



**TESIS DOCTORAL**

**BIOPSIA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA EN MELANOMA CUTÁNEO:  
INFLUENCIA DE LAS VARIABLES CLÍNICO-PATOLÓGICAS Y EL TIEMPO DE  
RETARDO EN EL ESTADO GANGLIONAR, RECURRENCIA Y SUPERVIVENCIA**

**MARÍA LUZ DOMÍNGUEZ GRANDE**

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA APLICADA**

**Conformidad del Director:**

**Dr. Juan Ignacio Rayo Madrid**

**2020**



## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Juan Ignacio Rayo Madrid, por la confianza depositada en mí, su consejo y orientación en la realización de esta Tesis Doctoral.

Al Dr. Francisco Manuel González García, por su dedicación, constante estímulo y revisión crítica de los diversos aspectos de este trabajo.

A mis tíos políticos Juan Evaristo Suárez y, sobre todo a Ana Rodríguez, por su tiempo y colaboración desinteresada en la edición y corrección de esta Tesis, fundamentales para llevarla a cabo.

A Patricia Fernández del Valle y a Valeria Rolle Sónora, por su ayuda inestimable en la realización del análisis estadístico de los datos.

Al Prof. Dr. Juan Diego Pedrera Zamorano y al Dr. Jose María Morán García, de la Facultad de Enfermería y Terapia Ocupacional de la UNEX, por su apoyo y colaboración desde los inicios de este proyecto.

A los compañeros de los servicios de Medicina Nuclear del Hospital Infanta Cristina de Badajoz, Complejo Hospitalario Universitario San Pedro de Alcántara de Cáceres y Hospital Universitario Central de Asturias de Oviedo, porque de diversas formas han colaborado en la realización de este estudio.

A Noelia, por tener siempre respuesta a las mil y una cuestiones que le planteé durante la elaboración de esta Tesis, sus consejos, y sus palabras de ánimo.

A Jose "Resi", por estar siempre a mi lado en los buenos y en los malos momentos.

A María José, por su amistad y generosidad.

A mis suegros, Conchita y Chema, por hacerme sentir en casa y en familia desde que nos conocimos.

A mi marido Juan Pablo, por su eterna paciencia conmigo, ser un ejemplo en todo lo que hago y sin el que este trabajo nunca hubiera visto la luz.

A mis padres, por enseñarme la importancia del trabajo y la integridad.

A mi hermano Jaime, por ser valiente y positivo desde el día que nació.

A todos los pacientes que forman parte de este estudio, por quienes debemos avanzar en el abordaje de esta enfermedad, agradeciéndoles la confianza que nos brindan a los profesionales de la Medicina en uno de los momentos más difíciles de sus vidas.

A mis padres



# ÍNDICE





	<b>Página</b>
<b>ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>5</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS.....</b>	<b>11</b>
<b>1. <u>INTRODUCCIÓN</u>.....</b>	<b>19</b>
<b>1.1. MELANOMA MALIGNO.....</b>	<b>21</b>
1.1.1. Definición.....	21
1.1.2. Epidemiología.....	21
1.1.3. Etiopatogenia.....	22
1.1.4. Diagnóstico.....	24
1.1.5. Estadificación.....	28
1.1.6. Tratamiento.....	33
1.1.7. Seguimiento.....	37
<b>1.2. BIOPSIA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA (BSGC).....</b>	<b>37</b>
1.2.1. Definición.....	37
1.2.2. Desarrollo histórico: colorantes y radiofármacos.....	38
1.2.3. Descripción de la técnica.....	40
1.2.4. Estudio histológico del ganglio centinela.....	46
1.2.5. Protección radiológica.....	48
1.2.6. Indicaciones de la BSGC en melanoma.....	48
1.2.7. Complicaciones de la BSGC en melanoma.....	49
1.2.8. Falsos negativos de la BSGC en melanoma.....	50
1.2.9. Impacto clínico de la BSGC en melanoma.....	51
1.2.10. Controversias sobre la BSGC en melanoma.....	53
<b>2. <u>HIPÓTESIS</u>.....</b>	<b>57</b>
<b>3. <u>OBJETIVOS</u>.....</b>	<b>61</b>
<b>4. <u>MATERIAL Y MÉTODOS</u>.....</b>	<b>65</b>
<b>4.1. DISEÑO DEL ESTUDIO.....</b>	<b>67</b>
4.1.1. Tipo de estudio.....	67
4.1.2. Ámbito.....	67
4.1.3. Población a estudio.....	67
<b>4.2. TÉCNICAS REALIZADAS.....</b>	<b>69</b>
4.2.1. Biopsia del melanoma.....	69

4.2.2.	Biopsia selectiva del ganglio centinela.....	69
4.2.3.	Linfadenectomía.....	74
<b>4.3.</b>	<b>RECOGIDA DE DATOS. VARIABLES A ESTUDIO.....</b>	<b>74</b>
4.3.1.	Variables demográficas.....	74
4.3.2.	Variables dependientes del tumor primario.....	75
4.3.3.	Variables de la técnica BSGC.....	76
4.3.4.	Variables obtenidas de la linfadenectomía.....	76
4.3.5.	Variables dependientes de la evolución del paciente.....	77
<b>4.4.</b>	<b>ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....</b>	<b>79</b>
<b>4.5.</b>	<b>ASPECTOS ÉTICOS Y CONFIDENCIALIDAD DE DATOS.....</b>	<b>80</b>
<b>5.</b>	<b><u>RESULTADOS</u>.....</b>	<b>81</b>
<b>5.1.</b>	<b>POBLACIÓN A ESTUDIO.....</b>	<b>83</b>
<b>5.2.</b>	<b>ANÁLISIS DESCRIPTIVO.....</b>	<b>84</b>
<b>5.3.</b>	<b>ANÁLISIS BIVARIANTE.....</b>	<b>96</b>
5.3.1.	Estado ganglionar.....	96
5.3.2.	Tiempo de retardo.....	111
<b>5.4.</b>	<b>ANÁLISIS MULTIVARIANTE.....</b>	<b>125</b>
5.4.1.	Factores predictores del estado ganglionar.....	125
5.4.2.	Factores predictores del tiempo libre de enfermedad y mortalidad.....	125
<b>5.5.</b>	<b>ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA.....</b>	<b>136</b>
<b>6.</b>	<b><u>DISCUSIÓN</u>.....</b>	<b>145</b>
<b>6.1.</b>	<b>RESULTADOS DE LA TÉCNICA BSGC .....</b>	<b>147</b>
6.1.1.	Correlación clínico-anatomopatológica.....	148
6.1.2.	Análisis de la técnica BSGC.....	151
6.1.3.	Parámetros pronósticos.....	155
<b>6.2.</b>	<b>INFLUENCIA DEL TIEMPO DE RETARDO.....</b>	<b>159</b>
6.2.1.	Correlación clínico-anatomopatológica.....	160
6.2.2.	Análisis de la técnica BSGC.....	162
6.2.3.	Parámetros pronósticos.....	164
<b>7.</b>	<b><u>CONCLUSIONES</u>.....</b>	<b>169</b>
<b>8.</b>	<b><u>BIBLIOGRAFÍA</u>.....</b>	<b>173</b>

# ÍNDICE DE ABREVIATURAS



**ADN** Ácido desoxirribonucleico

**AJCC** *American Joint Committee on Cancer*

**BAP1** *BRCA-1 associated protein-1*

**BRAF** Homólogo del gen viral B1 del sarcoma murino (del inglés: *V-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B*)

**BSGC** Biopsia selectiva del ganglio centinela

**CDK4** *Cyclin-dependent kinase 4*

**CDKN2A** *Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A*

**CGH** Hibridación genómica comparativa (del inglés: *Comparative genomic hybridization*)

**CTLA-4** *Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4*

**DeCOG** *Dermatologic Cooperative Oncology Group*

**EANM** *European Association of Nuclear Medicine*

**EGN** Estado ganglionar negativo

**EGP** Estado ganglionar positivo

**EORTC** *European Organization for Research and Treatment of Cancer*

**FISH** Hibridación in situ con fluorescencia (del inglés: *Fluorescent in situ hybridization*)

**GC** Ganglio centinela

**HMB-45** *Human Melanoma Black-45*

**HR** *Hazard ratio*

**IC** Intervalo de confianza

**ICG** Verde de indocianina (del inglés: *Indocyanine green*)

**IQR** Rango intercuartílico (del inglés: *Interquartile range*)

**KIT** Tirosina quinasa (del inglés: *Tyrosine-protein kinase*)

**LDH** Lactatodeshidrogenasa

**MAPK** Proteína quinasa activada por mitógenos (del inglés: *Mitogen-activated protein kinase*)

**MBq** Megabecquerelio

**Melanoma-A** *Melanoma Antigen recognized by T-cells-1*

**mCi** Milicurio

**MES** Melanoma de extensión superficial

**MEK** *Mitogen-activated protein kinase kinase*

**MLA** Melanoma lentiginoso acral

**MLM** Melanoma lentigo maligno

**MN** Melanoma nodular

**MSLT-I** *Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial-I*

**MSLT-II** *Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial-II*

**NCCN** *National Comprehensive Cancer Network*

**NRAS** Homólogo del oncogen viral RAS de neuroblastoma (del inglés: *V-ras neuroblastoma RAS viral oncogene homolog*)

**OR** *Odds ratio*

**PAAF** Punción-aspiración con aguja fina

**PD-1** *Programmed Death-1*

**PET** *Positron Emission Tomography*

**RT-PCR** Reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real (del inglés: *Reverse transcription polymerase chain reaction*)

**SEOM** Sociedad Española de Oncología Médica

**SES** Servicio Extremeño de Salud

**SPECT** *Single Photon Emission Computed Tomography*

**SPECT-CT** *Single Photon Emission Computed Tomography-Computed Tomography*

**TAC** Tomografía Axial Computarizada

**TD** Tiempo de demora entre realización de BSGC y linfadenectomía

**TLE** Tiempo libre de enfermedad

**TR** Tiempo de retardo entre biopsia diagnóstica del melanoma y BSGC

**TR50** Tiempo de retardo de 50 días

**TR $\leq$ 30** Tiempo de retardo menor o igual a 30 días

**TR $>$ 30** Tiempo de retardo mayor de 30 días

**TR $\leq$ 40** Tiempo de retardo menor o igual a 40 días

**TR $>$ 40** Tiempo de retardo mayor de 40 días

**TR $\leq$ 47** Tiempo de retardo menor o igual a 47 días

**TR $\leq$ 50** Tiempo de retardo menor o igual a 50 días

**TR $>$ 50** Tiempo de retardo mayor de 50 días

**T-VEC** Virus oncolítico talimogén laherparepvec





# ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS



**TABLAS**

Tabla 1.1: Definición del melanoma como tumor primario (T) según clasificación de la 8ª edición de la AJCC.....29

Tabla 1.2: Definición de ganglios linfáticos (N) según clasificación de la 8ª edición de la AJCC.....31

Tabla 1.3: Definición de metástasis a distancia (M) según clasificación de la 8ª edición de la AJCC.....33

Tabla 1.4: Márgenes de resección recomendados según el índice de Breslow.....34

Tabla 4.1: Resumen de las variables incluidas en el estudio.....78

Tabla 5.1: Resultados del modelo de regresión logística. Análisis uni y multivariante de las posibles variables predictoras de la positividad del ganglio centinela.....125

Tabla 5.2: Resultados del modelo de regresión de Cox. Análisis uni y multivariante del tiempo libre de enfermedad para la población total.....127

Tabla 5.3: Resultados del modelo de regresión de Cox. Análisis uni y multivariante de mortalidad global para la población total.....129

Tabla 5.4: Resultados del modelo de regresión de Cox. Análisis uni y multivariante de mortalidad por causa del melanoma para la población total.....131

Tabla 5.5: Resultados del modelo de regresión de Cox. Análisis uni y multivariante para tiempo libre de enfermedad en la población EGN.....132

Tabla 5.6: Resultados del modelo de regresión de Cox. Análisis uni y multivariante para mortalidad global de la población EGN.....132

Tabla 5.7: Resultados del modelo de regresión de Cox. Análisis uni y multivariante para el tiempo libre de enfermedad en la población EGP.....133

Tabla 5.8: Resultados del modelo de regresión de Cox. Análisis univariante de mortalidad global en la población EGP.....134

Tabla 5.9: Resultados del modelo de regresión de Cox. Análisis univariante para mortalidad por causa del melanoma en la población EGP.....135

**FIGURAS**

Figura 4.1: Ejemplos de imágenes planares de linfogammagrafías .....	70
Figura 4.2: Sonda detectora portátil GPS Navigator .....	72
Figura 4.3: Secuencia de la localización del GC en el acto quirúrgico.....	73
Figura 5.1: Esquema resumen de distribución de la población total según subclasificaciones....	84
Figura 5.2: Distribución de la población total en relación al sexo.....	85
Figura 5.3: Distribución de edades en la población total.....	86
Figura 5.4: Distribución de la población total para la variable “edad categorizada” .....	86
Figura 5.5: Distribución de la población total según las variables “edad” y “sexo” .....	87
Figura 5.6: Distribución pormenorizada de localización del melanoma en la población total....	88
Figura 5.7: Distribución agrupada de la localización del melanoma en la población total.....	88
Figura 5.8: Distribución de variable “índice de Breslow categorizado-1” en población total.....	89
Figura 5.9: Distribución de variable “índice de Breslow categorizado-2” en población total.....	89
Figura 5.10: Distribución de la variable anatomopatológica “nivel de Clark” en la población total.....	90
Figura 5.11: Distribución de la variable anatomopatológica “índice mitótico” del melanoma en la población total.....	90
Figura 5.12: Distribución de la presencia de variables incluidas en el informe anatomopatológico del melanoma en la población total.....	91
Figura 5.13: Tipos de migración del radiotrazador en la linfogammagrafía en la población total.....	92
Figura 5.14: Número de ganglios centinelas resecados y analizados histológicamente, en la población total.....	93
Figura 5.15: Distribución de los criterios de Rotterdam para carga tumoral en la población EGP.....	93

Figura 5.16: Esquema de medianas del tiempo transcurrido entre procedimientos.....	94
Figura 5.17: Distribución y frecuencia de los tipos de recurrencia en la población total.....	95
Figura 5.18: Distribución del tiempo a aparición de cada tipo de recurrencia en la población total.....	95
Figura 5.19: Distribución de la población clasificada por estado ganglionar para la variable “edad” .....	97
Figura 5.20: Distribución de la población clasificada por estado ganglionar para la variable “edad categorizada” .....	97
Figura 5.21: Distribución pormenorizada de la localización del melanoma en la población clasificada según estado ganglionar.....	98
Figura 5.22: Distribución agrupada de la localización del melanoma en la población clasificada según estado ganglionar.....	98
Figura 5.23: Distribución de la variable “índice de Breslow categorizado-1” en la población clasificada por estado ganglionar.....	99
Figura 5.24: Distribución de la variable “índice de Breslow categorizado-2” en la población clasificada por estado ganglionar.....	100
Figura 5.25: Distribución de la variable “nivel de Clark” en la población clasificada por estado ganglionar.....	100
Figura 5.26: Distribución de la variable anatomopatológica “índice mitótico” del melanoma en la población clasificada por estado ganglionar.....	101
Figura 5.27: Distribución de la presencia de variables en el informe anatomopatológico del melanoma en la población EGN.....	102
Figura 5.28: Distribución de la presencia de variables en el informe anatomopatológico del melanoma en la población EGP.....	102
Figura 5.29: Distribución del estado mutacional del gen BRAF en la población clasificada por estado ganglionar.....	103
Figura 5.30: Tipo de migración del radiotrazador en la linfogammagrafía en la población clasificada por estado ganglionar.....	103

