosotros hemos preferido llamar *velo azul-blanquecino* a aquello que clásicamente se entiende como tal, esto es, el que se observa en un área elevada correspondiente a proliferación tumoral, y *Blue-whitish area* (área azul-blanquecina) a lo que corresponde a una zona macular de regresión tumoral. El hecho es que, una vez claro el concepto de velo azul-blanquecino, este parámetro es muy específico y por lo tanto muy útil en el diagnóstico de melanoma²¹ y de hecho es la característica dermatoscópica más conocida por los dermatólogos¹³².

Si tenemos presente su correlato histológico (*i.e.* grandes nidos de células tumorales intensamente pigmentadas en dermis superficial bajo una epidermis engrosada que produce el efecto de *velado*²¹), la mayor frecuencia de esta característica dermatoscópica en los melanomas con BRAF-mutado observada en nuestro trabajo está en llamativa consonancia con lo descrito por *Viros et al*⁹⁷. En su estudio encuentran que los melanomas BRAF-mutados muestran mayor tendencia a formar nidos tumorales, de células más pigmentadas, y con una epidermis más engrosada que los melanomas *wild-type*, de forma estadísticamente significativa. Estas características histomorfológicas diferenciales fueron confirmadas posteriormente por *Broekaert et al*⁹². No sorprende, por lo tanto, que el velo-azul blanquecino sea también más frecuente en estos melanomas.

5.3.2.3 ESTRUCTURAS EXOFÍTICAS PAPILOMATOSAS

Un 8,8% de los melanomas BRAF-mutados mostraron estructuras exofíticas papilomatosas, frente a un 0% de los melanomas *wild-type*, diferencia significativa en el análisis univariante ($p=0,048$), aunque no en el multivariante.

Realmente fueron solamente 3 los casos que las presentaron ([Figura 5.6](#)), como se ha señalado anteriormente, y justamente los 3 casos tenían mutación en BRAF. No existen estudios previos con los que comparar este hallazgo y, dado el escaso número, la coincidencia mutacional podría deberse simplemente al azar.

No obstante, existe algún dato en la literatura que podría apoyar este hallazgo.

Prácticamente ningún estudio sobre BRAF refiere el dato sobre la papilomatosis (histológica y/o clínica) de las lesiones analizadas. Sin embargo, existe un artículo de 2003 sobre la frecuencia de estas mutaciones en distintas lesiones melanocíticas en la que los nevos benignos se desglosan en varios tipos, entre ellos el tipo papilomatoso, y en él encuentran que estos nevos papilomatosos son los que con mayor frecuencia muestran mutaciones en BRAF, más que cualquier otro tipo de nevos benigno¹⁴⁹. De confirmarse, esto estaría en consonancia con lo observado en nuestro estudio. Desafortunadamente, la papilomatosis no fue uno de los parámetros histomorfológicos analizados por *Viros et al*⁹⁷ ni por *Broekaert et al*⁹², y otros estudios sobre histología y BRAF solo analizan aquellas características habitualmente recogidas en los informes sobre melanoma, lo cual no incluye la papilomatosis. Harían falta nuevos estudios que

confirmaran o refutaran la posible mayor frecuencia de BRAF-mutado en lesiones melanocíticas con papilomatosis.

5.3.2.4 PARÁMETROS QUE SE HAN CORRELACIONADO CON BRAF EN OTROS TRABAJOS PERO NO EN EL NUESTRO

La **ULCERACIÓN DERMATOSCÓPICA** se correlacionó con BRAF-mutado en el trabajo de *Bombonato et al*³¹, y también en el de *Pozzobon et al*³⁹ una vez excluían los melanomas acrales y faciales. Sin embargo en nuestro estudio no se observaron diferencias, siendo la frecuencia de ulceración dermatoscópica prácticamente la misma en los BRAF-mutados (20,6%) que en los *wild-type* (21,4%).

Como *Fargnoli et al*⁴⁰ no incluyen datos al respecto y los casos de *Pozzobon et al*³⁹ están incluidos en el estudio de *Bombonato et al*³¹, nos centraremos en este último. En su trabajo ellos encuentran que 28/71 (39,4%) de los BRAF-mutados y 18/101 (17,8%) de los *wild-type* muestran ulceración dermatoscópica, diferencia que es estadísticamente significativa incluso después del análisis multivariante.

Como se ha explicado anteriormente (*apartado 5.3.1.2*), la ulceración dermatoscópica está, por su naturaleza, en íntima relación con la ulceración histológica, ya que la correspondencia histológica en este caso es directa y, aunque en un mismo trabajo la ulceración dermatoscópica suele ser algo más prevalente que la histológica, la diferencia es muy pequeña y corresponde a lo

que podríamos llamar *falsos positivos* de la dermatoscopia. En consonancia con esto, tanto en el estudio de *Bombonato et al*⁹¹ como en el de *Pozzobon et al*³⁹ encuentran que la ulceración histológica también se asocia con BRAF-mutado, una relación que tiene en la literatura observaciones contradictorias pero que ha sido finalmente descartada en el metaanálisis de 2015⁷¹.

Llama la atención que los estudios que establecen que la ulceración es más frecuente en los melanomas BRAF-mutados, también muestran una diferencia significativa en el espesor de Breslow (mayor espesor en los mutados). Sin embargo, esta diferencia de espesor también ha sido descartada en el metaanálisis de 2015⁷¹. De hecho en el metaanálisis anterior, de 2011⁷⁰, los melanomas BRAF-mutados incluso eran significativamente más delgados.

Se debe tener presente que los melanomas gruesos muestran ulceración con mayor frecuencia que los delgados^{150,151}, por lo que si en un determinado estudio el espesor de Breslow es significativamente mayor en el grupo de melanomas BRAF-mutados, no es de extrañar que la frecuencia de ulceración también lo sea. Pero cuando esto ocurre, parece más probable que la ulceración tenga más que ver con lo avanzado que ya está el melanoma que con la mutación en cuestión.

Parece, por tanto, que únicamente podríamos afirmar con confianza que las mutaciones en BRAF condicionan una mayor tendencia a la ulceración si se demostrara que para un mismo espesor medio de Breslow, los melanomas BRAF-

mutados tienen ulceración con mayor frecuencia que los *wild-type*, ya que sería una diferencia no esperable por el grosor tumoral y por tanto atribuible a aquello que diferencia los grupos: el estado mutacional. Pero esto no ocurre en ningún estudio.

Así pues, cabe preguntarse por qué en estudios como el de *Bombonato et al*⁹¹ se observan esas diferencias significativas en cuanto a la ulceración (tanto dermatoscópica como histológica) y en cuanto al espesor de Breslow. Los propios autores reconocen que una posible limitación de su estudio es que determinan el estado de BRAF principalmente en melanomas avanzados con finalidad terapéutica, lo cual puede afectar a las características dermatoscópicas observadas ya que cuanto más avanzado es un melanoma, más florida es la dermatoscopia y más frecuente la ulceración, que puede enmascarar otras características dermatoscópicas⁹¹. Se ha descrito, además, que las mutaciones en BRAF son más frecuentes en melanomas de rápido crecimiento (aquellos que aumentan de espesor a un ritmo de $\geq 0,5\text{mm/mes}$, alcanzando rápidamente un espesor elevado)^{82,123}. La posible mayor proporción de melanomas de rápido crecimiento en el grupo BRAF-mutado (respecto al grupo *wild-type*), en combinación con el sesgo de selección cometido (consistente en realizar análisis molecular únicamente en melanomas avanzados), podría haber condicionado de alguna manera que en el estudio de *Bombonato et al*⁹¹ el espesor de Breslow medio y la frecuencia de ulceración (histológica y dermatoscópica) fueran

mayores en el grupo BRAF-mutado que en el *wild-type*. En cualquier caso, el hecho es que, como se ha indicado, en los metaanálisis realizados al respecto no se observa esta mayor frecuencia de ulceración ni mayor espesor de Breslow medio en los melanomas BRAF-mutados respecto a los *wild-type*^{70,71}.

En conclusión, la ausencia de correlación observada en nuestro trabajo entre la ulceración dermatoscópica (e histológica) y el estado mutacional de BRAF, es más acorde con lo descrito hasta el momento en la literatura (incluyendo el más reciente metaanálisis), que la diferencia observada en el estudio de *Bombonato et al*⁹¹, que podría deberse a un sesgo de selección.

Por lo que respecta al **PEPPERING**, fue un parámetro significativamente más frecuente en los melanomas BRAF-mutados en el estudio de *Pozzobon et al*³⁹, pero nosotros no hemos observado diferencias. De hecho la diferencia que ellos observaron parece descartada por el estudio de *Bombonato et al*⁹¹ que incluía sus casos y que, como nosotros, tampoco encontró correlación. Además, la ausencia de asociación entre regresión dermatoscópica y mutaciones en BRAF está en consonancia con la ausencia de asociación existente entre regresión histológica y mutaciones en BRAF, observada tanto en nuestro estudio como en la literatura^{95,96}, tal como se ha explicado en el *apartado 5.2.9*.

En el estudio de *Bombonato et al*⁹¹ encontraron también una asociación inversa entre la presencia de **VASOS PUNTIFORMES** y presencia de mutación en BRAF,

constituyendo un predictor negativo de BRAF-mutado, siendo una característica significativamente más frecuente en los *wild-type*⁹¹. Nosotros, sin embargo, no hemos encontrado diferencias significativas. Los vasos puntiformes suelen observarse en áreas hipomelanóticas o amelanóticas de melanomas delgados²⁸. Quizás el predominio de melanomas gruesos en el grupo BRAF-mutado podría haber condicionado la diferencia observada respecto a los vasos puntiformes en el estudio de *Bombonato et al*⁹¹, como ocurría con la ulceración.

Para acabar, de los parámetros dermatoscópicos que no mostraron diferencias significativas, el **RETÍCULO PIGMENTADO** fue el que mayor diferencia mostró entre los grupos, acercándose a la significación estadística pero sin alcanzarla. Así, en nuestro trabajo el retículo pigmentado fue menos frecuente en los melanomas BRAF-mutados (55,9%) que en los *wild-type* (75,9%); $p=0,06$ (OR 0,4; IC 95% 0,1–1,1).

Esto estaría en consonancia con lo descrito por *Zalaudek et al*¹⁴⁰ en su estudio sobre dermatoscopia de nevus y mutaciones en BRAF, en el que los nevus de patrón reticular mostraban BRAF-mutado con una frecuencia significativamente menor que otros.

Sin embargo, en los estudios realizados hasta el momento actual sobre correlación entre BRAF-mutado y dermatoscopia del melanoma no se han encontrado diferencias significativas. Desafortunadamente, el más amplio de

ellos, el de *Bombonato et al*³¹, no muestra datos respecto al retículo pigmentado, por lo que no podemos comparar nuestros resultados ni sabemos si en su muestra también hubo alguna diferencia al respecto, aunque no fuera significativa. Tanto en el de *Fargnoli et al*⁴⁰ como en el de *Pozzobon et al*³⁹ las diferencias fueron muy pequeñas y no significativas, aunque es cierto que la frecuencia de retículo en los BRAF-mutados se situó en ambos trabajos por debajo de la frecuencia en los *wild-type* (78,3% vs. 85,7% en el de *Fargnoli*⁴⁰ y 75% vs. 80% en el de *Pozzobon*³⁹). Por lo tanto, serían necesarios nuevos estudios que confirmaran o descartaran la posible correlación inversa existente entre la presencia de retículo pigmentado y BRAF-mutado.

En cualquier caso, para entender la posible menor frecuencia de retículo pigmentado en las lesiones melanocíticas con BRAF-mutado conviene recordar su correlato histológico. El uso de la microscopía confocal de reflectancia (RCM por sus siglas en inglés) ha aclarado con mayor precisión la correlación dermatoscopia-histopatología¹⁵². En los estudios que utilizan esta técnica se ha visto que el retículo pigmentado corresponde en RCM a áreas oscuras (más o menos redondeadas/ovaladas) correspondientes a papilas dérmicas (*que dermatoscópicamente constituyen los agujeros de la red de pigmento*), rodeados por anillos regulares de células brillantes/reflectantes (*retículo típico*) o engrosamientos irregulares de los espacios interpapilares con presencia de células brillantes/reflectantes (*retículo atípico*) que conforman la cuadrícula del

retículo pigmentado en la dermatoscopia. Histológicamente, las células reflectantes que constituyen la cuadrícula del retículo corresponden a queratinocitos basales pigmentados y a un aumento del número de melanocitos en la capa basal, con un crecimiento lentiginoso y formación ocasional de nidos en la unión dermo-epidérmica¹⁵².

En sus estudios sobre correlación BRAF-histomorfología, tanto *Viros et al*⁹⁷ como *Broekaert et al*⁹² encontraron que este patrón de crecimiento (en el que predomina el aumento del número de melanocitos basales individuales sobre la formación de nidos) fue significativamente menos frecuente en los melanomas BRAF-mutados que en los *wild-type*. Así pues, de confirmarse, la menor frecuencia de retículo pigmentado en los melanomas BRAF-mutados estaría en consonancia con lo descrito por estos autores, y de nuevo esto corroboraría la influencia que tiene una distinta base genética en el patrón de crecimiento de los melanomas.

5.3.2.5 RESUMEN DEL ANÁLISIS COMPARATIVO DE LAS CARACTERÍSTICAS DERMATOSCÓPICAS

Los melanomas BRAF-mutados mostraron en nuestro estudio una mayor frecuencia de velo azul-blanquecino, proyecciones y, de forma menos significativa por el escaso número de casos, estructuras exofíticas papilomatosas en el análisis univariante. Todo ello es consistente con los conocimientos que tenemos sobre la histología y el comportamiento biológico de estos melanomas,

como se ha expuesto detalladamente. En el análisis multivariante, solo el velo azul-blanquecino se mantiene como parámetro dermatoscópico fuertemente asociado a mutación en BRAF, constituyendo un claro predictor positivo (OR 4,33; $p=0,003$).

Puesto que en nuestro trabajo los dos grupos de melanomas (BRAF-mutados y *wild-type*) son equivalentes entre sí en las principales características histológicas que modifican la dermatoscopia (espesor de Breslow, ulceración y regresión), las diferencias dermatoscópicas observadas se pueden atribuir al distinto estado mutacional con mayor fiabilidad que en los estudios previos (*Pozzobon et al*³⁹ y *Bombonato et al*⁹¹).

La correlación observada en dichos estudios (pero no por nosotros) entre algunos parámetros dermatoscópicos (ulceración, *peppering* y vasos puntiformes) y el estado mutacional de BRAF, podría deberse, al menos en parte, a un sesgo de selección (casos más avanzados⁹¹ o con una prevalencia de regresión muy elevada³⁹) que no se habría producido en el nuestro.

5.4 PREDICCIÓN DEL ESTADO MUTACIONAL DE BRAF

Se han elaborado modelos estadísticos predictivos del estado mutacional de BRAF que se fundamentan en los parámetros que mantienen significación estadística en el análisis multivariante: la edad del paciente y el velo azul-blanquecino.

Según los resultados obtenidos, conforme aumenta la edad de los pacientes disminuye la probabilidad de presentar mutación en BRAF. Así, la probabilidad de presentar BRAF-mutado disminuye un 4% por cada aumento de un año de la edad del paciente.

En cambio, la probabilidad de presentar BRAF-mutado es 4 veces mayor en los melanomas que presentan velo azul-blanquecino en la dermatoscopia con respecto a los que no la presentan.

El modelo estimado de regresión logística múltiple constituye una fórmula matemática (ver *Resultados, apartado 4.2.2*) con la que podemos predecir la probabilidad de que un paciente presente el estado de mutación BRAF a partir de su edad y la presencia o ausencia de velo azul-blanquecino.

Si se introduce dicha fórmula en una hoja de cálculo, se puede obtener de forma rápida y sencilla el cálculo de esa probabilidad a partir de estos parámetros.

En la [Figura 5.9](#) se muestra una captura de pantalla de esa hoja de cálculo, a la que se puede acceder a través del siguiente enlace:

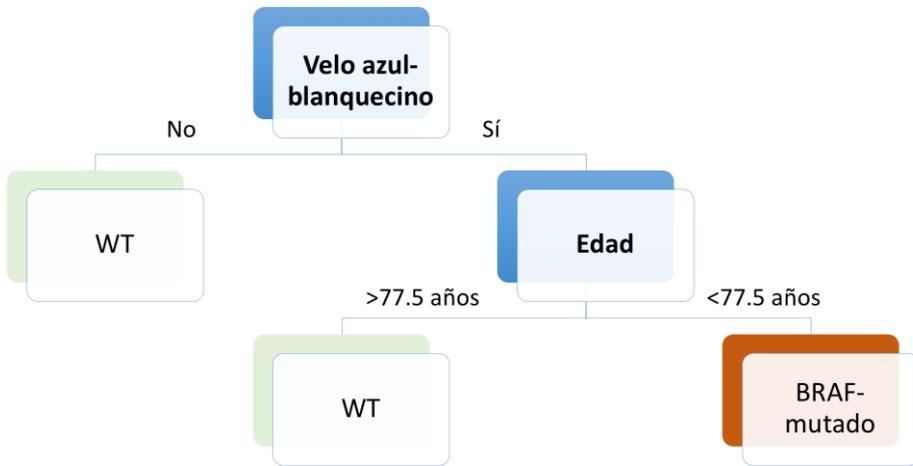
<https://goo.gl/bnnpSK>

Figura 5.9 Hoja de cálculo basada en el modelo de regresión logística múltiple

A	B	C	D	E	F
Edad del paciente :		26			
Velo azul-blanquecino		1			
1 = presente / 0 = ausente					
La probabilidad de que el melanoma presente BRAf mutado es:					81,39%
Rellenar únicamente los campos en amarillo. NO MODIFICAR EL CONTENIDO DE LA CELDA ROJA					