Figura 5.31: Distribución de la duración del tiempo de retardo en la población total clasificada por estado ganglionar.....	104
Figura 5.32: Número de ganglios centinela resecados y analizados histológicamente, en la población clasificada por estado ganglionar.....	105
Figura 5.33: Distribución del tiempo de seguimiento de la población clasificada por estado ganglionar.....	105
Figura 5.34: Distribución de la presencia de recurrencia en la población clasificada por estado ganglionar.....	106
Figura 5.35: Distribución del tipo de recurrencia en la población clasificada por estado ganglionar.....	107
Figura 5.36: Distribución del tiempo transcurrido a la aparición de recurrencia tipo satelitosis en la población clasificada por estado ganglionar.....	108
Figura 5.37: Distribución del tiempo a la aparición de recurrencia linfática, a distancia y a primera recurrencia en la población clasificada por estado ganglionar.....	109
Figura 5.38: Distribución del tipo de mortalidad en la población clasificada por estado ganglionar.....	110
Figura 5.39: Distribución del tiempo a la aparición del evento “muerte por causa del melanoma” en la población clasificada por estado ganglionar.....	110
Figura 5.40: Distribución de la población clasificada por tiempo de retardo para la variable “sexo” .....	111
Figura 5.41: Distribución de la población clasificada por tiempo de retardo para la variable “edad categorizada” .....	112
Figura 5.42: Distribución pormenorizada de la localización del melanoma en la población clasificada por tiempo de retardo.....	112
Figura 5.43: Distribución agrupada de la localización del melanoma en la población clasificada por tiempo de retardo.....	113
Figura 5.44: Distribución de la variable “índice de Breslow categorizado-1” en la población clasificada por tiempo de retardo.....	114

Figura 5.45: Distribución de la variable “índice de Breslow categorizado-2” en la población clasificada por tiempo de retardo.....	114
Figura 5.46: Distribución de la variable “nivel de Clark” en la población clasificada por tiempo de retardo.....	115
Figura 5.47: Distribución de la variable anatomopatológica “índice mitótico” del melanoma en la población clasificada por tiempo de retardo.....	115
Figura 5.48: Distribución de la presencia de variables incluidas en el informe anatomopatológico del melanoma en la población TR≤50.....	116
Figura 5.49: Distribución de la presencia de variables incluidas en el informe anatomopatológico del melanoma en la población TR>50.....	116
Figura 5.50: Distribución del estado mutacional del gen BRAF en la población clasificación por tiempo de retardo.....	117
Figura 5.51: Tipo de migración del radiotrazador en la linfogammagrafía en la población clasificada por tiempo de retardo.....	118
Figura 5.52: Distribución de la duración del tiempo de retardo en la población clasificada según tiempo de retardo.....	118
Figura 5.53: Distribución del número de ganglios centinelas resecados y analizados histológicamente en la población clasificada por tiempo de retardo.....	119
Figura 5.54: Distribución del resultado del estado ganglionar en la población clasificada por tiempo de retardo.....	119
Figura 5.55: Distribución del tiempo transcurrido entre los eventos “diagnóstico del melanoma maligno y linfadenectomía” y “BSGC y linfadenectomía” para la población EGP clasificada por tiempo de retardo.....	120
Figura 5.56: Distribución del tiempo de seguimiento en la población clasificada por tiempo de retardo.....	121
Figura 5.57: Distribución de la presencia de recurrencia en la población clasificada por tiempo de retardo.....	122

Figura 5.58: Distribución del tipo de recurrencia en la población clasificada por tiempo de retardo.....	122
Figura 5.59: Distribución del tiempo a la aparición de recurrencia linfática, a distancia y a primera recurrencia en la población clasificada por tiempo de retardo.....	123
Figura 5.60: Distribución de los tipos de mortalidad en la población clasificada por tiempo de retardo.....	124
Figura 5.61: Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia libre de enfermedad para el total de pacientes estratificado por estado ganglionar.....	136
Figura 5.62: Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia global para el total de pacientes estratificado por estado ganglionar.....	137
Figura 5.63: Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia causa-específica para el total de pacientes estratificado por estado ganglionar.....	138
Figura 5.64: Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia libre de enfermedad para el total de pacientes estratificado por tiempo de retardo.....	139
Figura 5.65: Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia libre de enfermedad de la población EGN y la EGP estratificadas por tiempo de retardo.....	140
Figura 5.66: Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia global estratificada por tiempo de retardo para el total de pacientes.....	141
Figura 5.67: Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia global estratificada por tiempo de retardo de los pacientes EGN y los EGP.....	142
Figura 5.68: Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia causa-específica estratificada por tiempo de retardo para la población total.....	143
Figura 5.69: Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia causa-específica estratificada por tiempo de retardo para la población EGN y la EGP.....	144



# **1. INTRODUCCIÓN**

**1.1. MELANOMA MALIGNO**

**1.2. BIOPSIA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA**



## 1.1. MELANOMA MALIGNO

### 1.1.1. DEFINICIÓN

El melanoma cutáneo es una proliferación neoplásica maligna de los melanocitos. Estas células, que derivan de la cresta neural, pigmentan la epidermis y se localizan en piel, mucosas, leptomeninges y úvea. La principal función conocida de los melanocitos es producir el pigmento llamado melanina y transferirlo a los queratinocitos, que la transportan en su migración hacia las capas superficiales de la epidermis, formando la unidad melano-epidérmica encargada de proteger la piel de la acción de la radiación ultravioleta<sup>1</sup>.

### 1.1.2. EPIDEMIOLOGÍA

El melanoma representa solo un 4-5% de los cánceres de piel, aunque es el más agresivo por su capacidad de dar metástasis a distancia. Es el responsable del 80% de las muertes por cáncer cutáneo<sup>2</sup>, correspondiéndose con aproximadamente el 1-2% de todas las muertes por cáncer<sup>3</sup>.

La incidencia del melanoma se ha ido incrementando anualmente y se prevé que continuará haciéndolo<sup>4</sup>, aunque las cifras de mortalidad se han mantenido estables desde final del siglo pasado a nivel mundial, probablemente debido al mayor conocimiento y concienciación social de la población sobre esta patología, lo que conlleva un mayor número de detecciones, un diagnóstico más temprano y una disminución del tiempo que transcurre hasta la cirugía de resección.

En relación a la distribución geográfica, las mayores tasas anuales de incidencia de melanoma se observan en Australia y Nueva Zelanda, con hasta 56 y 35 casos, respectivamente, por cada 100 000 habitantes<sup>5</sup>. La incidencia de la enfermedad se incrementa a medida que nos acercamos al Ecuador, aunque en Europa ocurre lo contrario, probablemente debido al fototipo más bajo de la población del norte de Europa y a la exposición solar intensa a la que ésta se somete en periodos vacacionales. Así, la mayor incidencia anual en Europa ocurre en el norte,

con hasta 19 casos por cada 100 000 habitantes, muy superior a la del sur (10 casos por cada 100 000 habitantes) o el este de Europa con 6 casos por cada 100 000 habitantes<sup>6</sup>.

Según el informe anual “Las cifras del cáncer en España” editado por la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM)<sup>7</sup> la incidencia estimada para nuestro país en 2017 fue de 5186 para ambos sexos, siendo uno de los tumores más diagnosticado en el sexo femenino (2810), aunque muy por detrás del más frecuente que fue el cáncer de mama (26 370). La estimación de la prevalencia a los 5 años del melanoma en España en ambos sexos para el año 2017 fue de 19 741, con unas cifras de mortalidad en el año 2016 de 959 personas, siendo algo superior en el sexo masculino (537 versus 422).

### 1.1.3. ETIOPATOGENIA

El desarrollo del melanoma maligno se produce por una compleja interacción de factores que influyen no solo en la incidencia de la enfermedad, sino también en sus características clínicas y vías de señalización oncogénica por las que se desarrolla el tumor<sup>6</sup>. La identificación de estos factores es fundamental para el manejo de la enfermedad, ya que permite optimizar la prevención primaria y el diagnóstico precoz, pudiendo clasificarse en factores individuales o endógenos y ambientales o exógenos.

#### 1.1.3.1. FACTORES INDIVIDUALES

- **Factores genéticos**
  - Mutaciones heredadas: confieren una mayor susceptibilidad al melanoma. Cerca del 10% de los pacientes con melanoma presentan historia familiar. Aproximadamente, el 25-40% de estas familias tienen mutación en el gen CDKN2A<sup>8</sup>, siendo también frecuentes en BAP1 y CDK4<sup>9</sup>.
  - Alteraciones somáticas: el principal oncogén relacionado con la iniciación del melanoma es el homólogo del gen viral B1 del sarcoma murino (BRAF), y su mutación se encuentra en el 50-60% de los melanomas avanzados. Es responsable de la activación constitutiva de la vía de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) y la consecuente inducción de señales de proliferación y supervivencia celular. Las mutaciones más frecuentemente observadas en el gen BRAF tienen lugar

en el codón 600: las más comunes son V600E (identificada en el 70% de los tumores) y V600K (identificada en el 10-30% de los tumores)<sup>10</sup>. Otras alteraciones menos frecuentes se encuentran en el homólogo del oncogen viral RAS de neuroblastoma (NRAS) o en el tirosina quinasa (KIT)<sup>11</sup>.

- **Factores fenotípicos**

- Características pigmentarias: las más destacables son la pigmentación clara de la piel, el cabello rubio o pelirrojo, los ojos azules o verdes<sup>12</sup>, y la tendencia a presentar pecas y quemaduras solares con fototipos de Fitzpatrick I-II<sup>13</sup>.
- Presencia de nevus múltiples o atípicos: el riesgo de desarrollar melanoma maligno aumenta conforme crece el número de estas lesiones<sup>12</sup>.

- **Inmunosupresión**

El incremento de la incidencia de melanoma y el peor pronóstico al aumentar la edad se han atribuido a la acumulación de daño celular y a la disminución de los mecanismos de defensa inmune, como ocurre en otras neoplasias. También se ha descrito que existe una mayor incidencia de melanoma en pacientes trasplantados<sup>14</sup>.

#### 1.1.3.2. FACTORES AMBIENTALES

- **Radiación ultravioleta**

Es el mayor carcinógeno implicado en la génesis del melanoma. Tanto la exposición solar intermitente intensa como la crónica<sup>12</sup> producen daño en la piel mediante mecanismos directos e indirectos, como mutaciones de genes, inmunosupresión y estrés oxidativo<sup>15</sup>. La prevención en su exposición y el uso regular de protectores solares disminuye la incidencia de los melanomas cutáneos<sup>16</sup>.

- **Cabinas de bronceado**

Numerosos estudios han demostrado que el uso de cualquier dispositivo para bronceado se acompaña de un incremento del riesgo para el desarrollo de melanoma<sup>17</sup>.

### 1.1.4. DIAGNÓSTICO

#### 1.1.4.1. DIAGNÓSTICO CLÍNICO

El diagnóstico clínico del melanoma se basa en el reconocimiento de las características clínicas de sus formas. La utilización sistemática de los criterios clínicos resumidos en el acrónimo ABCD<sup>18</sup> (A: asimetría; B: bordes irregulares; C: coloración heterogénea; D: diámetro mayor de 6 mm) permite discriminar entre las lesiones benignas y aquellas en las que existe un cierto grado de sospecha. Posteriormente se ha sugerido ampliar el acrónimo a ABCDE, añadiendo la E por el término en inglés “*evolving*”, que hace referencia a la evolución o transformación en relación a cambios de tamaño, forma, color, síntomas o su superficie<sup>19</sup>. Habitualmente el sangrado y la ulceración son signos de enfermedad local avanzada, y no deben considerarse para el diagnóstico precoz del melanoma.

Junto con la exploración visual de la lesión, la utilización de la dermatoscopia como técnica no invasiva de epiluminiscencia, permiten un diagnóstico precoz del melanoma<sup>20</sup>. Sin embargo, ante la sospecha clínica de que la lesión a estudio sea un melanoma, la técnica de diagnóstico recomendada es su resección y posterior estudio histológico.

#### 1.1.4.2. DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO

Se distinguen cuatro formas clínico-patológicas principales de melanoma cutáneo: melanoma de extensión superficial (MES), melanoma nodular (MN), melanoma léntigo maligno (MLM) y melanoma lentiginoso acral (MLA). Se clasifican según la presencia o no de fase previa de crecimiento radial (el MN carece de ella), y en caso de tenerla, se diferencian en función del componente intraepidérmico, que puede ser pagetoide (MES) o lentiginoso (MLM y MLA)<sup>21,22</sup>. No obstante, hoy en día existe disconformidad con esta clasificación, ya que muchas lesiones presentan solapamiento de los hallazgos histopatológicos clásicos, y además carece de utilidad pronóstica por sí misma por lo que se tiende a su desuso<sup>23,24</sup>. También existen otras formas menos frecuentes, como son: el melanoma desmoplásico, el tipo animal, nevoide, spitzoide, angiotrópico o el nevus azul maligno<sup>25</sup>.

Los parámetros histopatológicos de mayor relevancia que pueden ser estudiados al realizar un examen histopatológico del melanoma son los siguientes:

- **Índice de Breslow**

Definido en 1970 por el patólogo Alexander Breslow<sup>26</sup>, el índice o espesor de Breslow proporciona información cuantitativa sobre la profundidad de invasión del tumor. Es considerado por la *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) como el factor pronóstico más importante para la supervivencia<sup>27</sup>. Mediante un micrómetro ocular, se mide en milímetros desde el estrato granuloso de la epidermis hasta lo más profundo del compromiso tumoral en las distintas capas de la piel. Si la lesión está ulcerada, la medición se realiza desde lo más superficial de la lesión donde se encuentren células de melanoma viables, hasta la profundidad del tumor.

- **Ulceración**

Se define como la combinación de los siguientes aspectos: defecto epidérmico en todo su espesor (incluidas la ausencia de capa córnea y membrana basal), evidencia de cambios reactivos (depósito de fibrina y neutrófilos) y adelgazamiento, desaparición o hiperplasia de la epidermis circundante, en ausencia de traumatismo o de un procedimiento quirúrgico reciente. Junto con el índice de Breslow, es uno de los predictores más poderosos para la supervivencia<sup>27</sup>.

- **Índice mitótico**

Se define como el número de células en mitosis en un área de 1 milímetro cuadrado. Fue incluido en la 7ª edición del Manual de Estadificación del Cáncer de la AJCC<sup>28</sup> como un criterio mayor para la estadificación y pronóstico, sustituyendo al nivel de Clark. Aunque no fue incluido en la 8ª edición de la AJCC<sup>27</sup>, múltiples estudios han demostrado la importancia de esta variable como factor pronóstico independiente para la supervivencia, tras el índice de Breslow y la ulceración<sup>29,30</sup>.