Por otra parte, se ha construido un árbol de clasificación ([Figura 4.4](#)) siguiendo el ejemplo de *Viros et al*⁹⁷ y *Broekaert et al*⁹². Este árbol se basa en la presencia o ausencia de velo azul-blanquecino y en la edad superior o inferior a 77,5 años. El indicador más importante de la mutación BRAf es la presencia de velo azul-blanquecino, que constituye la primera ramificación del árbol. En la [Figura 5.10](#) se muestra una adaptación visual de este modelo:

Figura 5.10 Modelo predictivo del estado mutacional de BRAF: árbol de clasificación



WT= BRAF no mutado (wild-type)

La precisión de los modelos predictivos que hemos obtenido se sitúa en torno al 70% (es decir, son capaces de clasificar correctamente al 70% de los melanomas). Esta precisión es similar a la del 76% que tiene el árbol mostrado en el artículo de *Viros et al*⁹⁷, y superior a las precisiones de entre 59,3% y 61,9% de los árboles de clasificación obtenidos en el estudio de *Broekaert et al*⁹². Pero nuestros modelos presentan una importante ventaja en comparación a los de estos estudios previos: las características dermatoscópicas y la edad son datos fácilmente obtenidos por cualquier dermatólogo en su práctica clínica. Por el contrario, para utilizar los modelos de *Viros et al*⁹⁷ y *Broekaert et al*⁹² se requiere una revisión minuciosa de la anatomía patológica realizada por un patólogo

experto que identifique adecuadamente los datos histomorfológicos que ellos analizan (y que no se registran de forma rutinaria en los informes histológicos).

Además de estos estudios, un trabajo muy reciente elabora también distintos modelos predictivos en base a los datos disponibles sobre edad, localización, estadio en el momento del diagnóstico, tipo histológico y espesor tumoral¹⁵³. Obtienen una precisión en sus modelos similar a la obtenida por nosotros, que oscila entre el 65-71%.

De todos modos, con estos niveles de precisión no parece que los modelos estadísticos predictivos puedan sustituir de momento al análisis mediante técnicas moleculares: el riesgo de clasificar mal el melanoma sigue sin ser aceptable puesto que la mala clasificación tiene importantes repercusiones. Así, podríamos privar de tratamiento eficaz específico a pacientes cuyo melanoma fuese BRAF-mutado pero que hubiésemos clasificado como *wild-type*, y podríamos estar dando tratamiento ineficaz y privando de alternativas más adecuadas a pacientes *wild-type* que hubiésemos clasificado erróneamente como BRAF-mutado.

Por lo tanto, a falta de nuevos estudios que ofrezcan modelos predictivos con una precisión óptima, la determinación mediante técnicas de biología molecular del estado mutacional de BRAF es ineludible.

6.

LIMITACIONES

Las principales limitaciones del presente trabajo han sido las siguientes:

1. **La disponibilidad de imagen dermatoscópica fue el principal factor limitante del número de casos incluidos** en el estudio. Esto se debe a que la realización adecuada de la fotografía dermatoscópica de los melanomas depende, por una parte, del grado de sospecha de malignidad que tiene el dermatólogo que atiende al paciente y, por otra parte, de la disponibilidad en ese momento de acceso al equipo de fotografía dermatoscópica.
2. **Los casos no han sido reevaluados histológicamente**, sino que se han tomado los datos ofrecidos en los informes histopatológicos, procedentes de los Servicios de Anatomía Patológica del IVO y del Hospital Arnau de Vilanova, con lo cual podría existir cierta heterogeneidad de criterio. No obstante, cabe señalar al respecto que ambos centros siguen el mismo protocolo de recogida de datos histológicos⁹⁹, como se ha explicado en el *apartado 3.5.3*.
3. **Desde un punto de vista estadístico, la representatividad de la muestra analizada no se puede conocer con exactitud** ya que para ello sus características se tendrían que haber comparado con las características del conjunto de melanomas diagnosticados en el marco y periodo del estudio. Esto no ha sido posible puesto que en el D.S. Arnau de Vilanova-Llíria no

existe un registro de todos los melanomas que se diagnostican y aunque una considerable proporción de casos son derivados al IVO (e introducidos en la base de datos de este centro), otros no. Para compensar esta limitación en la medida de lo posible, en la Discusión (*apartado 5*) se ha llevado a cabo una minuciosa comparativa con los datos existentes en la literatura, haciendo especial hincapié en los datos procedentes de estudios recientes de nuestro entorno.

4. En el análisis estadístico **se ha prescindido de aplicar la corrección para comparaciones múltiples de Bonferroni**. Este método consiste en ajustar el nivel de significación estadística en función del número de contrastes realizados cuando se realizan múltiples comparaciones como en nuestro estudio. Concretamente, si se realizan κ contrastes de hipótesis, el nivel de significación a utilizar en cada contraste debería ser " $0,05/\kappa$ ". De este modo se intenta evitar un aumento en el riesgo de cometer un error de tipo I (concluir que existe una diferencia estadísticamente significativa cuando realmente no la hay). Sin embargo, al aplicar este método se produce un aumento en el riesgo de cometer un error de tipo II (que pasen desapercibidas diferencias reales). De hecho, algunos autores restringen su uso a estudios con características muy concretas (fundamentalmente aquellos en los que es esencial no cometer un error de tipo I) y recomiendan no aplicarlo de forma rutinaria en todos los estudios de investigación

médica¹⁵⁴. Puesto que nuestro estudio se planteó con una finalidad exploratoria, es decir, con el objetivo de evaluar si existen en los melanomas cutáneos características dermatoscópicas que se asocien a la presencia de mutaciones en BRAF (algo que no había sido investigado previamente y de lo que apenas existen datos a día de hoy), lo más importante en nuestro caso era no cometer un error de tipo II, por lo que se decidió no tener en cuenta el ajuste de Bonferroni. De hecho, tampoco se ha tenido en cuenta en ninguno de los trabajos previamente publicados al respecto.

5. **La capacidad predictiva para datos nuevos de los modelos predictivos obtenidos en nuestro trabajo se ha estudiado mediante el método estadístico de validación cruzada.** Realmente, la forma idónea de validar un modelo predictivo es comprobar si predice correctamente un nuevo conjunto de datos. No obstante, normalmente no se dispone de otro conjunto de datos con el que poder validar el modelo¹⁵⁵. Una alternativa cuando esto ocurre es dividir la muestra en dos submuestras, de forma que una se utilice para ajustar el modelo obtenido y la otra para evaluarlo. En esto se fundamenta la validación cruzada que se ha aplicado en nuestro estudio para estimar la capacidad de nuestros modelos a la hora de predecir correctamente el estado mutacional con datos nuevos¹⁵⁵. Sería interesante que futuros estudios (con otros conjuntos de datos) los validaran.

7. CONCLUSIONES

7 CONCLUSIONES

1. La presencia de velo azul-blانquecino se relaciona con la presencia de mutaciones en BRAF en el melanoma cutáneo.
2. Las estructuras dermatoscópicas más frecuentes en los melanomas estudiados han sido las manchas de pigmento (90%), los puntos/glóbulos (78%), el retículo pigmentado (68%) y el velo azul-blانquecino (51%).
3. Los melanomas BRAF-mutados aparecen en pacientes significativamente más jóvenes que los melanomas *wild-type*.
4. Ninguna característica histopatológica se relaciona con la presencia de mutaciones en BRAF de forma estadísticamente significativa tras someter los datos al análisis multivariante.
5. Los modelos predictivos elaborados revelan que conforme aumenta la edad de los pacientes, disminuye la probabilidad de encontrar BRAF-mutado (un 4% por cada aumento de un año de la edad del paciente). Por el contrario, la probabilidad de presentar mutación en BRAF es 4 veces mayor en los melanomas que presentan velo azul-blانquecino en la dermatoscopia con respecto a los que no la presentan. Los modelos obtenidos son capaces de predecir el estado mutacional de BRAF con una precisión del 70% en base a la presencia o ausencia de velo azul-blانquecino en la dermatoscopia y la edad del paciente.

8.

**SUGERENCIAS
PARA FUTUROS
ESTUDIOS**

A lo largo del presente trabajo hemos identificado algunas áreas de incertidumbre que necesitarían esclarecerse en futuros estudios:

1. REGRESIÓN DERMATOSCÓPICA Y REGRESIÓN HISTOLÓGICA

- Dada la amplia variabilidad y discrepancias observadas en la literatura al respecto, sería interesante examinar si realmente existe una correspondencia más o menos directa y proporcionada entre la prevalencia de regresión dermatoscópica y la prevalencia de regresión histológica (*ver apartado 5.3.1.1*).

2. ULCERACIÓN DERMATOSCÓPICA Y ULCERACIÓN HISTOLÓGICA

- Existe la posibilidad de que la dermatoscopia sea capaz de detectar ulceraciones que pasan por alto (por su pequeño tamaño y/o su localización excéntrica) en el análisis histopatológico. Dada la importante repercusión que tiene el hecho de detectar ulceración histológica en la estadificación del melanoma (y, por tanto, en su manejo y pronóstico), sería de especial interés estudiar esta posibilidad (*ver apartado 5.3.1.2*).

3. PAPILOMATOSIS Y ESTADO MUTACIONAL DE BRAF

- La papilomatosis, tanto dermatoscópica como histopatológica, podría ser más frecuente en los melanomas BRAF mutados a la luz de

los resultados de nuestro trabajo. Sería interesante estudiar más ampliamente este hecho teniendo en cuenta los muy escasos datos al respecto existentes en la literatura (ver *apartado 5.3.2.3*).

4. RETÍCULO PIGMENTADO Y ESTADO MUTACIONAL DE BRAF

- Nuestro estudio revela una posible menor frecuencia del retículo pigmentado en la dermatoscopia de melanomas BRAF-mutados respecto a los *wild-type*, pero no ha alcanzado la significación estadística. Puesto que es una diferencia que sí que parece tener una justificación en base a los conocimientos sobre correlación dermatoscopia-histopatología actuales, sería interesante confirmar o descartar esta diferencia (ver *apartado 5.3.2.4*).

5. VALIDACIÓN DE LOS MODELOS PREDICTIVOS

- Sería interesante que nuevos estudios con otros conjuntos de datos validaran la capacidad predictiva de nuestros modelos predictivos (basados en la dermatoscopia del melanoma y la edad del paciente), así como la de los modelos previamente descritos basados en parámetros clinicopatológicos¹⁵³ o histomorfológicos^{92,97} (ver *apartado 6*).

9.

BIBLIOGRAFÍA

9 BIBLIOGRAFÍA

1. Zager JS, Kudchadkar RR, Sondak VK. Melanoma. 1st edition. New York: Oxford University Press; 2016. 166 p
2. Sáenz S, Conejo-Mir J, Cayuela A. Epidemiología del melanoma en España. *Actas Dermo-Sifiliogr* 2005;96:411-8.
3. Tejera-Vaquerizo A, Descalzo-Gallego MA, Otero-Rivas MM, Posada-García C, Rodríguez-Pazos L, Pastushenko I, et al. Skin Cancer Incidence and Mortality in Spain: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Actas Dermosifiliogr* 2016;107:318-28.
4. Ríos L, Nagore E, López JL, Redondo P, Martí RM, Fernández-de-Misa R, et al. Melanoma characteristics at diagnosis from the Spanish National Cutaneous Melanoma Registry: 15 years of experience. *Actas Dermosifiliogr* 2013;104:789-99.
5. National Cancer Institute [Internet]. Melanoma of the Skin: SEER Stat Fact Sheets; [consultado 24 de noviembre 2016]; Disponible en: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/melan.html>.
6. Balch CM, Gershenwald JE, Soong S-J, Thompson JF, Atkins MB, Byrd DR, et al. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J Clin Oncol* 2009;27:6199-206.
7. Nagore E, Oliver V, Botella-Estrada R, Moreno-Picot S, Guillén C, Fortea JM. Clinicopathological analysis of 1571 cutaneous malignant melanomas in Valencia, Spain: factors related to tumour thickness. *Acta Derm Venereol* 2006;86:50-6.
8. Fernández-Canedo I, Rivas-Ruiz F, Fúnez-Liébana R, Blázquez-Sánchez N, de Troya-Martín M. Epidemiología del melanoma en una población multicultural mediterránea. *Piel*. 2014;29:401-5.
9. Clark WH, Elder DE, Van Horn M. The biologic forms of malignant melanoma. *Hum Pathol* 1986;17:443-50.
10. Clark WH, From L, Bernardino EA, Mihm MC. The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin. *Cancer Res* 1969;29:705-27.

11. LeBoit PE, Burg G, Weedon D, Sarasin A, eds. [Internet]. Lyon, Fr.: IARC Press; c2006. World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Skin Tumours. [consultado 24 de noviembre 2016]; Disponible en: <http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/pat-gen/bb6/BB6.pdf>
12. American Cancer Society [Internet]. Survival rates for melanoma skin cancer, by stage. [consultado 24 de noviembre 2016]; Disponible en: <http://www.cancer.org/cancer/skincancer-melanoma/detailedguide/melanoma-skin-cancer-survival-rates-by-stage>
13. Dummer R, Hauschild A, Lindenblatt N, Pentheroudakis G, Keilholz U, ESMO Guidelines Committee. Cutaneous melanoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2015;26 Suppl 5:v126-132.
14. Pflugfelder A, Kochs C, Blum A, Capellaro M, Czeschik C, Dettenborn T, et al. Malignant melanoma S3-guideline «diagnosis, therapy and follow-up of melanoma». *J Dtsch Dermatol Ges* 2013;11 Suppl 6:1-116, 1-126.
15. Macbeth F, Newton-Bishop J, O'Connell S, Hawkins JE, Guideline Development Group. Melanoma: summary of NICE guidance. *BMJ* 2015;351:h3708.
16. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology [Internet]. Melanoma. Version 1.2017. [consultado 29 diciembre 2016]; Disponible en: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/melanoma.pdf
17. AAD Ad Hoc Task Force for the ABCDEs of Melanoma, Tsao H, Olazagasti JM, Cordero KM, Brewer JD, Taylor SC, et al. Early detection of melanoma: reviewing the ABCDEs. *J Am Acad Dermatol* 2015;72:717-23.
18. Grob JJ, Bonerandi JJ. The «ugly duckling» sign: identification of the common characteristics of nevi in an individual as a basis for melanoma screening. *Arch Dermatol* 1998;134:103-4.
19. McGovern TW, Litaker MS. Clinical predictors of malignant pigmented lesions. A comparison of the Glasgow seven-point checklist and the American Cancer Society's ABCDs of pigmented lesions. *J Dermatol Surg Oncol* 1992;18:22-6.

20. Braun RP, Rabinovitz H, Tzu JE, Marghoob AA. Dermoscopy research--an update. *Semin Cutan Med Surg* 2009;28:165-71.
21. Malvehy J, Puig S, Argenziano G, Botella R, et al. *Principios de Dermatoscopia*. 2ªed. Barcelona: Laboratorios Dermatológicos Avène; 2009. 493 p
22. Argenziano G, Soyer HP, Chimenti S, Talamini R, Corona R, Sera F, et al. Dermoscopy of pigmented skin lesions: results of a consensus meeting via the Internet. *J Am Acad Dermatol* 2003;48:679-93.
23. Benvenuto-Andrade C, Dusza SW, Agero ALC, Scope A, Rajadhyaksha M, Halpern AC, et al. Differences between polarized light dermoscopy and immersion contact dermoscopy for the evaluation of skin lesions. *Arch Dermatol* 2007;143:329-38.
24. Carrera C, Zaballos P, Puig S, Malvehy J, Mascaró-Galy JMM, Palou J. Correlación histológica en dermatoscopia; lesiones melanocíticas y no melanocíticas. Criterios dermatoscópicos de nevus melanocíticos. *Med Cutánea Ibero-Lat-Am* 2004;32:47-60.
25. Zalaudek I, Argenziano G, Ferrara G, Soyer HP, Corona R, Sera F, et al. Clinically equivocal melanocytic skin lesions with features of regression: a dermoscopic-pathological study. *Br J Dermatol* 2004;150:64-71.
26. Ribero S, Moscarella E, Ferrara G, Piana S, Argenziano G, Longo C. Regression in cutaneous melanoma: a comprehensive review from diagnosis to prognosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2016;30:2030-7.
27. Seidenari S, Ferrari C, Borsari S, Benati E, Ponti G, Bassoli S, et al. Reticular grey-blue areas of regression as a dermoscopic marker of melanoma in situ. *Br J Dermatol* 2010;163:302-9.
28. Zalaudek I, Kreusch J, Giacomel J, Ferrara G, Catricalà C, Argenziano G. How to diagnose nonpigmented skin tumors: a review of vascular structures seen with dermoscopy: part I. Melanocytic skin tumors. *J Am Acad Dermatol* 2010;63:361-374-376.
29. Zalaudek I, Kreusch J, Giacomel J, Ferrara G, Catricalà C, Argenziano G. How to diagnose nonpigmented skin tumors: a review of vascular

structures seen with dermoscopy: part II. Nonmelanocytic skin tumors. *J Am Acad Dermatol* 2010;63:377-386-388.