- **Niveles de Clark**

Descritos por el patólogo Wallace Clark<sup>21</sup>, detallan en forma cualitativa el nivel de invasión en las distintas capas de la piel. Desde la 6ª edición del Manual de Estadificación del Cáncer de la AJCC<sup>31</sup> ha dejado de utilizarse como criterio pronóstico, ya que este nivel de invasión es menos reproducible al realizar el estudio anatomopatológico y no refleja el pronóstico de forma tan precisa como el espesor del tumor, teniendo la menor correlación con la supervivencia respecto a las otras variables pronósticas independientes recogidas en la 7ª edición de la AJCC<sup>28</sup>. Las lesiones se clasifican en cinco niveles de profundidad:

- I: melanoma confinado al epitelio de la epidermis y/o de los anejos.
- II: melanoma que infiltra la dermis papilar.
- III: infiltra la dermis hasta el límite que separa la dermis papilar de la reticular.
- IV: infiltra la dermis reticular.
- V: alcanza la hipodermis.

- **Fase de progresión tumoral**

Se consideran dos fases de progresión o de crecimiento:

- **Fase de crecimiento radial**: aquella proliferación celular que se extiende a través de la epidermis y unión dermo-epidérmica. Se incluye también en esta fase la presencia de células tumorales en la dermis papilar que no tengan actividad mitótica.
- **Fase de crecimiento vertical**: es la continuación en tiempo y profundidad a la anterior e implica la aparición de un clon distinto al precedente, constituido por células con capacidad para proliferar en la dermis, crecer en profundidad y, eventualmente, desarrollar potencial metastásico. No obstante, no se ha demostrado que la fase de progresión tumoral sea un factor pronóstico independiente para la supervivencia<sup>32</sup>.

- **Regresión histológica**

Consiste en un área en el seno del melanoma en el que se produce una disminución o desaparición de su porción dérmica y de forma progresiva es sustituida por un estroma fibroso, linfocitos y vasos neoformados<sup>33</sup>. El significado pronóstico de la regresión es un tema controvertido, ya que algunos datos orientarían a un pronóstico favorable, al representar una respuesta inmune del paciente contra el tumor primario, lo que implicaría un efecto protector para el paciente. Pero también implicaría un peor pronóstico, al limitar la posibilidad de determinar el verdadero grosor del melanoma, lo que conllevaría a una infraestadificación del mismo. Por otra parte, también se ha sugerido que la regresión estaría asociada a una mayor vascularización del tumor, lo que podría facilitar su diseminación metastásica<sup>34</sup>.

- **Infiltrado inflamatorio**

Se trata de los linfocitos que bordean o infiltran la fase de crecimiento vertical del melanoma<sup>35</sup>. Su interés pronóstico es motivo de debate, aunque la mayoría de los autores sugieren que la existencia de un denso infiltrado se asocia a un mejor pronóstico. Este infiltrado



es considerado una respuesta inmune del huésped hacia el melanoma, siendo un predictor independiente de supervivencia y del estado ganglionar (EG)<sup>36</sup>. El problema en su cuantificación (ausente, escaso o intenso) es la variabilidad interobservador<sup>37</sup>.

- **Satelitosis microscópica**

Son nidos de células tumorales, separados del tumor primario por una capa de colágeno o grasa subcutánea. Descrita en 1981<sup>38</sup>, ha sido redefinida en la última clasificación de la AJCC<sup>27</sup>, perdiendo las medidas mínimas de tamaño o distancia referidas en ediciones anteriores. Actualmente queda incluida como un estadio III, al aparecer en la clasificación junto con las metástasis satélite (satelitosis) y las metástasis en tránsito, como consecuencia de una diseminación linfática y posiblemente angiotrópica<sup>39</sup>.

- **Invasión linfovascular**

Presencia de células tumorales en la luz de los vasos sanguíneos (invasión vascular), linfáticos (invasión linfática) o en ambos. Generalmente son considerados como factores pronósticos adversos<sup>27</sup>, siendo posible la caracterización de la invasión vascular mediante técnicas de hematoxilina-eosina<sup>40</sup> y de inmunohistoquímica para la linfática<sup>41</sup>.

- **Invasión perineural o neurotropismo**

Consiste en la infiltración neoplásica de las fibras nerviosas (invasión peri o intraneural). El impacto de su presencia en la supervivencia es motivo de debate. Algunos estudios afirman que el melanoma desmoplásico neurotrópico (variante determinada por la presencia de neurotropismo) está asociado a una menor supervivencia<sup>42</sup>, mientras que otros no obtienen asociación, a pesar de unas mayores tasas de recurrencia<sup>43</sup>.

- **Asociación con nevus melanocítico previo**

En el estudio histológico, hasta un 20% de los melanomas presentan asociación a un nevus, estando relacionado con una menor edad y localización en tronco<sup>44</sup>. Su presencia podría influir de forma positiva en la supervivencia libre de enfermedad y en una menor proporción de metástasis<sup>45</sup>, aunque otros autores no habrían encontrado diferencias en el pronóstico<sup>46</sup>.

### 1.1.4.3. NUEVAS HERRAMIENTAS PARA EL DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO

Debido a la dificultad que frecuentemente presenta el melanoma para el diagnóstico diferencial con otras lesiones, en la actualidad existen diversas técnicas que han mejorado su manejo diagnóstico:

- **Técnicas de reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real (RT-PCR) y secuenciación**

Es el principal método molecular disponible para el diagnóstico de biomarcadores en el melanoma. En los pacientes con enfermedad local avanzada o metastásica, la determinación de mutaciones en el gen BRAF es imprescindible para valorar su tratamiento con los nuevos inhibidores BRAF. También para el uso de los inhibidores de KIT se precisa de la detección de mutaciones del gen KIT.

La realización de “biopsia líquida” se utiliza para la obtención de ácido desoxirribonucleico (ADN) circulante en sangre periférica y su estudio mutacional, siendo una alternativa en los casos en los que no se disponga de biopsia del tumor o de la metástasis<sup>47</sup>.

- **Hibridación genómica comparativa basada en microarrays (matriz CGH)**

Técnica citogenética molecular empleada para la detección de cambios en el número de copias cromosómicas<sup>48</sup>.

- **Hibridación in situ con fluorescencia (FISH)**

Método diagnóstico que detecta alteraciones en el número de copias cromosómicas<sup>49</sup>.

### 1.1.5. ESTADIFICACIÓN

Basándose en el análisis de los datos de más de 46 000 pacientes, en el año 2017 se publicó la 8ª edición del Manual de Estadificación del Cáncer de la AJCC<sup>27</sup>, que comenzó a estar operativo desde el 1 de Enero del 2018. En este manual se recogieron las últimas recomendaciones para la estadificación de los melanomas cutáneos según la clasificación TNM: T para determinar la extensión del tumor primario, N para la afectación linfática y M para la diseminación hematogena a distancia. De esta manera se realiza una agrupación en estadios, presentando un pronóstico más desfavorable cuanto mayor sea el estadio, y clasificándose en

enfermedad localizada (estadio I-II), regional (estadio III) y a distancia (estadio IV), según dos tipos de estadificación: clínica y anatomopatológica.

Este manual<sup>27</sup> ha sustituido a la 7ª edición que se encontraba en uso desde 2009<sup>28</sup>, habiéndose producido importantes cambios en el mismo. A continuación, definimos cada una de las categorías y las modificaciones más importantes que se han realizado respecto a anteriores ediciones.

#### 1.1.5.1. CLASIFICACIÓN DEL TUMOR PRIMARIO (T)

Los criterios para la determinación de esta categoría son el índice de Breslow y la presencia de ulceración (Tabla 1.1).

Tabla 1.1: Definición del melanoma como tumor primario (T) según la clasificación de la 8ª edición de la AJCC<sup>27</sup>.

Categoría T	Índice Breslow	Ulceración
Tx Tumor primario no puede ser determinado	NA	NA
T0 Sin evidencia de tumor primario	NA	NA
Tis Melanoma in situ	NA	NA
T1	≤1,0 mm	Desconocida o NE
T1a	<0,8 mm	Sin
T1b	<0,8 mm	Con
	0,8-1 mm	Sin o con
T2	>1,0-2,0 mm	Desconocida o NE
T2a	>1,0-2,0 mm	Sin
T2b	>1,0-2,0 mm	Con
T3	>2,0-4,0 mm	Desconocida o NE
T3a	>2,0-4,0 mm	Sin
T3b	>2,0-4,0 mm	Con
T4	>4,0 mm	Desconocida o NE
T4a	>4,0 mm	Sin
T4b	>4,0 mm	Con

NA: No aplicable; NE: No especificado

- **Índice de Breslow:** mide el espesor del tumor primario y definirá las 4 categorías T.
  - Se modificó la clasificación para los tumores finos, denominándose ahora T1a a los tumores con índice de Breslow menor de 0,8 mm y sin ulceración, T1b a los tumores con índice de Breslow menor de 0,8 mm con ulceración, y a aquellos con índice de Breslow entre 0,8 y 1 mm ya sea con o sin ulceración.

- La medición del espesor debe registrarse con una precisión de 0,1 mm (en lugar de 0,01 mm como se planteaba en la 7ª edición de la AJCC<sup>28</sup>). Los tumores de hasta 1 mm de espesor pueden medirse con una precisión de 0,01 mm si resulta más práctico, pero posteriormente deben redondearse para registrar el espesor en un solo decimal.
- Se incluye el concepto T0 que se aplica a los casos en los que el melanoma ha regresado completamente o a los tumores metastásicos de origen desconocido.
- **Ulceración:** se considera un factor pronóstico adverso clásico y se ha mantenido en los sucesivos sistemas de clasificación. Su presencia está asociada a una “mortalidad por causa del melanoma” similar a la de los pacientes de la siguiente categoría de mayor espesor que no presentan ulceración.
- **Índice mitótico:** en la última edición de la AJCC<sup>27</sup> ha dejado de ser un criterio para la estadificación de tumores T1, ya que su estratificación utilizando el punto de corte del índice de Breslow de 0,8 mm mostró una asociación más potente en relación al pronóstico que con la utilización de la presencia o no de mitosis; no obstante, en estos tumores T1 existe una asociación con un riesgo incrementado de afectación metastásica del ganglio centinela (GC)<sup>30</sup> y sigue considerándose como un importante determinante pronóstico cuando se evalúa como rango dinámico en cualquier espesor del tumor primario<sup>29</sup>.

### 1.1.5.2. CLASIFICACIÓN DE LA ENFERMEDAD LINFÁTICA REGIONAL (N)

Documenta la afectación linfática regional y de metástasis linfáticas (Tabla 1.2).

Tabla 1.2: Definición de ganglios linfáticos (N) según la clasificación de la 8ª edición de la AJCC<sup>27</sup>.

EXTENSIÓN DE GANGLIOS LINFÁTICOS REGIONALES Y/O METÁSTASIS LINFÁTICAS		
Categoría N	Número de ganglios linfáticos regionales	Metástasis en tránsito, satelitosis y/o microsatélites
Nx	La afectación ganglionar no puede determinarse	No
N0	Ausencia de afectación ganglionar clínica/radiológica	No
N1	1 ganglio con afectación tumoral o metástasis en tránsito, satelitosis y/o microsatélites sin afectación ganglionar	
N1a	1 ganglio linfático metastásico clínicamente oculto	No
N1b	1 ganglio linfático metastásico clínicamente detectado	No
N1c	Ausencia de afectación ganglionar regional	Sí
N2	2-3 ganglios con afectación tumoral o metástasis en tránsito, satelitosis y/o microsatélites con 1 ganglio afecto	
N2a	2 o 3 ganglios linfáticos metastásicos clínicamente ocultos	No
N2b	2 o 3 ganglios linfáticos metastásicos clínicamente detectados	No
N2c	1 ganglio linfático metastásico (clínicamente oculto o detectado)	Sí
N3	≥4 ganglios con afectación tumoral o metástasis en tránsito, satelitosis y/o microsatélites con ≥2 ganglios afectados, o conglomerado adenopático con/sin metástasis en tránsito, satelitosis y/o microsatélites	
N3a	≥4 ganglios linfáticos metastásicos clínicamente ocultos	No
N3b	≥4 ganglios linfáticos metastásicos clínicamente detectados, al menos 1 clínicamente detectado, o presencia de conglomerado adenopático	No
N3c	≥2 ganglios linfáticos metastásicos (clínicamente ocultos o detectados) y/o presencia de conglomerado adenopático	Sí

- **Ganglios linfáticos regionales metastásicos**

Incluye la extensión de la afectación y el número de ganglios afectados, incorporándose dos nuevos términos para referirse a ellos:

- “Clínicamente ocultos” para aquellos con afectación microscópica detectada en la biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC) y sin evidencia clínica o radiológica de afectación regional ganglionar, siendo denominada “afectación microscópica” en la 7ª edición de la AJCC<sup>28</sup>.
- “Clínicamente detectados” para aquellos con afectación regional identificada mediante exploración clínica, radiológica o ecográfica, y generalmente (aunque no necesariamente) confirmada por biopsia, siendo denominada en la 7ª edición de la AJCC<sup>28</sup> como “afectación macroscópica”.

- **Metástasis regionales no ganglionares**

Se las considera metástasis como consecuencia de una diseminación tumoral intralinfática o posiblemente angiotrópica, y son predictoras de un pronóstico desfavorable.

Se incluyen los siguientes tipos:

- Microsatélites: metástasis microscópicas cutáneas o subcutáneas adyacentes al melanoma primario aunque separadas por estroma normal.
- Satelitosis: definida clásicamente como la metástasis cutánea y/o subcutánea clínicamente evidente localizada a menos de 2 cm del tumor primario.
- Metástasis en tránsito: metástasis cutánea y/o subcutánea clínicamente evidente localizada a más de 2 cm del tumor primario, en dirección a la región ganglionar de drenaje.

La presencia de estas lesiones está incluida en la categoría N subgrupo “c”, independientemente de su número y de que sean, o no, clínicamente ocultas o clínicamente detectadas: N1c designa a aquellos pacientes con microsatélites, satelitosis y/o metástasis en tránsito pero sin afectación linfática regional, N2c a aquellos con afectación de un ganglio y N3c a aquellos con dos o más ganglios afectados.

### 1.1.5.3. CLASIFICACIÓN DE LAS METÁSTASIS A DISTANCIA (M)

Se basa en dos factores pronósticos:

- **Localización anatómica de las metástasis** (no se considera su número): las localizaciones más frecuentes son: cerebro, pulmón e hígado. Se considera que las metástasis a piel, tejido subcutáneo, músculo y ganglios linfáticos localizados a distancia tienen un mejor pronóstico respecto al resto. Las metástasis pulmonares tienen un pronóstico “intermedio” en relación a la supervivencia, y las del sistema nervioso central son las de peor pronóstico.
- **Niveles séricos de lactatodeshidrogenasa (LDH)**: estratifican la categoría M, aunque no afectan al estadio. A pesar de que el mecanismo por el que se eleva esta isoenzima no está claro, es uno de los factores que más influyen en la respuesta, el tiempo libre de enfermedad y la supervivencia global de los pacientes en tratamiento farmacológico<sup>27</sup>.

Según estos dos factores pronósticos descritos, se realizará la clasificación de la categoría de metástasis a distancia (Tabla 1.3).

Tabla 1.3: Definición de metástasis a distancia (M) según la clasificación de la 8ª edición de la AJCC<sup>27</sup>.

CRITERIO M		
Categoría M	Localización anatómica	Nivel LDH
M0	Sin evidencia de metástasis a distancia	
M1	Evidencia de metástasis a distancia	
M1a	Metástasis a distancia en piel, tejidos blandos (incluyendo músculo) y/o ganglios linfáticos no regionales	
M1a(0)		No elevado
M1a(1)		Elevado
M1b	Metástasis pulmonares con/sin M1a	
M1b(0)		No elevado
M1b(1)		Elevado
M1c	Metástasis a distancia en órganos distintos del SNC con/sin M1a o M1b	
M1c(0)		No elevado
M1c(1)		Elevado
M1d	Metástasis en SNC con/sin M1a, M1b o M1c	
M1d(0)		No elevado
M1d(1)		Elevado

LDH: Lactatodeshidrogenasa; SNC: Sistema Nervioso Central

## 1.1.6. TRATAMIENTO

### 1.1.6.1. TRATAMIENTO DE LA LESIÓN PRIMARIA

#### 1.1.6.1.1. Biopsia

Ante la presencia de una lesión sugestiva de melanoma debe realizarse una biopsia para su estudio histológico. Esta biopsia puede ser de dos tipos:

- Incisional: se obtiene únicamente un fragmento de la lesión, aunque debe ser lo suficientemente profunda para alcanzar el fondo de la lesión y así poder medir correctamente su espesor. No presenta compromiso para futuras resecciones, pronóstico o riesgo de recurrencias<sup>50</sup>, estando indicada en lesiones mayores de 2 cm o en localizaciones donde su resección precise técnicas quirúrgicas especiales como injertos. En la medida de lo posible, deben evitarse las biopsias con sacabocados (“punch”) o mediante técnicas de rebanado, al no incluir intacta la base de la lesión<sup>51</sup>.

- Escisional: consiste en la exéresis completa de la lesión, con un margen de 1-3 mm. Es la recomendada, al permitir obtener tanto el diagnóstico como las características histológicas del melanoma<sup>52</sup>.

### 1.1.6.1.2. Tratamiento quirúrgico del melanoma primario

Tras la confirmación diagnóstica de melanoma maligno, y para reducir la posibilidad de recidiva tumoral y de enfermedad residual, debe procederse a la extirpación amplia de la lesión (en profundidad hasta la fascia subyacente), siempre teniendo en cuenta consideraciones funcionales por su localización. Actualmente los márgenes que se consideran adecuados son los recomendados por la NCCN<sup>53</sup>, dependiendo en el caso de los márgenes laterales del índice de Breslow de la lesión reseca (Tabla 1.4):

Tabla 1.4: Márgenes de resección recomendados según el índice de Breslow.

Índice de Breslow	Margen de resección recomendado
≤1 mm	1 cm
>1,0 - 2 mm	1-2 cm
>2,0 mm	2 cm

### 1.1.6.2. MANEJO DE LOS GANGLIOS LINFÁTICOS

#### 1.1.6.2.1. Biopsia selectiva del ganglio centinela

La técnica más sensible y específica para la estadificación ganglionar es la BSGC, siendo de gran valor para la toma de decisiones terapéuticas<sup>54</sup>. Esta técnica, que comentaremos más detalladamente en la segunda parte de este apartado "Introducción", permite detectar a aquellos pacientes con afectación ganglionar metastásica clínicamente oculta.

#### 1.1.6.2.2. Linfadenectomía terapéutica

A los pacientes que clínicamente se les detecte la presencia de afectación ganglionar sin evidencia de enfermedad a distancia, se les debe realizar una linfadenectomía terapéutica. Se asocia a un 30-50% de supervivencia a los 5 años, dependiendo de: el número de ganglios



linfáticos afectos, la presencia de extensión extracapsular y factores de riesgo en la lesión primaria, como el índice de Breslow o la ulceración<sup>53</sup>.

#### 1.1.6.3. TRATAMIENTO DE LA RECURRENCIA LOCOREGIONAL

- **Melanoma persistente**

Es consecuencia de una escisión incompleta y debe considerarse una nueva escisión, con unos márgenes similares a los realizados con una lesión primaria. Además, puede valorarse la realización de una BSGC. El tratamiento adyuvante debe establecerse según el estadio de la recurrencia. En caso de que los márgenes no permitan una re-escisión, las opciones de tratamiento incluyen quimioterapia regional, radioterapia o inmunoterapia<sup>53,55</sup>.

- **Metástasis local, en tránsito y satelitis**

Estos pacientes suelen tener un pronóstico desfavorable, siendo frecuente la aparición de metástasis a distancia. El objetivo del tratamiento de estas lesiones es mantener un control local de la enfermedad. Para ello debe intentarse, en primer lugar, la resección de las mismas. Puede considerarse también la administración de terapia sistémica, y en el caso de ser múltiples, inoperables y localizadas en un miembro, está indicada la quimioterapia con perfusión o infusión de miembro aislado con o sin hipertermia. Lesiones en otras localizaciones pueden tratarse con inyecciones intralesionales de interleukina-2 o el virus oncolítico talimogén laherparepvec (T-VEC), radioterapia, electroquimioterapia, crioterapia o laser CO<sub>2</sub><sup>53,55-57</sup>.

- **Afectación linfática regional**

Está indicada la realización de linfadenectomía, pudiendo administrarse tratamiento sistémico, asociarse radioterapia (si no se había administrado previamente)<sup>58</sup> o tratamientos intralesionales con T-VEC en casos irresecables<sup>53</sup>.

#### 1.1.6.4. TRATAMIENTO SISTÉMICO ADYUVANTE/ENFERMEDAD DISEMINADA

Actualmente, la indicación para la terapia sistémica puede ser tanto como tratamiento adyuvante en lesiones resecaadas como tratamiento de lesiones irresecables o en enfermedad metastásica a distancia.

Durante muchos años se utilizó interferón alfa a altas dosis como tratamiento adyuvante, aunque en la actualidad no se recomienda su uso al ser menos efectivo y peor tolerado que las nuevas terapias dirigidas y la inmunoterapia<sup>53</sup>.

- **Terapias dirigidas**

Se utilizan inhibidores específicos que bloquean la señalización de la vía oncogénica MAPK. Para ello se requerirá previamente el estudio mutacional del tumor, que puede realizarse sobre material en parafina del tumor primario o biopsia de la metástasis, e incluirá la detección de las mutaciones más frecuentemente descritas. El 40-50% de los pacientes con melanoma presenta mutaciones en el gen BRAF, que al estar activado es capaz de estimular la proliferación celular e inhibir la apoptosis<sup>59</sup>. Los tratamientos que se emplean actualmente como inhibidores de BRAF son el Vemurafenib y el Dabrafenib, y como inhibidores de MEK, quinasa que fosforila y activa la vía MAPK, se utilizan el Trametinib y el Cobimetinib<sup>60</sup>.

- **Inmunoterapia**

Son moduladores de respuesta inmunológica. Los principales inmunomoduladores son anticuerpos monoclonales que bloquean distintas moléculas de los puntos de control inmunológicos (los llamados “*checkpoints*”): CTLA-4 (*Cytotoxic T-lymphocyte-associated Antigen 4*) y PD-1 (*Programmed Death-1*). Destacan el Ipilimumab (anticuerpo anti CTLA-4) y el Nivolumab y Pembrolizumab (anticuerpos monoclonales anti PD-1)<sup>61</sup>.

Para el tratamiento de melanomas metastásicos irreseccables de localización cutánea, subcutánea o ganglionar se han iniciado recientemente, con prometedores resultados, el uso de virus oncolíticos vivos modificados genéticamente que se administran directamente en el tumor<sup>62</sup>. El T-VEC ha sido el primero en ser aprobado, consiguiendo además un efecto a distancia, al activar el sistema inmune. Actualmente se está estudiando en diversos ensayos clínicos y valorando su combinación con otros tratamientos de inmunoterapia<sup>63</sup>.

En la enfermedad metastásica, la radioterapia puede ser utilizada como tratamiento paliativo en dolores óseos o compresiones medulares por metástasis óseas<sup>64</sup>. A pesar de que las metástasis cerebrales conllevan un pronóstico muy desfavorable, está indicada la realización de radiocirugía estereotáxica o radioterapia estereotáxica fraccionada<sup>53</sup>, pudiéndose asociar a terapias dirigidas e inmunoterapia<sup>64,65</sup>. Ante la presencia de múltiples metástasis cerebrales, la

radioterapia holocraneal es una opción terapéutica restringida a aquellos pacientes sin otras opciones sistémicas<sup>65</sup>.

### 1.1.7. SEGUIMIENTO

El principal objetivo del seguimiento es la detección precoz de recurrencias o de la aparición de nuevos melanomas, ya que estos pacientes presentan un riesgo incrementado de desarrollar un segundo melanoma<sup>66,67</sup>. Aunque no existe consenso sobre la frecuencia o las técnicas diagnósticas a utilizar, se suele realizar un seguimiento más estrecho en los 5 primeros años tras el diagnóstico, ya que el 80% de las recurrencias ocurren en los 3 primeros años, y así poder establecer precozmente un tratamiento, mejorando el control de la enfermedad y la supervivencia<sup>68</sup>.

El paciente debe aprender a realizarse una autoexploración para detectar lesiones pigmentadas sospechosas, complementándose con la exploración clínica y la realización de técnicas de imagen, siendo la ecografía la más indicada para el diagnóstico de afectación ganglionar regional, y la tomografía por emisión de positrones (PET) si existe sospecha de afectación metastásica a distancia<sup>69</sup>.

## 1.2. BIOPSIA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA (BSGC)

### 1.2.1. DEFINICIÓN

Uno de los factores pronósticos más importantes de los tumores malignos, incluido el melanoma, es su extensión a las cadenas ganglionares linfáticas regionales. Una correcta estadificación tumoral regional es, por ello, esencial en la planificación del tratamiento y en la toma de decisiones del paciente oncológico.

La diseminación tumoral por vía linfática no se produce al azar, sino que es un proceso ordenado que comienza en el primer ganglio linfático encargado de recoger directamente la linfa procedente del tumor primario. A este ganglio se le denomina ganglio centinela, y por definición, se le considera como cualquier ganglio conectado directamente con el tumor

primario mediante un vaso linfático aferente. Es crítico conocer si el GC está invadido por las células tumorales. Pues, en caso negativo, predice con seguridad la negatividad del resto de ganglios de dicha región linfática. Esto permite evitar la realización de una linfadenectomía total y, por consiguiente, la morbilidad que ésta lleva asociada.

La BSGC es un procedimiento multidisciplinario quirúrgico mínimamente invasivo, que tiene como objetivo identificar, localizar, extraer y analizar únicamente el GC. Permite realizar una estadificación linfática exacta minimizando los posibles efectos secundarios de la cirugía.

Existen dos métodos validados para la realización de la BSGC, los basados en radiofármacos y los que utilizan colorantes, si bien ambos pueden combinarse en caso necesario.

### 1.2.2. DESARROLLO HISTÓRICO: COLORANTES Y RADIOFÁRMACOS

La BSGC fue introducida en 1992 por Morton et al.<sup>70</sup> y consistía en la inyección peritumoral, antes del inicio de la cirugía, de un colorante azul capaz de migrar a través del sistema linfático, de tal forma que permitía al cirujano distinguir y seguir los canales linfáticos teñidos desde el tumor hasta el GC, que también se teñía en mayor o menor grado, permitiendo su localización y ser posteriormente biopsiado. Las limitaciones de los colorantes radicaban en el riesgo de reacciones anafilácticas (entre otros posibles efectos secundarios), la incapacidad de obtener imágenes prequirúrgicas, la posibilidad de no identificación de los canales linfáticos y la tinción progresiva de los ganglios no centinelas de la cadena correspondiente (también llamados ganglios secundarios), lo cual dificultaba la discriminación entre éstos y el GC. El uso de colorantes presenta además los inconvenientes de la pigmentación cutánea permanente en la zona de inyección y la posibilidad de afectar la visualización del campo quirúrgico, limitando por ello su uso en algunas neoplasias, generalmente en cabeza y cuello.

Poco después se comienzan a ensayar radiofármacos de partículas coloidales marcados con Tecnecio-99m (<sup>99m</sup>Tc), que además de migrar eficientemente por el sistema linfático, permiten obtener imágenes gammagráficas de utilidad para la planificación prequirúrgica e intraquirúrgica (linfogammagrafía), y carecen de efectos secundarios. La introducción de los radiofármacos en la técnica de la BSGC tuvo lugar en el año 1993<sup>71</sup> con el uso del sulfuro coloidal. Desde el lugar de inyección, el radiofármaco drena por los vasos linfáticos y se acumula en el GC al ser fagocitado por los macrófagos ganglionares. Este proceso fisiológico otorga un lapso de

tiempo adecuado, no solo para la detección del GC con las imágenes gammagráficas, sino también para su localización intraoperatoria.

Desde entonces, diversos radiofármacos han sido empleados para la realización de la linfogammagrafía, siendo el tamaño de la partícula utilizada la principal diferencia entre ellos. Las partículas pequeñas alcanzan más rápidamente el GC, pero tienden a progresar y acumularse en los ganglios secundarios, mientras que las más grandes presentan un drenaje más lento, aunque muestran escasa captación por los ganglios secundarios. No obstante, en profesionales experimentados no existe diferencia en el resultado clínico al utilizar diferente tamaño de partícula<sup>72</sup>, y su elección está normalmente condicionada por su disponibilidad. Así, los nanocoloides de albúmina humana (Nanocoll®) son los de uso más extendido en Europa, con al menos el 95% de partículas con tamaño menor de 80 nm, que presenta una aceptable relación entre la velocidad de la migración y el grado de retención de los ganglios linfáticos. El sulfuro coloidal se utiliza en Estados Unidos, mientras que el sulfuro de antimonio coloidal es empleado en Australia y Canadá, todos ellos marcados con <sup>99m</sup>Tc.

Se ha desarrollado otro radiofármaco, el <sup>99m</sup>Tc-tilmanocept (Lymphoseek®), con un mecanismo de acción diferente. Se trata de un dextrano conjugado con moléculas de manosa, que se une específicamente a los receptores de membrana CD206 situados en la superficie de los macrófagos presentes en los ganglios linfáticos<sup>73</sup>. Tiene las ventajas de su rápida migración al GC, debido a su pequeño tamaño molecular, y su baja acumulación en los ganglios secundarios<sup>74</sup>, siendo particularmente útil en melanomas de cabeza y cuello<sup>75</sup>.

Se está estudiando un tercer método de detección del GC basado en el uso de colorantes fluorescentes, fundamentalmente el verde de indocianina (ICG). Sus ventajas principales son que, inyectado inmediatamente antes del inicio de la cirugía, permite un mapeo linfático en tiempo real gracias al uso de cámaras que detectan la radiación próxima al infrarrojo, y que no interfiere en el campo quirúrgico al ser invisible al ojo humano<sup>76</sup>. No obstante, este método presenta algunos inconvenientes como la imposibilidad de realizar un mapeo linfático preoperatorio para planificar la cirugía, su elevada velocidad de circulación linfática, con lavado rápido de los canales y de los ganglios, y la dificultad para la detección de GC localizados en profundidad por la baja penetración tisular (1-1,5 cm) de la radiación fluorescente<sup>77</sup>.