30. Martín JM, Bella-Navarro R, Jordá E. Vascularización en dermatoscopia. *Actas Dermo-Sifiliogr* 2012;103:357-75.
31. Argenziano G, Zalaudek I, Corona R, Sera F, Cicale L, Petrillo G, et al. Vascular structures in skin tumors: a dermoscopy study. *Arch Dermatol* 2004;140:1485-9.
32. Malvey J, Puig S, Argenziano G, Marghoob AA, Soyer HP, International Dermoscopy Society Board members. Dermoscopy report: proposal for standardization. Results of a consensus meeting of the International Dermoscopy Society. *J Am Acad Dermatol* 2007;57:84-95.
33. Stolz W. ABCD rule of dermoscopy: A new practical method for early recognition of malignant melanoma. *Eur J Dermatol* 1994;4:521-7.
34. Argenziano G, Fabbrocini G, Carli P, De Giorgi V, Sammarco E, Delfino M. Epiluminescence microscopy for the diagnosis of doubtful melanocytic skin lesions. Comparison of the ABCD rule of dermoscopy and a new 7-point checklist based on pattern analysis. *Arch Dermatol* 1998;134:1563-70.
35. Menzies SW, Ingvar C, Crotty KA, McCarthy WH. Frequency and morphologic characteristics of invasive melanomas lacking specific surface microscopic features. *Arch Dermatol* 1996;132:1178-82.
36. Pehamberger H, Steiner A, Wolff K. In vivo epiluminescence microscopy of pigmented skin lesions. I. Pattern analysis of pigmented skin lesions. *J Am Acad Dermatol* 1987;17:571-83.
37. Phan A, Dalle S, Touzet S, Ronger-Savlé S, Balme B, Thomas L. Dermoscopic features of acral lentiginous melanoma in a large series of 110 cases in a white population. *Br J Dermatol* 2010;162:765-71.
38. Pralong P, Bathelier E, Dalle S, Poulalhon N, Debarbieux S, Thomas L. Dermoscopy of lentigo maligna melanoma: report of 125 cases. *Br J Dermatol* 2012;167:280-7.
39. Pozzobon FC, Puig-Butillé JA, González-Alvarez T, Carrera C, Aguilera P,

- Alos L, et al. Dermoscopic criteria associated with BRAF and NRAS mutation status in primary cutaneous melanoma. *Br J Dermatol* 2014;171:754-9.
40. Fagnoli MC, Sera F, Suppa M, Piccolo D, Landi MT, Chiarugi A, et al. Dermoscopic features of cutaneous melanoma are associated with clinical characteristics of patients and tumours and with MC1R genotype. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2014;28:1768-75.
 41. Mun J-H, Ohn J, Kim W-I, Park S-M, Kim M-B. Dermoscopy of Melanomas on the Trunk and Extremities in Asians. *PLoS One* 2016;11:e0158374.
 42. Di Stefani A, Campbell TM, Malvey J, Massone C, Soyer HP, Hofmann-Wellenhof R. Shiny white streaks: An additional dermoscopic finding in melanomas viewed using contact polarised dermoscopy. *Australas J Dermatol* 2010;51:295-8.
 43. Botella-Estrada R, Sanmartín Jiménez O. [New therapies targeting the genetic mutations responsible for different types of melanoma]. *Actas Dermo-Sifiliográficas* 2010;101:394-400.
 44. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Picconi O, Boyle P, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. *Eur J Cancer* 2005;41:45-60.
 45. Boniol M, Autier P, Boyle P, Gandini S. Cutaneous melanoma attributable to sunbed use: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2012;345:e4757.
 46. Paluncic J, Kovacevic Z, Jansson PJ, Kalinowski D, Merlot AM, Huang ML-H, et al. Roads to melanoma: Key pathways and emerging players in melanoma progression and oncogenic signaling. *Biochim Biophys Acta* 2016;1863:770-84.
 47. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Abeni D, Boyle P, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: I. Common and atypical naevi. *Eur J Cancer* 2005;41:28-44.
 48. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Zanetti R, Masini C, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: III. Family history,

- actinic damage and phenotypic factors. *Eur J Cancer* 2005;41:2040-59.
49. de Visser KE, Eichten A, Coussens LM. Paradoxical roles of the immune system during cancer development. *Nat Rev Cancer* 2006;6:24-37.
 50. Eggermont AMM, Suciú S, Testori A, Santinami M, Kruit WHJ, Marsden J, et al. Long-term results of the randomized phase III trial EORTC 18991 of adjuvant therapy with pegylated interferon alfa-2b versus observation in resected stage III melanoma. *J Clin Oncol* 2012;30:3810-8.
 51. Schadendorf D, Kochs C, Livingstone E. *Handbook of Cutaneous Melanoma. A Guide to Diagnosis and Treatment*. 1st edition. London: Springer Healthcare; 2013. 109 p
 52. Dadras SS. Molecular diagnostics in melanoma: current status and perspectives. *Arch Pathol Lab Med* 2011;135:860-9.
 53. Martí RM, Sorolla A, Yeramian A. New therapeutic targets in melanoma. *Actas Dermosifiliogr* 2012;103:579-90.
 54. Rother J, Jones D. Molecular markers of tumor progression in melanoma. *Curr Genomics* 2009;10:231-9.
 55. Nathanson KL. Using genetics and genomics strategies to personalize therapy for cancer: focus on melanoma. *Biochem Pharmacol* 2010;80:755-61.
 56. Whiteman DC, Pavan WJ, Bastian BC. The melanomas: a synthesis of epidemiological, clinical, histopathological, genetic, and biological aspects, supporting distinct subtypes, causal pathways, and cells of origin. *Pigment Cell Melanoma Res* 2011;24:879-97.
 57. Bastian BC. The molecular pathology of melanoma: an integrated taxonomy of melanocytic neoplasia. *Annu Rev Pathol* 2014;9:239-71.
 58. Goldstein AM, Chan M, Harland M, Gillanders EM, Hayward NK, Avril M-F, et al. High-risk melanoma susceptibility genes and pancreatic cancer, neural system tumors, and uveal melanoma across GenoMEL. *Cancer Res* 2006;66:9818-28.
 59. Bishop JA, Wachsmuth RC, Harland M, Bataille V, Pinney E, MacK P, et al.

Genotype/phenotype and penetrance studies in melanoma families with germline CDKN2A mutations. *J Invest Dermatol* 2000;114:28-33.

60. Nagore E, Reyes-Garcia D, Heidenreich B, Garcia-Casado Z, Requena C, Kumar R. TERT promoter mutations associate with MC1R variants in melanoma patients. *Pigment Cell Melanoma Res* 2016;
61. Pasquali E, García-Borrón JC, Fagnoli MC, Gandini S, Maisonneuve P, Bagnardi V, et al. MC1R variants increased the risk of sporadic cutaneous melanoma in darker-pigmented Caucasians: a pooled-analysis from the M-SKIP project. *Int J Cancer* 2015;136:618-31.
62. Pollock PM, Harper UL, Hansen KS, Yudt LM, Stark M, Robbins CM, et al. High frequency of BRAF mutations in nevi. *Nat Genet* 2003;33:19-20.
63. Ross AL, Sanchez MI, Grichnik JM. Molecular nevogenesis. *Dermatol Res Pract* 2011;2011:463184.
64. Carr J, Mackie RM. Point mutations in the N-ras oncogene in malignant melanoma and congenital naevi. *Br J Dermatol* 1994;131:72-7.
65. Bastian BC, LeBoit PE, Pinkel D. Mutations and copy number increase of HRAS in Spitz nevi with distinctive histopathological features. *Am J Pathol* 2000;157:967-72.
66. Van Raamsdonk CD, Griewank KG, Crosby MB, Garrido MC, Vemula S, Wiesner T, et al. Mutations in GNA11 in uveal melanoma. *N Engl J Med* 2010;363:2191-9.
67. Van Raamsdonk CD, Bezrookove V, Green G, Bauer J, Gaugler L, O'Brien JM, et al. Frequent somatic mutations of GNAQ in uveal melanoma and blue naevi. *Nature* 2009;457:599-602.
68. Poynter JN, Elder JT, Fullen DR, Nair RP, Soengas MS, Johnson TM, et al. BRAF and NRAS mutations in melanoma and melanocytic nevi. *Melanoma Res* 2006;16:267-73.
69. Tucker MA, Halpern A, Holly EA, Hartge P, Elder DE, Sagebiel RW, et al. Clinically recognized dysplastic nevi. A central risk factor for cutaneous melanoma. *JAMA* 1997;277:1439-44.