También se están ensayando trazadores híbridos radioactivos y fluorescentes, como el ICG-<sup>99m</sup>Tc-nanocoloide<sup>78,79</sup>. Con estos trazadores se combinan las ventajas de ambas técnicas: se obtienen imágenes antes y durante la cirugía, incrementa el tiempo de permanencia del ICG en

el sistema linfático (ya que adquiere las propiedades de migración linfática del radiocoloide), y facilita una mejor identificación de los ganglios próximos a la zona de inyección, siendo de gran utilidad en melanomas de cabeza y cuello<sup>79</sup>. Es probable que el uso de trazadores híbridos se convierta en el estándar dentro de pocos años para todos los procedimientos de BSGC<sup>80</sup>.

En el momento actual, el consenso internacional es que la BSGC se realice con radiofármacos, combinados o no con colorantes azules según el grado de experiencia del cirujano. Existen varios colorantes comercializados, como el azul de isosulfán (Lymphazurin®), el azul vital (patent blue V® o Alphazurine 2G®), el azul de metileno o el feniloxalato (Cyalume®)<sup>81</sup>.

### 1.2.3. DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA

La BSGC es un procedimiento multidisciplinar que precisa la estrecha colaboración del médico nuclear, el cirujano y el anatomopatólogo, al basarse clásicamente en tres aspectos fundamentales: la realización de una linfogammagrafía previa al abordaje quirúrgico para realizar un mapeo linfático, la utilización de sondas detectoras durante el acto operatorio para la localización del/los GC, y el posterior análisis anatomopatológico de los ganglios extirpados.

#### 1.2.3.1. RADIOFÁRMACOS Y PARÁMETROS DE INYECCIÓN

El radiofármaco debe inyectarse en la periferia de la lesión a una distancia de 0,1-1 cm, ya sea del melanoma maligno o, más habitualmente, alrededor de la cicatriz resultante de la biopsia escisional realizada previamente<sup>82</sup>. Deben evitarse distancias mayores, ya que se corre el riesgo de infiltrar zonas ambiguas de drenaje y visualizar bases ganglionares no relacionadas con el drenaje real del tumor. La recomendación es realizar inyecciones intradérmicas, por la mayor densidad de conductos linfáticos en la superficie cutánea con respecto a las capas más profundas. Generalmente se realizan cuatro inyecciones, siendo preferible un número de dos para los tumores localizados en extremidades por su rápido flujo linfático. Actualmente no existe consenso o protocolo sobre la actividad radiactiva o el volumen del radiotrazador a inyectar, aunque se recomienda una dosis de hasta 120 MBq en función de que el protocolo que se va a realizar sea en uno o dos días. El volumen oscila entre 0,1 y 0,2 ml por inyección, en función de la localización del melanoma<sup>83</sup>.

Como acabamos de mencionar, la técnica de la BSGC se puede realizar en protocolo de un día (en el mismo día de la inyección del radiotrazador tiene lugar el acto quirúrgico) o en protocolo de dos días (la cirugía se realiza al día siguiente de la administración del radiotrazador). No existen diferencias en la tasa de detección de los GC<sup>84</sup>, estando su elección generalmente basada en la logística y planificación de las técnicas entre los distintos servicios implicados.

#### 1.2.3.2. ADQUISICIÓN DE IMÁGENES: LINFOGAMMAGRAFÍA

La linfo gammagrafía consiste en una serie de imágenes del sistema linfático que se obtienen gracias a un dispositivo llamado gammacámara, presente en todos los servicios de Medicina Nuclear y que transforma la radiación gamma emitida por los radiofármacos en imágenes diagnósticas. En la mayoría de los centros, estas imágenes se realizan previamente a la cirugía, como método de planificación de la misma. Los principales objetivos de las linfo gammagrafías son<sup>85</sup>:

- Localizar el territorio linfático de drenaje.
- Determinar el número de GC.
- Diferenciar los ganglios que se encuentran en la vía de drenaje directa e indirecta.
- Localizar los GC que se encuentren fuera del territorio de drenaje habitual.
- Marcar sobre la piel la localización del GC.

Dependiendo de la localización del melanoma, el drenaje a las regiones ganglionares puede ser variable, por lo que la adquisición de imágenes en la gammacámara debe cubrir todas las posibles áreas de migración. La adquisición de las primeras imágenes secuenciales debe realizarse inmediatamente tras la administración del trazador, con el paciente situado en decúbito supino o prono (dependiendo de la localización del tumor primario) en la camilla de la gammacámara. Se debe intentar, dentro de lo posible, que la colocación del paciente durante la adquisición de imágenes sea lo más similar a la que tendrá durante el acto quirúrgico<sup>86</sup>. Estas imágenes dinámicas son especialmente convenientes en melanomas de cabeza y cuello, para evitar que un rápido drenaje y la superposición de estructuras dificulte la identificación del GC. La guía de la *European Association of Nuclear Medicine* (EANM)<sup>83</sup> recomienda una adquisición de una imagen por minuto, con una duración total de 10-20 minutos.

Inmediatamente después deben obtenerse imágenes estáticas sobre la región linfática a estudio, de unos 3-5 minutos de duración, recomendándose su realización en diversas

proyecciones para identificar correctamente dichos ganglios, ya que la imagen gammagráfica es bidimensional. Es recomendable realizar imágenes planares tardías a las 2-3 horas de la inyección del trazador para visualizar posibles flujos linfáticos lentos a otras áreas, asegurar la correcta identificación del GC y realizar el marcaje en piel de los GC visualizados. Tanto las imágenes dinámicas como las estáticas precoces son de gran importancia para la detección de los canales linfáticos de drenaje desde la zona de inyección, ya que son los que mejor definen gammagráficamente a los GC.

La compleja anatomía de determinadas zonas, como la cabeza y el cuello, puede hacer que la localización del GC con un estudio gammagráfico convencional sea complicada, al no permitir visualizar las estructuras de forma tridimensional o con referencias anatómicas, lo cual es más relevante cuando se trata de patrones inesperados de drenaje. Por otro lado, cuando el GC está muy cercano a la inyección del trazador, ésta puede camuflar la captación correspondiente al mismo, ya que el 95% de la actividad inyectada permanece en la zona de inyección, el llamado fenómeno del “*shine-through*”<sup>87</sup> que dificulta la identificación del GC. En estos casos, puede ser necesario complementar las imágenes linfogammagráficas con estudios tridimensionales tomográficos SPECT (*Single Photon Emission Computed Tomography*) o híbridos SPECT-CT (*Single Photon Emission Computed Tomography-Computed Tomography*) combinando la información morfológica de la tomografía axial computarizada (TAC), en aquellos centros que cuenten con esta equipación. Las indicaciones del SPECT-CT serían<sup>88</sup>:

- Localización de ganglios en áreas con anatomía compleja y elevado número de ganglios, como en el territorio de cabeza y cuello o en casos con drenajes inesperados en las imágenes planares.
- Localización anatómica y detección de GC adicionales en áreas de drenaje linfático profundo como pelvis, abdomen o mediastino.
- Detección de GC no visualizados o mal definidos en las imágenes planares. Debido a la corrección por atenuación tisular, el SPECT-CT es generalmente más sensible que las imágenes planares y puede ser particularmente útil en pacientes obesos.



### 1.2.3.3. INTERPRETACIÓN DE LA LINFOGAMMAGRAFÍA

El número de GC detectados puede variar desde uno hasta varios, por lo que es importante distinguirlos de los ganglios secundarios. Los criterios principales para la identificación de los GC son:

- La visualización de los canales linfáticos.
- El momento de aparición en las imágenes gammagráficas.
- El área de drenaje linfático.
- La intensidad de la captación de los ganglios linfáticos.

En base a estos criterios, los ganglios linfáticos pueden clasificarse en tres categorías<sup>88</sup>:

- Definitivamente GC
  - Ganglios con vía linfática propia directa: cada GC tiene su propio canal linfático procedente del tumor primario.
  - Ganglio único de aparición precoz-tardía en una región linfática concreta.
- Alta probabilidad de ser GC (a pesar de no visualizarse el canal linfático propio)
  - Ganglio no único que aparece entre el sitio de inyección y el primer GC de la región linfática de drenaje (llamado también ganglio en tránsito).
  - Ganglio no único de aparición temprana y captación creciente en las imágenes tardías visualizado en otras estaciones linfáticas.
- Baja probabilidad de ser GC
  - Ganglios subsecuentes a los criterios anteriormente descritos (habitualmente segundo y tercer escalón en la progresión linfática, y de menor captación).
  - Esta clasificación es de utilidad en el acto quirúrgico, ya que los ganglios linfáticos correspondientes a las dos primeras categorías deben ser localizados y extirpados en el quirófano para su estudio anatomopatológico.

Tras visualizar el o los GC en las imágenes adquiridas en la gammacámara, se realiza una marca externa en la piel con un rotulador de tinta indeleble, correspondiente a la situación aproximada de cada ganglio. Estas señales de referencia servirán como guía para el abordaje quirúrgico y facilitarán la localización de los ganglios en la cirugía. Las marcas deben hacerse en dos proyecciones para que el médico portador de la sonda detectora en el quirófano pueda determinar la profundidad a la que se encuentra localizado el ganglio<sup>86</sup>, como explicaremos en el siguiente apartado.

Es infrecuente no localizar el GC en la linfogramagrafía, aunque en estos casos se puede realizar un ligero masaje sobre la zona de punción durante unos minutos, adquirir imágenes gammagráficas más tardías (4-24 horas) o complementar con un estudio SPECT-CT, o incluso llevar a cabo una nueva reinyección del radiofármaco<sup>87</sup>. Algunos autores recomiendan no excluir el examen con la sonda detectora en el quirófano ya que, hasta en un tercio de los casos, puede encontrarse el GC. La ausencia de detección del GC se ha relacionado con varios factores<sup>89</sup>:

- Reducción del tejido ganglionar normal:
  - Metaplasia grasa: la sustitución del tejido ganglionar normal por tejido graso impediría la retención del radiotrazador, debido a la reducción del número de macrófagos ganglionares. Ocurre en pacientes obesos<sup>90</sup> y de edad avanzada<sup>91</sup>.
  - Metástasis ganglionares: si el GC se encuentra ya metastatizado, también se reducen los macrófagos ganglionares y con ello la retención del radiotrazador. No obstante, en los pacientes con melanoma la no visualización del GC en la linfogramagrafía no se asocia a mayores tasas de metástasis ganglionares<sup>89</sup>.
- Edad: a mayor edad, menor porcentaje de identificación del GC. Ello se atribuye al enlentecimiento del drenaje linfático derivado del envejecimiento<sup>92</sup>, así como a un incremento de la citada metaplasia grasa<sup>93</sup>.
- Índice de masa corporal: el panículo graso aumenta la distancia de la lesión al detector, por lo que se produce una atenuación de los fotones gamma provenientes de la desintegración que reduce la tasa de conteo intraoperatoria que realiza la sonda detectora.
- Localización: se han descrito menores tasas de identificación del GC en los melanomas de cabeza y cuello<sup>94</sup>, hecho que puede ser explicado, en parte, por la mayor incidencia de esta localización en edades más avanzadas<sup>89</sup>, el drenaje linfático más lento y la compleja anatomía de esta zona, así como el fenómeno “*shine-through*” comentado previamente.
- Cirugías previas en zonas cercanas al tumor o en las zonas de drenaje del GC: se debe a la disrupción del drenaje linfático normal, que impide la llegada del radiofármaco al GC.

En todo caso, está descrito que la ausencia de visualización del GC no está asociada a mayores tasas de afectación linfática<sup>89</sup> o de mortalidad por causa del melanoma<sup>94,95</sup>.

#### 1.2.3.4. DETECCIÓN QUIRÚRGICA DEL GANGLIO CENTINELA

Las señales de referencia que se realizaron en la piel tras el estudio gammagráfico indicarán la zona del abordaje quirúrgico. Antes de la incisión es recomendable comprobar mediante la sonda detectora que estas señales se corresponden con las áreas de mayor contaje radiactivo. Tras realizar la incisión quirúrgica, se rastrea de forma cuidadosa la zona, guiando al cirujano hacia la localización del máximo contaje radiactivo correspondiente al GC. Una vez extraída la pieza quirúrgica, se comprueba que corresponde a una estructura ganglionar, se verifica de nuevo su contaje y la ausencia de actividad radiactiva residual en el lecho quirúrgico.

Para la detección intraoperatoria del GC se pueden emplear distintos dispositivos:

- **Sonda de detección**

Detector portátil de radiación gamma de elevada sensibilidad, utilizado para la identificación de los ganglios linfáticos radiactivos. En tiempo real aporta información numérica del contaje radiactivo y una señal acústica de tono y frecuencia proporcional a dicho contaje.

Se han desarrollado recientemente las llamadas sondas opto-nucleares, que detectan la señal de los componentes radioactivos y fluorescentes, pudiendo realizarse la detección de esta última en condiciones de luz ambiental<sup>96</sup>.

- **Gammacámara portátil**

La incorporación de un elemento visual a la detección del GC en el quirófano puede facilitar el procedimiento, complementando a la sonda de detección externa. En el campo quirúrgico, esta gammacámara tiene la ventaja de mostrar una imagen en tiempo real de los hallazgos de la linfogammagrafía<sup>97</sup>. Puede permitir la resección de GC adicionales, al localizar de forma precisa ganglios situados en áreas anatómicamente complejas<sup>98</sup>, o localizados adyacentes a la zona de inyección del radiotrazador (el fenómeno “*shine-through*”), que pueden no ser detectados si se utiliza únicamente la sonda de detección<sup>99</sup>.

- **Free-hand SPECT**

Recientemente se ha desarrollado un sistema de visualización en tres dimensiones para la detección intraoperatoria del GC que combina una sonda gamma, una cámara óptica, dos detectores infrarrojos y marcadores ópticos que se sitúan en el paciente y en la sonda detectora. Tras realizar un rastreo en los tres ejes de la zona a estudiar, obtiene una reconstrucción tridimensional de la actividad detectada aportando información de la profundidad a la que se

encuentra la lesión a extirpar<sup>100,101</sup>. Se está utilizando con resultados prometedores en el melanoma<sup>102</sup>, así como en el cáncer de mama<sup>103</sup> y en la localización intraoperatoria de adenomas paratiroideos<sup>104</sup>.

Actualmente no existe consenso sobre el número de ganglios o la radioactividad mínima que deben presentar para ser resecaados. Muchos autores suelen utilizar la regla del 10%, que consiste en tomar como referencia un registro de actividad superior al 10% del GC de mayor contaje<sup>105</sup>, aunque diversos autores con unas cifras del 20%<sup>106</sup>, 30%<sup>107,108</sup> e incluso del 33%<sup>109</sup>, obtienen unos resultados óptimos para la detección del GC, con un menor coste y morbilidad del procedimiento. No obstante, se recomienda que si en la linfogammagrafía o con la sonda intraoperatoria se visualiza más de un ganglio en una región, dentro de lo posible debe realizarse su extirpación para evitar falsos negativos<sup>86</sup>.

### 1.2.4. ESTUDIO HISTOLÓGICO DEL GANGLIO CENTINELA

El análisis anatomopatológico del GC es la prueba de referencia para determinar la presencia de metástasis linfática. En la actualidad no se realizan estudios intraoperatorios del material congelado por su baja precisión<sup>110</sup>, pues su sensibilidad para la detección de metástasis en melanoma es tan solo un 47%<sup>111</sup>. El estudio debe realizarse en material procesado de rutina, fijado en formol e incluido en parafina, para permitir la posterior realización de técnicas inmunohistoquímicas. Un problema actual es la ausencia de un consenso establecido para el análisis histológico del GC, por lo que cada grupo diseña su propio protocolo a seguir.

El grupo de melanoma de la EORTC (*European Organization for Research and Treatment of Cancer*) recomienda el método histopatológico descrito por Cook et al.<sup>112</sup> que consiste en el estudio de todo el ganglio mediante secciones seriadas y tinciones con hematoxilina-eosina e inmunohistoquímica cada 50 micras hasta agotar el ganglio. Se trata de un método que requiere gran cantidad de recursos y que, además, no garantiza la identificación de todas las células tumorales.

La Sociedad Española de Anatomía Patológica en su Libro Blanco del 2017<sup>110</sup> recomienda utilizar el protocolo de la Unidad de Melanoma de Sydney<sup>113</sup>, que consiste en incluir un mínimo de cuatro rodajas del ganglio y realizar, al menos, cuatro cortes histológicos de las mismas. Se tiñen el primer y el último corte con hematoxilina-eosina y los intermedios se procesan para realizar el estudio inmunohistoquímico.

La guía actual de la AJCC<sup>27</sup> establece que la presencia de una sola célula tumoral es suficiente para considerar un GC como positivo. Por ello, es imprescindible la utilización de técnicas inmunohistoquímicas, ya que pueden incrementar hasta en un 45% la sensibilidad para la detección de metástasis<sup>114</sup>. Las más utilizadas son:

- Anticuerpo de la proteína S100 citoplasmática (anti-S100 policlonal) con una alta sensibilidad (93-100%) para la detección de células de melanoma, aunque poco específico<sup>115</sup>, por lo que debe emplearse conjuntamente con otros anticuerpos.
- Cóctel de anticuerpos melanocíticos, generalmente HMB-45, Melan-A y antitirosinasa, que presentan mayor sensibilidad que si se utilizan individualmente.

La Sociedad Española de Anatomía Patológica en su Libro Blanco del 2017<sup>110</sup> también recomienda los datos que debe incluir el informe del estudio anatomopatológico del GC:

- Número de ganglios centinelas recibidos y tamaño.
- Número de ganglios afectados por el tumor.
- Localización de la metástasis en el ganglio (subcapsular, parenquimatosa o mixta).
- Extensión de la lesión tumoral.
- Presencia o ausencia de extensión extracapsular.

Para describir la extensión del foco tumoral en el GC, se recomienda utilizar la clasificación de Rotterdam<sup>116</sup> por ser un sistema sencillo y reproducible para determinar la carga tumoral, y que ha demostrado tener valor pronóstico. Mide el diámetro máximo del foco tumoral de mayor tamaño en décimas de milímetro, clasificando las metástasis en tres categorías:  $\leq 0,1$  mm, 0,1-1 mm y  $>1$  mm.

Al igual que en el cáncer de mama, se han ensayado métodos moleculares basados en la RT-PCR para el análisis del GC, cuya ventaja fundamental es que permiten valorar el ganglio en su totalidad, lo cual aumenta la sensibilidad de detección de pequeñas cargas tumorales que podrían pasar desapercibidas en el análisis convencional. Pese a que, en un principio, esta técnica mostró buenos resultados como factor pronóstico en cuanto a recurrencias y supervivencia global<sup>117</sup>, estos datos no se confirmaron posteriormente, por lo que actualmente no se recomienda realizar esta técnica de forma rutinaria<sup>110</sup>. Es probable que su mayor limitación sea que no existe un marcador molecular universal que permita analizar de forma fiable la presencia de células tumorales metastásicas en el GC, a diferencia de lo que ocurre con la citoqueratina 19 que se expresa en la casi totalidad de los cánceres de mama<sup>118</sup>.

### 1.2.5. PROTECCIÓN RADIOLÓGICA

La exposición a la radiación de los pacientes a los que se realiza la técnica de la BSGC y del personal sanitario que participa en la misma, ha sido bien documentada tanto en melanoma como en otros tumores. Existe variabilidad según la dosis del radiotrazador administrada al paciente y el tiempo transcurrido desde su inyección hasta el acto quirúrgico pero, en cualquier caso, es una exposición muy baja<sup>119,120</sup> y por debajo de los límites fijados por la Comisión Internacional de Protección Radiológica<sup>121</sup>. Por ello, no es necesario que se adopte ninguna medida especial de radioprotección durante el procedimiento (no son necesarios delantales ni gafas plomadas, etc.), y tampoco es necesario el control dosimétrico personal (ni superficial ni profundo) ni de área.

### 1.2.6. INDICACIONES DE LA BSGC EN MELANOMA

Según las recomendaciones de la SEOM<sup>57</sup> y la EANM<sup>83</sup>, la BSGC estaría indicada en pacientes con melanoma maligno invasivo localizado, según diferentes características histopatológicas del mismo:

- Melanomas con índice de Breslow mayor de 1 mm. Para pacientes con índice de Breslow entre 1 y 4 mm, el riesgo de afectación linfática metastásica es de 8-30%, incrementándose al 40% con espesores mayores de 4 mm<sup>84</sup>.
- Melanomas con índice de Breslow entre 0,76 y 1 mm con algún factor de riesgo (presencia de ulceración, edad menor de 40 años, nivel de Clark de IV, presencia de regresión o índice mitótico  $\geq 1$ ). El riesgo de afectación linfática metastásica de los pacientes con este índice de Breslow es de aproximadamente el 5%, reduciéndose al 1%<sup>84</sup> en los espesores menores o igual a 0,75 mm, por lo que en ellos no estaría indicada la realización de esta técnica.

Con la publicación de la 8ª edición del manual para la clasificación del melanoma de la AJCC<sup>27</sup>, la *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN) publicó la nueva guía de práctica clínica para el manejo del melanoma<sup>53</sup> donde varían las recomendaciones en diversos aspectos:

- La BSGC no estaría recomendada si el riesgo de afectación metastásica del GC es <5%: estadio IA, T1a (índice de Breslow <0,8 mm sin ulceración), a menos que existan dudas

razonables sobre si se ha realizado una adecuada valoración histológica (márgenes profundos afectos).

- Discutir y considerar la BSGC cuando el riesgo de positividad del GC es 5-10%: estadio T1a con índice de Breslow <0,8 mm y otros rasgos adversos (muy alto índice mitótico  $\geq 2$  mitosis/mm<sup>2</sup> [especialmente en jóvenes], invasión linfovascular o combinación de varios), o estadio IB, T1b (índice de Breslow <0,8 mm con ulceración, o índice de Breslow 0,8-1 mm con o sin ulceración).
- Ofrecer la BSGC en los estadios IB (T2a) y II (índice de Breslow >1 mm, N0).

De entre las contraindicaciones para la realización de la técnica de la BSGC destacaríamos:

- Mal estado general de salud, enfermedad concurrente grave, falta de colaboración o disconformidad por parte del paciente.
- Diseminación conocida: la diseminación sistémica de la enfermedad o las metástasis ganglionares clínicas o ecográficamente aparentes (preferiblemente con confirmación por punción-aspiración con aguja fina [PAAF]). Las exploraciones prequirúrgicas con ecografía pueden ser útiles para evitar posibles casos de afectación masiva ganglionar que produzcan falsos negativos en la localización del GC por una alteración del drenaje linfático<sup>84</sup>.
- Escisión amplia previa del tumor primario: el flujo linfático del tumor primario puede haber cambiado considerablemente y por ello el resultado del GC no es fiable<sup>122</sup>.

### 1.2.7. COMPLICACIONES DE LA BSGC EN MELANOMA

Pese a que la BSGC ha supuesto una notable reducción en la morbilidad asociada a la realización sistemática de linfadenectomías, se trata de una técnica que no está exenta de complicaciones. Las series publicadas hasta la fecha muestran una gran variabilidad en cuanto a la cantidad y tipo de complicaciones derivadas del procedimiento de BSGC, aunque una revisión sistemática reciente<sup>123</sup> recoge una tasa global de complicaciones del 11,3%, siendo las más frecuentes los seromas, las infecciones y el linfedema.

Estas cifras son significativamente inferiores a las resultantes tras la realización de linfadenectomías completas tras la obtención de un GC positivo. Según otra revisión sistemática

realizada por estos mismo autores<sup>124</sup>, la tasa global de complicaciones tras una linfadenectomía es del 39,3%. Esto se debe a que se trata de una intervención de cirugía mayor, que precisa anestesia general y que puede presentar diversas complicaciones locales a corto plazo (infección, dehiscencia, hematoma, seroma, dolor local) y a largo plazo (linfedema en el miembro afectado por la linfadenectomía, dolor, alteraciones en la sensibilidad y en la movilidad del miembro, cordón axilar, etc.).

### 1.2.8. FALSOS NEGATIVOS DE LA BSGC EN MELANOMA

Cuando se produce una recurrencia en un determinado territorio linfático durante el seguimiento tras una BSGC negativa, estamos ante un falso negativo de la técnica. Ello puede tener 3 causas fundamentales:

- **“Skip metastasis”**

Se estima que en aproximadamente un 2% de los casos las células tumorales pueden pasar a través del GC, sin establecerse y crecer en el mismo, pero sí lo hacen en los ganglios secundarios de niveles superiores<sup>70</sup>.

- **Factores dependientes de la técnica**

- Inyección inapropiada del radiofármaco (por ejemplo, demasiado alejada de la lesión primaria).
- No detección adecuada en acto quirúrgico: manejo inadecuado de la sonda gammadetectora por falta de experiencia del equipo médico<sup>95</sup>, que impida la detección de los verdaderos ganglios centinelas o que no tenga en cuenta los ganglios en tránsito.
- Número insuficiente de GC biopsiados: algunos autores opinan que la omisión de la regla del 10% (en relación al contaje radiactivo para la extracción del GC) puede implicar un aumento de los falsos negativos<sup>125,126</sup>, aunque para otros esta regla no debe considerarse como una medida estricta<sup>105</sup>.
- Análisis anatomopatológico: dado que no se analiza todo el ganglio, pequeños nidos celulares metastásicos podrían pasar desapercibidos.



- **Factores clínico-patológicos**

- Edad: el incremento de edad está asociado a mayor probabilidad de falsos negativos<sup>127</sup>.
- Sexo: existe mayor probabilidad en el sexo masculino<sup>128</sup>.
- Grosor: con menor grosor medio, hay más probabilidad de falsos negativos<sup>127</sup>.
- Localización: mayor probabilidad en los melanomas de cabeza y cuello<sup>128</sup>.
- Invasión linfovascular: con menor frecuencia de invasión linfovascular, existe más probabilidad de falsos negativos<sup>127</sup>.
- Recidiva local o en tránsito: mayor probabilidad de falsos negativos si se produce este tipo de recurrencia<sup>127,128</sup>.

No obstante, es importante resaltar el hecho de que en los pacientes con GC previamente negativo la aparición de una recidiva ganglionar no afecta al pronóstico de la enfermedad en términos de supervivencia global, siendo similar a aquellos con GC positivo de inicio<sup>127,128</sup>.

### 1.2.9. IMPACTO CLÍNICO DE LA BSGC EN MELANOMA

La introducción de esta técnica ha supuesto un notable avance en la estadificación mínimamente invasiva de esta enfermedad, incluyéndose actualmente en las distintas guías internacionales como un parámetro de gran utilidad para el manejo clínico del paciente y para la toma de decisiones. Además de la ya comentada reducción de los efectos colaterales asociados a la linfadenectomía completa, se detalla a continuación el impacto clínico que ha tenido la BSGC en el diagnóstico, tratamiento y pronóstico de melanoma maligno.

#### 1.2.9.1. VALOR DIAGNÓSTICO

Como ya se ha comentado previamente, el principal objetivo de la BSGC es identificar de forma precoz la afectación ganglionar neoplásica que hubiera permanecido oculta con los métodos convencionales utilizados hasta la introducción de esta técnica. Por un lado, el análisis anatomopatológico del GC es mucho más exhaustivo que el realizado en la linfadenectomía, lo que ha permitido la detección de metástasis ocultas que antes pasaban desapercibidas por su pequeño tamaño<sup>113</sup>. Por otro lado, el conocimiento del drenaje linfático real del tumor ha

permitido la detección de GC localizados en cadenas ganglionares distintas a las habituales como consecuencia de drenajes linfáticos aberrantes, que de otra forma no hubiesen sido detectados<sup>88</sup>.

### 1.2.9.2. VALOR TERAPÉUTICO

Varios estudios han demostrado el impacto que tiene la BSGC sobre la supervivencia de los pacientes. Aunque en el Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial (MSLT-I)<sup>129</sup> no se objetivó beneficio en la supervivencia considerando la población de forma global, en los pacientes con tumores de grosor intermedio (1-4 mm) sí se comprobó un mayor tiempo libre de metástasis y supervivencia a aquellos pacientes a los que se les realizaba la BSGC respecto a los que a pesar de presentar afectación neoplásica del GC se les realizaba seguimiento estrecho de la base linfática. Diversos estudios, incluyendo un metaanálisis y las conclusiones finales del MSLT-I<sup>54,130-132</sup> corroboraron esos hallazgos. En resumen, estos resultados muestran el impacto de la BSGC en la detección y tratamiento precoz de las metástasis clínicamente ocultas.

En aproximadamente el 80-85% de los pacientes con GC positivo, este ganglio es el único afectado de toda la cadena linfática. Tras su extracción, el problema de la extensión linfática regional queda resuelto para la mayoría de esos pacientes, aunque no asegura la ausencia de extensión sistémica o visceral del melanoma. Hay fuertes indicios de que la diseminación linfática y sanguínea del melanoma son procesos independientes, aunque puedan ocurrir de forma simultánea o consecutiva. También se sabe que en cerca de un tercio de los pacientes con diseminación linfática no hay diseminación hemática. Tras la extirpación del GC la mayoría de estos pacientes estarán curados, aunque todavía se desconoce cómo identificar con precisión a los pacientes con diseminación linfática exclusiva<sup>133</sup>.

### 1.2.9.3. VALOR PRONÓSTICO

La presencia de metástasis linfáticas es uno de los principales factores pronósticos del melanoma maligno, junto con el índice de Breslow, la presencia de ulceración, la tasa mitótica y la edad, fundamentalmente<sup>134</sup>. De hecho, en el estudio MSLT-I<sup>129</sup> el estado del GC fue el predictor más significativo de supervivencia. Algunos autores también han demostrado que la

carga tumoral en el GC es un factor pronóstico independiente<sup>131</sup>, y que la presencia de micrometástasis (<0,1 mm) no implica un peor pronóstico que un GC negativo<sup>135</sup>.

Un resultado positivo en la BSGC empeora el pronóstico del paciente, pues nos indica que ese melanoma ha sido capaz de generar diseminación de algunas de sus células, al menos por vía linfática. Pero su valor pronóstico no es absoluto, porque lo que en mayor medida condicionará la supervivencia final del paciente es la eventual diseminación de su melanoma por vía sanguínea. Este hecho es más probable cuando el GC es positivo, aunque su negatividad tampoco lo excluye por completo. La información que aporta la BSGC puede ayudar a decidir la conveniencia de aplicar un tratamiento adyuvante para prevenir el desarrollo futuro de metástasis.