70. Lee J-H, Choi J-W, Kim Y-S. Frequencies of BRAF and NRAS mutations are different in histological types and sites of origin of cutaneous melanoma: a meta-analysis. *Br J Dermatol* 2011;164:776-84.
71. Kim SY, Kim SN, Hahn HJ, Lee YW, Choe YB, Ahn KJ. Metaanalysis of BRAF mutations and clinicopathologic characteristics in primary melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2015;72:1036-1046.e2.
72. Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, Patel HN, Busam KJ, Kutzner H, et al. Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med* 2005;353:2135-47.
73. Whiteman DC, Watt P, Purdie DM, Hughes MC, Hayward NK, Green AC. Melanocytic nevi, solar keratoses, and divergent pathways to cutaneous melanoma. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:806-12.
74. Wiesner T, Kiuru M, Scott SN, Arcila M, Halpern AC, Hollmann T, et al. NF1 Mutations Are Common in Desmoplastic Melanoma. *Am J Surg Pathol* 2015;39:1357-62.
75. FDA approves vemurafenib for treatment of metastatic melanoma. *Oncology* 2011;25:906.
76. Chapman PB, Hauschild A, Robert C, Haanen JB, Ascierto P, Larkin J, et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Engl J Med* 2011;364:2507-16.
77. Hauschild A, Grob J-J, Demidov LV, Jouary T, Gutzmer R, Millward M, et al. Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet* 2012;380:358-65.
78. Larkin J, Ascierto PA, Dréno B, Atkinson V, Liskay G, Maio M, et al. Combined vemurafenib and cobimetinib in BRAF-mutated melanoma. *N Engl J Med* 2014;371:1867-76.
79. Long GV, Stroyakovskiy D, Gogas H, Levchenko E, de Braud F, Larkin J, et al. Dabrafenib and trametinib versus dabrafenib and placebo for Val600 BRAF-mutant melanoma: a multicentre, double-blind, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet* 2015;386:444-51.
80. Sanlorenzo M, Choudhry A, Vujic I, Posch C, Chong K, Johnston K, et al.

Comparative profile of cutaneous adverse events: BRAF/MEK inhibitor combination therapy versus BRAF monotherapy in melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2014;71:1102-1109.e1.

81. Liu W, Kelly JW, Trivett M, Murray WK, Dowling JP, Wolfe R, 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.
82. Thomas NE, Edmiston SN, Alexander A, Groben PA, Parrish E, Kricker A, et al. Association Between NRAS and BRAF Mutational Status and Melanoma-Specific Survival Among Patients With Higher-Risk Primary Melanoma. *JAMA Oncol* 2015;1:359-68.
83. García-Casado Z, Traves V, Bañuls J, Niveiro M, Gimeno-Carpio E, Jimenez-Sanchez AI, et al. BRAF, NRAS and MC1R status in a prospective series of primary cutaneous melanoma. *Br J Dermatol* 2015;172:1128-31.
84. Verlinden I, van den Hurk K, Clarijs R, Willig AP, Stallinga CMHA, Roemen GMJM, et al. BRAFV600E immunopositive melanomas show low frequency of heterogeneity and association with epithelioid tumor cells: a STROBE-compliant article. *Medicine (Baltimore)* 2014;93:e285.
85. Bauer J, Büttner P, Murali R, Okamoto I, Kolaitis NA, Landi MT, et al. BRAF mutations in cutaneous melanoma are independently associated with age, anatomic site of the primary tumor, and the degree of solar elastosis at the primary tumor site. *Pigment Cell Melanoma Res* 2011;24:345-51.
86. Kakavand H, Crainic O, Lum T, O'Toole SA, Kefford RF, Thompson JF, et al. Concordant BRAFV600E mutation status in primary melanomas and associated naevi: implications for mutation testing of primary melanomas. *Pathology* 2014;46:193-8.
87. Edlundh-Rose E, Egyházi S, Omholt K, Månsson-Brahme E, Platz A, Hansson J, et al. NRAS and BRAF mutations in melanoma tumours in relation to clinical characteristics: a study based on mutation screening by pyrosequencing. *Melanoma Res* 2006;16:471-8.
88. Purdue MP, From L, Armstrong BK, Kricker A, Gallagher RP, McLaughlin JR, et al. Etiologic and other factors predicting nevus-associated cutaneous

- malignant melanoma. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2005;14:2015-22.
89. Estrozi B, Machado J, Rodriguez R, Bacchi CE. Clinicopathologic findings and BRAF mutation in cutaneous melanoma in young adults. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2014;22:57-64.
 90. Maldonado JL, Fridlyand J, Patel H, Jain AN, Busam K, Kageshita T, et al. Determinants of BRAF mutations in primary melanomas. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:1878-90.
 91. Bombonato C, Ribero S, Pozzobon FC, Puig-Butille JA, Badenas C, Carrera C, et al. Association between dermoscopic and reflectance confocal microscopy features of cutaneous melanoma with BRAF mutational status. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2016;
 92. Broekaert SMC, Roy R, Okamoto I, van den Oord J, Bauer J, Garbe C, et al. Genetic and morphologic features for melanoma classification. *Pigment Cell Melanoma Res* 2010;23:763-70.
 93. Nagore E, Requena C, Traves V, Guillen C, Hayward NK, Whiteman DC, et al. Prognostic value of BRAF mutations in localized cutaneous melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2014;70:858-862-2.
 94. Ellerhorst JA, Greene VR, Ekmekcioglu S, Warneke CL, Johnson MM, Cooke CP, et al. Clinical correlates of NRAS and BRAF mutations in primary human melanoma. *Clin Cancer Res* 2011;17:229-35.
 95. Pracht M, Mogha A, Lespagnol A, Fautrel A, Mouchet N, Le Gall F, et al. Prognostic and predictive values of oncogenic BRAF, NRAS, c-KIT and MITF in cutaneous and mucous melanoma. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2015;29:1530-8.
 96. Macerola E, Loggini B, Giannini R, Garavello G, Giordano M, Proietti A, et al. Coexistence of TERT promoter and BRAF mutations in cutaneous melanoma is associated with more clinicopathological features of aggressiveness. *Virchows Arch* 2015;467:177-84.
 97. Viros A, Fridlyand J, Bauer J, Lasithiotakis K, Garbe C, Pinkel D, et al. Improving melanoma classification by integrating genetic and morphologic features. *PLoS Med* 2008;5:e120.

98. Ponti G, Manfredini M, Tomasi A, Pellacani G. Distinctive clinical and dermoscopic features of BRAF V600K mutated melanomas. *Br J Dermatol* 2015;172:1438-40.
99. Nagore E, Monteagudo C, Pinazo MI, Botella-Estrada R, Oliver V, Bañuls J, et al. Propuesta de protocolo para el informe histológico del tumor primario de los pacientes con un melanoma cutáneo del Grupo de Trabajo para el Melanoma Cutáneo de la Comunidad Valenciana. *Actas Dermosifiliogr* 2007;98:459-65.
100. Ribero S, Gualano MR, Osella-Abate S, Scaioli G, Bert F, Sanlorenzo M, et al. Association of Histologic Regression in Primary Melanoma With Sentinel Lymph Node Status: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Dermatol* 2015;151:1301-7.
101. Ahn S, Lee J, Sung J-Y, Kang SY, Ha SY, Jang K-T, et al. Comparison of Three BRAF Mutation Tests in Formalin-Fixed Paraffin Embedded Clinical Samples. *Korean J Pathol* 2013;47:348-54.
102. Halait H, Demartin K, Shah S, Soviero S, Langland R, Cheng S, et al. Analytical performance of a real-time PCR-based assay for V600 mutations in the BRAF gene, used as the companion diagnostic test for the novel BRAF inhibitor vemurafenib in metastatic melanoma. *Diagn Mol Pathol* 2012;21:1-8.
103. Yamazaki N, Tanaka R, Tsutsumida A, Namikawa K, Eguchi H, Omata W, et al. BRAF V600 mutations and pathological features in Japanese melanoma patients. *Melanoma Res* 2015;25:9-14.
104. Anderson S, Bloom KJ, Vallera DU, Rueschoff J, Meldrum C, Schilling R, et al. Multisite analytic performance studies of a real-time polymerase chain reaction assay for the detection of BRAF V600E mutations in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue specimens of malignant melanoma. *Arch Pathol Lab Med* 2012;136:1385-91.
105. Fullen DR, Poynter JN, Lowe L, Su LD, Elder JT, Nair RP, et al. BRAF and NRAS mutations in spitzoid melanocytic lesions. *Mod Pathol* 2006;19:1324-32.
106. Cerda L. J, Villarroel del P. L. Evaluación de la concordancia inter-