#### 1.2.10. CONTROVERSIAS DE LA BSGC EN MELANOMA

La publicación de los resultados de los datos de seguimiento de grandes series de pacientes y de diversos estudios prospectivos ha cuestionado algunos aspectos sobre el manejo de los pacientes con melanoma sometidos a la BSGC, que se llevaban a cabo desde la introducción de la técnica en la práctica clínica.

##### 1.2.10.1. REALIZACIÓN DE LINFADENECTOMÍA TRAS GANGLIO CENTINELA POSITIVO

Como ya se ha comentado, la BSGC se ha convertido en la técnica estándar de estadificación linfática regional del melanoma maligno, sustituyendo completamente a la linfadenectomía y reduciendo notablemente la morbilidad quirúrgica. Inicialmente, la BSGC fue utilizada para decidir si el paciente debía someterse a una linfadenectomía. Solo un 15-20% de los pacientes con GC positivo tienen afectación en algún ganglio no centinela en el resto de la cadena linfática, por lo que para aproximadamente el 80% de estos pacientes, la linfadenectomía no les va a aportar ningún beneficio, sólo incómodas secuelas.

Dos estudios prospectivos recientes, el MSLT-II<sup>136</sup> y el DeCOG-SLT<sup>137</sup> han demostrado que si al paciente con biopsia positiva del GC se le vigilan sus ganglios periódicamente mediante ecografía y sólo se le extirpan cuando se aprecien signos de metástasis, no disminuye su supervivencia. De este modo, se evitaría la linfadenectomía innecesaria en la mayoría de los pacientes en los que el GC es el único afectado. Las versiones más recientes de las guías

internacionales más prestigiosas sobre manejo del melanoma ya recogen la opción de vigilancia con ecografía, y han dejado de considerar a la linfadenectomía como la opción estándar tras una biopsia positiva del GC<sup>53,138,139</sup>.

A la vista de estos resultados, cabe pensar que la realización de linfadenectomías tras GC positivo se reducirá drásticamente en un futuro cercano. No obstante, existe aún gran controversia sobre cómo seleccionar a aquellos pacientes en los que la observación ganglionar puede ser más adecuada que la linfadenectomía. Algunos ensayos recientes<sup>140,141</sup> han mostrado la elevada eficacia de nuevas terapias adyuvantes para melanomas en estadio III, aunque estos pacientes ya hubieran sido sometidos a linfadenectomía completa. Por ello, el reto actual es identificar aquellos pacientes que presentan un elevado riesgo de recurrencia y que podrían beneficiarse de esos nuevos tratamientos, sin necesidad de realizar linfadenectomías. En general, el pronóstico de los pacientes estadio III con GC positivo es muy variable y depende del número de ganglios positivos identificados en la linfadenectomía<sup>142</sup>. Por ello varios autores han estudiado los posibles factores que condicionan la presencia de metástasis en los ganglios no centinelas tras una BSGC positiva, siendo los más probables: un índice de Breslow >2 mm<sup>143-145</sup> el número de GC positivos y su carga tumoral<sup>145</sup>, la localización en tronco o cabeza/cuello<sup>144</sup> y un bajo número de GC resecaos<sup>144</sup>.

### 1.2.10.2. GANGLIOS CENTINELAS EN TRÁNSITO

Los GC en tránsito son aquellos que se localizan a lo largo de la vía de drenaje que une el tumor y la cadena linfática del GC principal. Se sabe que la probabilidad de afectación metastásica del GC en tránsito es similar a la del GC principal<sup>146</sup> y que la presencia de metástasis en los GC en tránsito confiere un peor pronóstico al melanoma<sup>147,148</sup>. Aunque no existe un consenso establecido sobre el manejo quirúrgico de los pacientes con positividad del GC en tránsito, un reciente estudio con un tiempo de seguimiento de 10 años parece confirmar la necesidad de realizar la linfadenectomía en estos casos, ya que demuestra un beneficio tanto en supervivencia global como en supervivencia libre de enfermedad en estos pacientes, que podría estar justificado por el tratamiento precoz del proceso metastásico<sup>149</sup>.

### 1.2.10.3. BSGC EN MELANOMAS FINOS (ÍNDICE DE BRESLOW <1 mm)

La utilidad de la técnica de BSGC en melanomas finos permanece en controversia, ya que la probabilidad de tener un GC positivo es muy baja (<5%) y no se ha demostrado un beneficio en términos de supervivencia. Pese a que existe una limitada evidencia científica, los melanomas que presentan una mayor probabilidad de GC positivo presentan: un espesor de Breslow >0,75 mm, un nivel de Clark IV o V, un índice mitótico >1 mitosis/mm<sup>2</sup>, presencia de invasión linfovascular y presencia de microsatelitosis<sup>150</sup>. No obstante, esta asociación no ha mostrado significación estadística en un estudio reciente en una larga cohorte de pacientes<sup>151</sup>, por lo que la indicación de realizar la BSGC en presencia de esos factores de riesgo sigue sin estar del todo clara, aunque todas las guías recomiendan su uso en dichos casos<sup>53,138,139</sup>.

### 1.2.10.4. BSGC EN MELANOMAS GRUESOS (ÍNDICE DE BRESLOW >4 mm)

Los melanomas gruesos tienen una probabilidad de tener GC positivo en más del 40% de los casos. Varios estudios han mostrado la capacidad pronóstica de la BSGC en estos pacientes<sup>127,152,153</sup>, así como su utilidad en el control local de la enfermedad con aumento de la supervivencia global<sup>154</sup>, por lo que muchas guías recomiendan su uso pese a la escasa evidencia actual<sup>53,138,139</sup>.

### 1.2.10.5. TIEMPO DE RETARDO PARA LA REALIZACIÓN DE LA BSGC

El intervalo de tiempo que transcurre desde la realización de la técnica de la BSGC tras una biopsia diagnóstica de melanoma puede ser muy variable y estar motivado por diversos factores: programación de quirófanos, realización de estudios preoperatorios, motivos familiares del paciente, etc. La dilatación en el tiempo de esta espera genera con frecuencia situaciones de estrés.

En la actualidad, no existen recomendaciones consensuadas sobre el intervalo de tiempo máximo que debe transcurrir entre ambos procedimientos, aunque siempre se aconseja que sea el menor tiempo posible, limitándolo solo en el caso de la guía danesa a un máximo de 6 semanas<sup>155</sup>. Tampoco existen protocolos para otros tumores en los que también se realiza la técnica de la BSGC. En el caso del cáncer de mama y siguiendo las recomendaciones de la Sociedad Española de Patología Mamaria en el consenso de 2006<sup>156</sup> se recomendaba un límite

de 30 días, al considerarse que en este periodo de tiempo se habría resuelto la inflamación secundaria a la biopsia quirúrgica y no se habrían reorganizado aún las vías de drenaje. En los siguientes consensos no se ha considerado ningún intervalo, y algunos autores que han estudiado el impacto de esta demora concluyen que no influye en la fiabilidad de la técnica de la BSGC en el cáncer de mama<sup>157</sup>.

Hipotéticamente, este tiempo de retardo (TR) entre la realización de la biopsia diagnóstica del melanoma y la BSGC, influiría en la evolución de la enfermedad de forma negativa favoreciendo el crecimiento y diseminación del tumor<sup>158</sup>, pero también podría hacerlo de forma positiva al permitir el desarrollo de una respuesta inmune frente al melanoma<sup>159</sup>. Otros autores<sup>155</sup> opinan que el intervalo de tiempo entre el diagnóstico del melanoma y la realización de la BSGC es muy corto en comparación con la duración del desarrollo prediagnóstico del melanoma. Es por ello, que una diferencia de semanas entre estas intervenciones probablemente representaría solo una pequeña fracción en la historia del desarrollo del melanoma y no tendrá repercusión en su evolución<sup>158</sup>.

Existe escasa bibliografía que haya estudiado la posible influencia de esta demora en la evolución de los pacientes con melanoma y los resultados son contradictorios. Para Tejera et al.<sup>159</sup>, la realización precoz de la BSGC está asociada con una peor supervivencia, sin embargo, Fortes et al.<sup>158</sup> obtienen resultados opuestos, ya que los pacientes de su estudio que tenían menor TR presentaban una mejor supervivencia. Otros autores<sup>155,160-162</sup> no encontraron relación entre el TR y el pronóstico de los pacientes que estudiaron.

El análisis de este TR en los pacientes diagnosticados de melanoma en nuestra población será una aportación innovadora en el estudio que presentamos a continuación.

## **2. HIPÓTESIS**





La biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC) es una técnica ampliamente extendida en la estadificación del melanoma por su repercusión significativa en el tratamiento del paciente, en su seguimiento y pronóstico. Una de las características esenciales de la BSGC es la multidisciplinariedad de esta técnica que implica la colaboración de dermatólogos, cirujanos, médicos nucleares y anatomopatólogos. Este hecho también repercute en los resultados globales de dicha técnica por factores propios de cada especialidad como son la experiencia, el equipamiento o la demora en la realización de cada una de las fases del proceso asistencial. Desde la implantación de la BSGC se han producido numerosas variaciones en relación con las indicaciones clínicas, adquisición de imágenes, radiotrazadores, equipos de localización intraoperatoria, técnicas anatomopatológicas..., existiendo en los últimos años cierta controversia sobre la relevancia del intervalo de tiempo desde la biopsia diagnóstica del melanoma hasta la realización de la BSGC.



### **3. OBJETIVOS**



El objetivo general de esta Tesis Doctoral es evaluar los resultados de la técnica de la biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC) en los pacientes con melanoma desde su implantación en el Complejo Hospitalario Universitario San Pedro de Alcántara de Cáceres, y comparar nuestros resultados con los publicados por otros grupos de trabajo.

Para la consecución de este objetivo general, el estudio se subdividió en los siguientes objetivos específicos:

- Realizar un análisis descriptivo de la BSGC en relación con los parámetros clínicos, anatomopatológicos del melanoma, procedimientos gammagráficos y quirúrgicos, la secuencia temporal de los mismos, así como de la evolución de los pacientes.
- Comparar las subpoblaciones clasificadas según el estado del ganglio centinela con las características clínicas, variables del melanoma y de la técnica de la BSGC.
- Valorar la repercusión del resultado del ganglio centinela en la evolución y pronóstico de los pacientes.
- Describir y comparar las subpoblaciones en relación con el intervalo de tiempo transcurrido desde la biopsia diagnóstica del melanoma hasta la realización de la BSGC con el resultado de los parámetros clínico-anatomopatológicos y, especialmente, su correlación con la afectación neoplásica del ganglio centinela.
- Analizar la correlación entre el intervalo de tiempo que transcurre entre la biopsia diagnóstica del melanoma y la técnica de la BSGC, con el pronóstico y supervivencia de los pacientes.



# **4. MATERIAL Y MÉTODOS**

**4.1. DISEÑO DEL ESTUDIO**

**4.2. TÉCNICAS REALIZADAS**

**4.3. RECOGIDA DE DATOS. VARIABLES A ESTUDIO**

**4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

**4.5. ASPECTOS ÉTICOS Y CONFIDENCIALIDAD DE DATOS**





## 4.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

### 4.1.1. TIPO DE ESTUDIO

Hemos realizado un estudio observacional analítico de cohorte retrospectiva.

### 4.1.2. ÁMBITO

- **Temporal**

Se estudiaron de forma retrospectiva los 204 pacientes diagnosticados de melanoma maligno a los que se les realizó la técnica de la biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC) en el Complejo Hospitalario Universitario San Pedro de Alcántara de Cáceres, desde la implantación de la técnica el 27 de diciembre de 2005 hasta el 31 de septiembre de 2015.

- **Poblacional y geográfico**

Los pacientes procedían de toda la provincia de Cáceres y de las áreas sanitarias de Mérida, Don Benito-Villanueva de la Serena y Llerena-Zafra de la provincia de Badajoz. Todos los pacientes presentaban un diagnóstico inicial de melanoma cutáneo y habían sido derivados al Servicio de Cirugía Plástica, Reparadora y Quemados del Complejo Hospitalario Universitario San Pedro de Alcántara de Cáceres para su valoración y tratamiento, por ser el centro de referencia en la Comunidad Autónoma de Extremadura.

### 4.1.3. POBLACIÓN A ESTUDIO

- **Criterios de inclusión**

- Pacientes con indicación para la realización de la BSGC, sin que presentaran evidencia de afectación clínica o radiológica, ganglionar o a distancia.

- Pacientes a los que se les realizó la técnica de la BSGC en un intervalo menor a 180 días desde la fecha de la biopsia diagnóstica del melanoma maligno. Consideramos esta cifra al ser la establecida por otros autores que estudiaron la correlación de esta demora con diversas variables, como fueron Nelson et al.<sup>161</sup> y Oude et al.<sup>155</sup>, aunque algo superior a los 120 días considerados por Tejera et al.<sup>159</sup>.
- Pacientes de los que se dispone de un seguimiento mínimo de 8 meses desde la realización de la técnica de la BSGC.
- **Criterios de exclusión**
  - Pacientes que no presentaron migración significativa del radiotrazador a ningún ganglio centinela (GC) en la linfogammagrafía.
  - Pacientes con intervalo libre de enfermedad por otra neoplasia maligna inferior a 60 meses.
  - Pacientes con más de un melanoma cutáneo al diagnóstico.
  - Paciente con recurrencia precoz (antes de 90 días tras BSGC) por considerarse enfermedad concurrente, clínicamente no evidente al inicio del tratamiento.
  - Imposibilidad de acceso al informe histológico diagnóstico del melanoma.
- **Estratificación poblacional**

Se utilizaron dos criterios diferenciados e independientes para comparar distintos grupos poblacionales:

- **Estado ganglionar**: se dividió la población en dos grupos atendiendo al resultado de la variable “estado ganglionar” (EG), obtenida del estudio anatomopatológico del GC. Las dos categorías de esta variable determinaron las dos subpoblaciones:
  - Estado ganglionar positivo (EGP): pacientes con infiltración maligna del GC.
  - Estado ganglionar negativo (EGN): pacientes sin afectación maligna del GC.
- **Tiempo de retardo**: se consideró la variable “tiempo de retardo” (TR) como el intervalo de demora (en días) que transcurrió entre el momento de la toma de la biopsia diagnóstica del melanoma y el que se realizó la técnica de la BSGC. Esta variable fue medida para cada paciente y posteriormente categorizada utilizando un punto de corte (que fue de 50 días, y cuyo cálculo explicaremos a continuación en el subapartado “Análisis estadístico”) dividiéndose así la población en dos subgrupos:

- TR menor o igual a 50 días (TR≤50): Pacientes con un intervalo de tiempo entre la biopsia del melanoma y la realización de la BSGC menor o igual a 50 días.
- TR mayor a 50 días (TR>50): Pacientes con intervalo de tiempo entre la biopsia del melanoma y la realización de la BSGC mayor a 50 días.