- observador en investigación pediátrica: coeficiente de Kappa. *Rev Chil Pediatr* 2008;79:54-8.
107. Tan E, Oakley A, Soyer HP, Haskett M, Marghoob A, Jameson M, et al. Interobserver variability of teledermoscopy: an international study. *Br J Dermatol* 2010;163:1276-81.
 108. Zaballos P, Daufí C, Puig S, Argenziano G, Moreno-Ramírez D, Cabo H, et al. Dermoscopy of solitary angiokeratomas: a morphological study. *Arch Dermatol* 2007;143:318-25.
 109. White J. Logistic regression model effectiveness: proportional chance criteria and proportional reduction in error. *J Contemp Res Educ* 2013;2:4-10.
 110. Ocaña-Riola R, Martínez-García C, Serrano S, Buendía-Eisman A, Ruiz-Baena C, Canela-Soler J. Population-based study of cutaneous malignant melanoma in the Granada province (Spain), 1985-1992. *Eur J Epidemiol* 2001;17:169-74.
 111. Avilés JA, Lázaro P, Lecona M. Epidemiología y supervivencia del melanoma cutáneo en España: estudio de 552 casos (1994-2003). *Rev Clínica Esp* 2006;206:319-25.
 112. Hacker E, Nagore E, Cerroni L, Woods SL, Hayward NK, Chapman B, et al. NRAS and BRAF mutations in cutaneous melanoma and the association with MC1R genotype: findings from Spanish and Austrian populations. *J Invest Dermatol* 2013;133:1027-33.
 113. Hacker E, Olsen CM, Kvaskoff M, Pandeya N, Yeo A, Green AC, et al. Histologic and Phenotypic Factors and MC1R Status Associated with BRAF(V600E), BRAF(V600K), and NRAS Mutations in a Community-Based Sample of 414 Cutaneous Melanomas. *J Invest Dermatol* 2016;136:829-37.
 114. de Troya-Martín M, Blázquez-Sánchez N, Fernández-Canedo I, Frieyro-Elicegui M, Fúnez-Liévana R, Rivas-Ruiz F. Estudio dermoscópico del melanoma maligno cutáneo: análisis descriptivo de 45 casos. *Actas Dermosifiliogr* 2008;99:44-53.

115. Ciudad-Blanco C, Avilés-Izquierdo JA, Lázaro-Ochaita P, Suárez-Fernández R. Dermoscopic findings for the early detection of melanoma: an analysis of 200 cases. *Actas Dermosifiliogr* 2014;105:683-93.
116. Arranz-Sánchez DM, Pizarro A, Valencia-Delfa JL, Villeta-López M, González-Beato MJ, Mayor-Arenal M, et al. Características clínico-patológicas de los melanomas cutáneos diagnosticados en un hospital terciario mediterráneo entre 1990 y 2004: comparación entre sexos, por grupos de edad y evolución a lo largo del tiempo. *Actas Dermosifiliogr* 2009;100:476-85.
117. Hacker E, Hayward NK, Dumenil T, James MR, Whiteman DC. The association between MC1R genotype and BRAF mutation status in cutaneous melanoma: findings from an Australian population. *J Invest Dermatol* 2010;130:241-8.
118. Thomas NE, Edmiston SN, Alexander A, Millikan RC, Groben PA, Hao H, et al. Number of nevi and early-life ambient UV exposure are associated with BRAF-mutant melanoma. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2007;16:991-7.
119. Deichmann M, Krahl D, Thome M, Wüst K, Hassanzadeh J, Helmke B. The oncogenic B-raf V599E mutation occurs more frequently in melanomas at sun-protected body sites. *Int J Oncol* 2006;29:139-45.
120. Kvaskoff M, Pandeya N, Green AC, Perry S, Baxter C, Davis MB, et al. Solar elastosis and cutaneous melanoma: a site-specific analysis. *Int J Cancer* 2015;136:2900-11.
121. Martínez-Leboráns L, Garcías-Ladaria J, Oliver-Martínez V, Alegre de Miquel V. Extrafacial Lentigo Maligna: A Report on 14 Cases and a Review of the Literature. *Actas Dermosifiliogr* 2016;107:e57-63.
122. Gamo Villegas R. Características dermatoscópicas de las lesiones melanocíticas en el síndrome del nevus con atipia en diferentes áreas anatómicas y de los melanomas en tronco y extremidades inferiores [tesis doctoral en Internet]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2011 [citada 30 diciembre 2016]. 204 p. Disponible en: <http://eprints.ucm.es/13016/>

123. Nagore E, Hacker E, Martorell-Calatayud A, Traves V, Guillen C, Hayward NK, et al. Prevalence of BRAF and NRAS mutations in fast-growing melanomas. *Pigment Cell Melanoma Res* 2013;26:429-31.
124. Long GV, Menzies AM, Nagrial AM, Haydu LE, Hamilton AL, Mann GJ, et al. Prognostic and clinicopathologic associations of oncogenic BRAF in metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2011;29:1239-46.
125. Botella-Estrada R, Traves V, Requena C, Guillen-Barona C, Nagore E. Correlation of histologic regression in primary melanoma with sentinel node status. *JAMA Dermatol* 2014;150:828-35.
126. Tejera-Vaquerizo A, Arias-Santiago S, Nagore E, Martín-Cuevas P, Orgaz-Molina J, Traves V, et al. Defining the dermoscopic characteristics of fast-growing cutaneous melanomas. *Melanoma Res* 2015;25:269-72.
127. Seidenari S, Ferrari C, Borsari S, Fabiano A, Bassoli S, Giusti F, et al. Dermoscopy of small melanomas: just miniaturized dermoscopy? *Br J Dermatol* 2014;171:1006-13.
128. Bassoli S, Ferrari C, Borsari S, Giusti F, Magnoni C, Pellacani G, et al. Negative pigment network identifies a peculiar melanoma subtype and represents a clue to melanoma diagnosis: a dermoscopic study of 401 melanomas. *Acta Derm Venereol* 2013;93:650-5.
129. Stoecker WV, Gupta K, Stanley RJ, Moss RH, Shrestha B. Detection of asymmetric blotches (asymmetric structureless areas) in dermoscopy images of malignant melanoma using relative color. *Skin Res Technol* 2005;11:179-84.
130. Jaimes N, Marghoob AA. The morphologic universe of melanoma. *Dermatol Clin* 2013;31:599-613, viii-ix.
131. Massi D, De Giorgi V, Soyer HP. Histopathologic correlates of dermoscopic criteria. *Dermatol Clin* 2001;19:259-268, vii.
132. Kittler H, Marghoob AA, Argenziano G, Carrera C, Curiel-Lewandrowski C, et al. Standardization of terminology in dermoscopy/dermatoscopy: Results of the third consensus conference of the International Society of Dermoscopy. *J Am Acad Dermatol* 2016;74:1093-106.

133. Longo C, Piana S, Marghoob A, Cavicchini S, Rubegni P, Cota C, et al. Morphological features of naevoid melanoma: results of a multicentre study of the International Dermoscopy Society. *Br J Dermatol* 2015;172:961-7.
134. Teixeira V, Serra D, Vieira R, Figueiredo A, Julião MJ. Melanoma: when dermoscopy is a pitfall. *Int J Dermatol* 2014;53:e313-315.
135. Ohnishi T, Hamano M, Watanabe S. Clinically verrucous and histologically discohesive melanoma. A case report with dermoscopic and immunohistochemical observations. *Australas J Dermatol* 2014;55:e21-23.
136. Izikson L, Sober AJ, Mihm MC, Zembowicz A. Prevalence of melanoma clinically resembling seborrheic keratosis: analysis of 9204 cases. *Arch Dermatol* 2002;138:1562-6.
137. Scope A, Benvenuto-Andrade C, Agero A-LC, Halpern AC, Gonzalez S, Marghoob AA. Correlation of dermoscopic structures of melanocytic lesions to reflectance confocal microscopy. *Arch Dermatol* 2007;143:176-85.
138. Neila J, Soyer HP. Key points in dermoscopy for diagnosis of melanomas, including difficult to diagnose melanomas, on the trunk and extremities. *J Dermatol* 2011;38:3-9.
139. Loewe R, Kittler H, Fischer G, Faé I, Wolff K, Petzelbauer P. BRAF kinase gene V599E mutation in growing melanocytic lesions. *J Invest Dermatol* 2004;123:733-6.
140. Zalaudek I, Guelly C, Pellacani G, Hofmann-Wellenhof R, Trajanoski S, Kittler H, et al. The dermoscopic and histopathological patterns of nevi correlate with the frequency of BRAF mutations. *J Invest Dermatol* 2011;131:542-5.
141. Kittler H, Seltenheim M, Dawid M, Pehamberger H, Wolff K, Binder M. Frequency and characteristics of enlarging common melanocytic nevi. *Arch Dermatol* 2000;136:316-20.
142. Zalaudek I, Grinschgl S, Argenziano G, Marghoob AA, Blum A, Richtig E,

- et al. Age-related prevalence of dermoscopy patterns in acquired melanocytic naevi. *Br J Dermatol* 2006;154:299-304.
143. Sanchez MI, Rabinovitz HS, Oliviero MC, Elgart GW, Perez C, Puig S, et al. Dark homogeneous streak dermoscopic pattern correlating with specific KIT mutations in melanoma. *JAMA Dermatol* 2014;150:633-9.
 144. Wu JM, Alvarez H, García P, Rojas PL, Wong G, Maitra A, et al. Melanoma hyperpigmentation is strongly associated with KIT alterations. *Am J Dermatopathol* 2009;31:619-25.
 145. De Giorgi V, Savarese I, D'Errico A, Gori A, Papi F, Colombino M, et al. CDKN2A mutations could influence the dermoscopic pattern of presentation of multiple primary melanoma: a clinical dermoscopic genetic study. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2015;29:574-80.
 146. Egberts F, Bohne A-S, Krüger S, Hedderich J, Rompel R, Haag J, et al. Varying Mutational Alterations in Multiple Primary Melanomas. *J Mol Diagn* 2016;18:75-83.
 147. Curtin JA, Busam K, Pinkel D, Bastian BC. Somatic activation of KIT in distinct subtypes of melanoma. *J Clin Oncol* 2006;24:4340-6.
 148. Jaimes N, Marghoob AA, Rabinovitz H, Braun RP, Cameron A, Rosendahl C, et al. Clinical and dermoscopic characteristics of melanomas on nonfacial chronically sun-damaged skin. *J Am Acad Dermatol* 2015;72:1027-35.
 149. Yazdi AS, Palmedo G, Flaig MJ, Puchta U, Reckwerth A, Rütten A, et al. Mutations of the BRAF gene in benign and malignant melanocytic lesions. *J Invest Dermatol* 2003;121:1160-2.
 150. Avilés-Izquierdo JA, Lázaro-Ochaita P. Histological ulceration as a prognostic factor in cutaneous melanoma: a study of 423 cases in Spain. *Clin Transl Oncol* 2012;14:237-40.
 151. Jewell R, Elliott F, Laye J, Nsengimana J, Davies J, Walker C, et al. The clinicopathological and gene expression patterns associated with ulceration of primary melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res* 2015;28:94-104.
 152. Pellacani G, Longo C, Malvehy J, Puig S, Carrera C, Segura S, et al. In vivo

confocal microscopic and histopathologic correlations of dermoscopic features in 202 melanocytic lesions. *Arch Dermatol* 2008;144:1597-608.

153. Eigentler T, Assi Z, Hassel JC, Heinzerling L, Starz H, Berneburg M, et al. Which melanoma patient carries a BRAF-mutation? A comparison of predictive models. *Oncotarget* 2016;7:36130-7.
154. Armstrong RA. When to use the Bonferroni correction. *Ophthalmic Physiol Opt* 2014;34:502-8.
155. Cañadas, J.L.R. [Internet]. c2013. Regresión logística. Tratamiento computacional con R. [consultado 1 febrero 2017]; Disponible en: http://masteres.ugr.es/moea/pages/tfm-1213/tfm_caaadasreche_jluis/

10.

ANEXOS

ANEXO 1 CONSENTIMIENTO INFORMADO

HOJA INFORMATIVA PARA EL PACIENTE

El paciente acepta entrar a formar parte del proyecto de investigación titulado: “**Correlación entre patrones dermatoscópicos en melanoma con la frecuencia de mutaciones BRAF**”, cuyo objetivo y características se detallan en este documento y que, en ningún caso, podrá comportar peligro adicional para su salud. Para ello se solicita la autorización por escrito del paciente y la aceptación por parte del investigador y de la Dirección del Hospital según el art. 10 de la Ley General de Sanidad 14/86.

OBJETIVO DEL PROYECTO

El objetivo del proyecto es el estudio de la relación que puede existir entre ciertas características morfológicas de los melanomas con la presencia de mutación en BRAF, que se ha implicado en el desarrollo de estas lesiones y que constituye actualmente una diana terapéutica en casos de melanoma avanzado.

METODOLOGÍA EMPLEADA

Como participante:

1. Será entrevistado por un dermatólogo que le interrogará sobre aspectos habitualmente recogidos en la historia de los pacientes que son revisados por lesiones melanocíticas y que le realizará una completa exploración física.
2. Se le tomará foto dermatoscópica (mediante un aparato acoplado a una cámara digital) de las lesiones en las que esté indicada la extirpación.
3. A las lesiones extirpadas, además del estudio histológico habitual, una vez confirmado el diagnóstico, se les realizará un estudio genético para detectar la presencia de mutación en el gen BRAF. Esta técnica se hará de forma extraordinaria por su participación en el presente estudio.

BENEFICIOS ESPERADOS PARA EL PARTICIPANTE O LA SOCIEDAD

Los beneficios directos para el participante serían, en el caso de los melanomas, la identificación de la presencia o ausencia de mutación BRAF de cara a poder ofrecer un tratamiento específico en caso de requerirlo.

Así mismo, los conocimientos que se puedan adquirir en cuanto a la correlación entre morfología dermatoscópica con las mutaciones genéticas implicadas en el desarrollo de melanomas, mejoraría la comprensión de la formación de estas proliferaciones melanocitarias y podría beneficiar a la sociedad en general.

ANEXO 1 (CONTINUACIÓN)

INCOMODIDADES Y RIESGOS DERIVADOS DEL ESTUDIO

1. En este proyecto no se somete al paciente a ningún procedimiento terapéutico distinto del habitual.
2. La dermatoscopia se usa habitualmente en las consultas de Dermatología y no implica ningún riesgo para el paciente.
3. A la hora de tomar la foto dermatoscópica puede ser necesario aplicar una sustancia sobre la piel como medio de inmersión que le será retirada una vez obtenida la imagen.

CARÁCTER VOLUNTARIO DE SU PARTICIPACIÓN

Su participación en este estudio es VOLUNTARIA.

Si usted decide no participar, su relación con los médicos que lo atienden, su derecho a los servicios de salud u otros servicios que le corresponden no se verán afectados en absoluto.

Si usted decide participar, puede libremente dejar de participar en el momento que lo decida, sin que ello altere la relación médico-enfermo ni se produzca perjuicio en su atención sanitaria.

CONFIDENCIALIDAD

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo establecido en la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal, garantizando los derechos del paciente de acceso, rectificación y petición de cancelación.

Ninguna información suya será transferida a otras personas ajenas al personal investigador sin su permiso por escrito.

El acceso a su información personal quedará restringido al Investigador principal y sus colaboradores, autoridades sanitarias, al Comité Ético de Investigación Biomédica y personal autorizado, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente en nuestro país.

En ningún caso las muestras serán motivo de lucro directo, bien sea por la venta del material o de los derechos para realizar estudios sobre los mismos.

Tendrá acceso a la información referente a este proyecto el personal investigador adscrito al mismo, siendo el investigador principal el Dr. Miquel Armengot Carbó, con quien podrá contactar personalmente al teléfono 963868529.

ANEXO 1 (CONTINUACIÓN)

CONSENTIMIENTO INFORMADO CONSENTIMIENTO POR ESCRITO

Título del estudio: **Correlación entre patrones dermatoscópicos en melanoma con la frecuencia de mutaciones BRAF**

Yo,

He leído la hoja de información que se me ha entregado.
He podido hacer preguntas sobre el estudio.
He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con:

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- 1º Cuando quiera
- 2º Sin tener que dar explicaciones.
- 3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Firma del Participante

Firma del Investigador

Nombre:
Fecha:

Nombre:
Fecha:

ANEXO 2. INFORME FAVORABLE DEL CEIC H. ARNAU DE VILANOVA



AGÈNCIA VALENCIANA DE SALUT

Departament de Salut de València

Arnau de Vilanova - Llíria

INFORME DEL COMITE ETICO DE INVESTIGACION CLINICA – CEIC HOSPITAL ARNAU DE VILANOVA DE VALENCIA

Reunidos los miembros del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Arnau de Vilanova, en su sesión del día 29 de febrero de 2012, y una vez estudiada la documentación presentada por el **Dr. Miguel Armengol Cabó** del Servicio de Dermatología, tiene a bien informar que el proyecto de investigación titulado **“Correlación entre patrones dermatoscópicos en melonoma y nevus con la frecuencia de mutaciones BRAF”**, se ajusta a las normas deontológicas establecidas para tales casos.

Y para que conste, lo firma en Valencia con fecha veintinueve de febrero de dos mil doce.

Fdo. Mercedes Frances Sempere

Presidenta del CEIC