## 4.2. TÉCNICAS REALIZADAS

### 4.2.1. BIOPSIA DEL MELANOMA

Todos los pacientes referidos al Servicio de Cirugía Plástica, Reparadora y Quemados del Complejo Hospitalario Universitario San Pedro de Alcántara de Cáceres tenían confirmación anatomopatológica del diagnóstico de melanoma de la lesión primaria tras la realización de biopsias incisionales y/o escisionales realizadas en el propio hospital o en sus centros de procedencia.

### 4.2.2. BIOPSIA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA

- **Inyección del trazador**

La técnica de la BSGC siempre tuvo lugar en un protocolo de dos días, realizándose la inyección del radiotrazador el día previo a la cirugía. En ningún caso se complementó el estudio con colorantes vitales o fluorescentes.

Se utilizó nanocoloide de albúmina sérica humana marcado con  $^{99m}\text{Tc}$  (Nanocoll®) con una actividad de entre 29,6 y 74 MBq (0,8-2 mCi). Se inyectó alrededor de la lesión o de la cicatriz de exéresis en 4 inyecciones intradérmicas. En los casos que presentaba localizaciones especiales, se realizaron de manera excepcional solo 2 inyecciones. Las agujas que se utilizaron fueron de 25G, en un volumen de 0,1 ml<sup>83</sup>.

Todos los pacientes fueron informados verbalmente sobre el procedimiento linfogammagráfico, previamente a su realización en el Servicio de Medicina Nuclear.

- **Adquisición de imágenes**

La adquisición de imágenes se realizó en una tomogammacámara de doble cabezal General Electric Millenium VG. El estudio se inició con la obtención de imágenes dinámicas para la visualización de los conductos linfáticos de drenaje, comenzando inmediatamente después de la inyección del radiotrazador con el paciente ya posicionado en la gammacámara, en posición de decúbito. Las imágenes fueron tomadas cada 20 segundos en matriz de 64 x 64 y zoom de 1, durante 10-20 minutos. Inmediatamente fueron seguidas de la adquisición de imágenes planares estáticas de 5 minutos de duración con matriz de 256 x 256 y zoom de 1, centradas en las áreas de probable drenaje linfático para identificar los ganglios a los que se habían dirigido los canales linfáticos y valorar cuál era el GC (Figura 4.1 A y B). Asimismo, se realizaron imágenes planares tardías de las zonas de interés a las 2 horas de la inyección del trazador, con una adquisición similar a la de las imágenes planares precoces. En estas imágenes tardías se utilizó normalmente una fuente plana de transmisión de  $^{57}\text{Co}$  para ayudar a proporcionar una referencia anatómica básica<sup>83</sup> (Figura 4.1 C y D). Las imágenes planares se realizaron en distintas proyecciones (anterior, posterior y laterales), siendo complementadas de forma excepcional con estudios tomográficos SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography) para una mejor localización de los GC a estudio<sup>88</sup>.

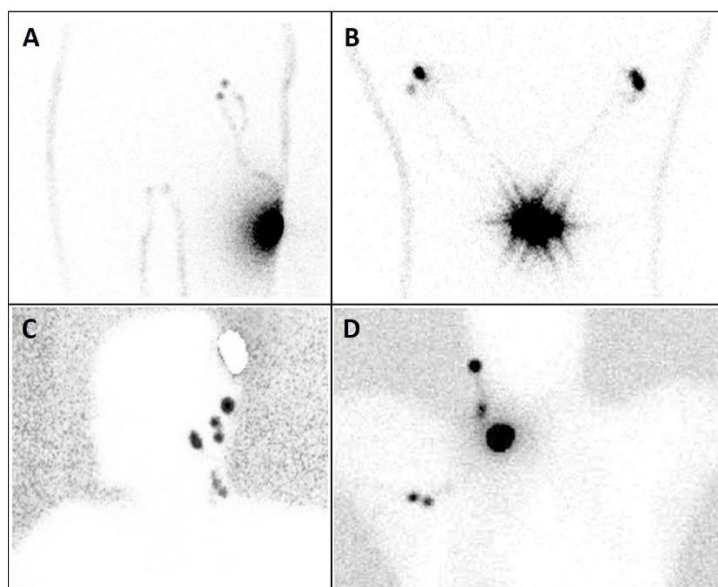


Figura 4.1: Ejemplos de linfogammagrafías para la detección de GC: (A y B) Proyecciones anteriores de imágenes planares precoces. (C y D) Proyecciones anteriores de imágenes planares tardías.

Según los criterios de visualización de canales linfáticos, áreas de drenaje, momento de aparición en las imágenes gammagráficas e intensidad de captación de los ganglios linfáticos se consideraron los depósitos del trazador como definitivamente GC, alta probabilidad de GC y baja probabilidad de GC<sup>88</sup>, considerándose asimismo los ganglios localizados en tránsito<sup>163</sup>.

Con la ayuda de un puntero de <sup>57</sup>Co se localizó en piel de forma aproximada la situación del GC, realizándose un marcaje con rotulador indeleble de dicha localización en una proyección.

A los pacientes que no presentaron migración significativa del trazador a ganglios linfáticos en las imágenes tardías realizadas a las 2 horas de la inyección, se les realizaron nuevas imágenes planares a las 24 horas, inmediatamente antes de la intervención quirúrgica. Si persistía la ausencia de migración, en quirófano se hacía un rastreo cuidadoso del área quirúrgica una vez que se hubiera realizado la ampliación de márgenes del tumor primario y siempre que la posible cadena linfática en la que se encontrara el GC estuviera en proximidad para intentar así localizarlo<sup>87</sup>.

- **Localización del ganglio centinela en quirófano**

Todos los pacientes habían firmado un consentimiento informado en el momento de inclusión en la lista de espera quirúrgica. En relación a la lesión primaria, en el mismo acto quirúrgico de la BSGC se procedió a la escisión del melanoma en todos los casos en los que no se había realizado previamente. Asimismo, se realizó ampliación de márgenes de la lesión primaria a todos los pacientes, hubiera o no constancia de actividad neoplásica residual en el informe histopatológico de la resección del melanoma. Para ello se utilizó el tamaño de márgenes recomendado según el índice de Breslow de la lesión neoplásica<sup>53</sup>: margen de 1 cm para índice de Breslow menor o igual de 1 mm, de 1-2 cm para índice de Breslow entre 1 y 2 mm, y de 2 cm para lesiones con índice de Breslow mayor de 2 mm. Posteriormente se realizó la reconstrucción mediante sutura primaria, colgajo, injerto o amputación según el defecto y la zona anatómica, a criterio del equipo quirúrgico.

Para la localización intraoperatoria del GC se utilizó la sonda detectora portátil GPS Navigator (USSC Group) (Figura 4.2), siempre manejada por el especialista en Medicina Nuclear. Previamente al inicio de la intervención y con el paciente ya posicionado en la mesa de operación se realizaba un rastreo cutáneo de la zona previamente marcada con rotulador que identificaba

la localización del/los GC, pudiendo ser necesario en este momento modificar la marca cutánea por el distinto posicionamiento del paciente y así guiar correctamente la incisión quirúrgica.



Figura 4.2: Sonda detectora portátil GPS Navigator.

Durante la intervención el médico nuclear participó de forma activa en el procedimiento intraoperatorio, asistiendo al cirujano en la detección de los GC mediante el rastreo cuidadoso de las zonas de interés previamente identificadas en la linfogammagrafía. Para la determinación de los GC a extraer, se utilizó la regla del 30% según el protocolo consensuado por el equipo multidisciplinar en la puesta en marcha de la técnica en el Complejo Hospitalario San Pedro de Alcántara de Cáceres, en la que todos los ganglios de una misma cadena que tuviesen al menos un 30% de la máxima captación obtenida eran extraídos. En la Figura 4.3 mostramos un resumen de la secuencia de la localización del GC en el acto quirúrgico.

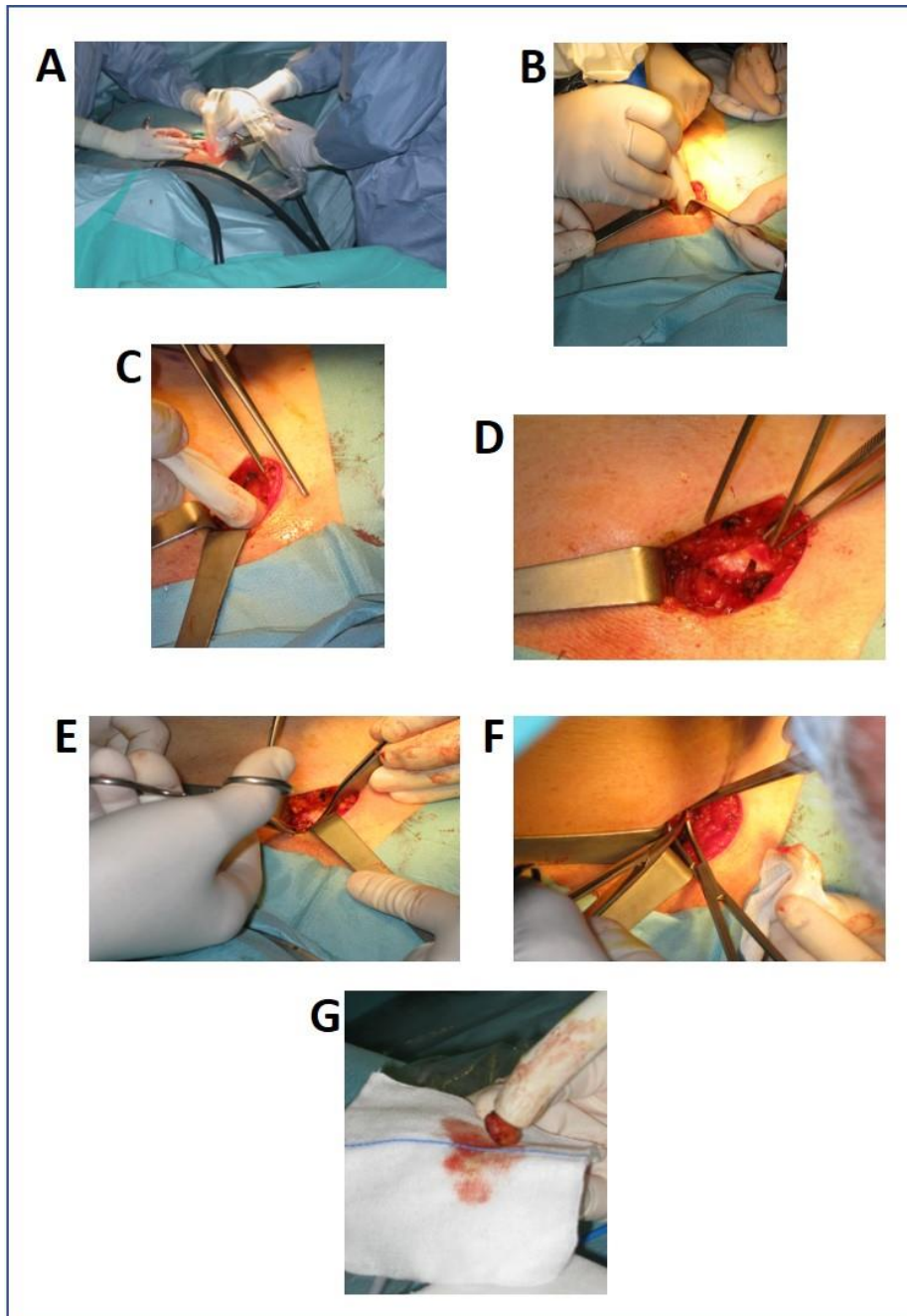


Figura 4.3: Secuencia de la localización del GC en el acto quirúrgico: (A) Tras realizar la incisión en la localización de la marca cutánea se introduce la sonda gammadetectora (B y C) con la que se procede a un rastreo cuidadoso del campo quirúrgico para localizar el ganglio que presente la mayor actividad radioactiva (D). Se extrae este ganglio que se considera como GC (E y F), procediéndose ex vivo a comprobar su conteo radioactivo mediante la misma sonda gammadetectora (G).

- **Estudio histopatológico del ganglio centinela**

Los ganglios resecados fueron remitidos al Servicio de Anatomía Patológica en recipientes individuales etiquetados y con formol al 10% de concentración. Todos los ganglios fueron sometidos para su estudio diferido según el protocolo establecido<sup>113</sup>:

- Se realizaron cortes seriados a 3 mm siguiendo el plano del eje más largo, incluyéndolos en tantas cápsulas como fuera necesario, fijándolas en parafina, y asignándoles un número de orden.
- De cada bloque de parafina se realizaron 5 secciones secuenciales de 3-5  $\mu$ m, de las cuales las número 1 y 5 se tiñeron con hematoxilina-eosina, y las número 2, 3 y 4 fueron estudiadas mediante inmunohistoquímica para los anticuerpos S100, HMB-45 y Melan-A.

### 4.2.3. LINFADENECTOMÍA

A todos los pacientes con resultado histológico del GC positivo para malignidad se les realizó de forma diferida una linfadenectomía de la cadena ganglionar en la que se localizaba dicho GC.

## 4.3. RECOGIDA DE DATOS. VARIABLES A ESTUDIO

Las fuentes de información utilizadas para la recogida de las variables a estudio fueron la base de datos del Servicio de Medicina Nuclear del Complejo Hospitalario Universitario San Pedro de Alcántara de Cáceres, las historias clínicas en formato papel del citado hospital, y la historia clínica electrónica del programa asistencial del Servicio Extremeño de Salud (SES).

El protocolo de recogida de datos incluye variables cuantitativas (discretas o continuas) y cualitativas o categóricas (nominales u ordinales):

### 4.3.1. VARIABLES DEMOGRÁFICAS

- **Edad** (en años): se expresa de 2 formas:



- Variable continua.
- Categorizada: 1.  $\leq 60$ ; 2.  $>60$ .
- **Sexo:** 1. Hombre; 2. Mujer.

#### 4.3.2. VARIABLES DEPENDIENTES DEL TUMOR PRIMARIO

- **Localización:** se expresa de dos formas:
  - Pormenorizada: 1. Cuero cabelludo; 2. Cara; 3. Cuello; 4. Tórax; 5. Abdomen; 6. Espalda; 7. Región lumbar; 8. Muslos y rodillas; 9. Piernas; 10. Pies y tobillos; 11. Brazos y hombros; 12. Antebrazos; 13. Manos.
  - Agrupada: 1. Cabeza y cuello (que incluye la suma de las categorizaciones pormenorizadas: cuero cabelludo, cara y cuello); 2. Tronco (tórax, abdomen, espalda y región lumbar); 3. Extremidades (muslos y rodillas, piernas, brazos y hombros); 4. Manos y pies (manos, pies y tobillos).

Las variables dependientes del melanoma primario mostradas a continuación se recogieron tanto de los informes anatomopatológicos de la primera muestra diagnóstica del melanoma, como de los emitidos en la ampliación de márgenes cuando se realizó conjuntamente con la BSGC. Solo se incluyeron en el estudio aquellas variables que se encontraban recogidas de forma específica en dichos informes:

- **Índice de Breslow** (en milímetros): se expresa de tres formas:
  - Categorizado-1: 1.  $\leq 1,00$ ; 2. 1,01-2,00; 3. 2,01-4,00; 4.  $>4,00$ .
  - Categorizado-2: debido a la ausencia de eventos (recurrencias o muertes) en la subcategoría 1 de la categorización anteriormente descrita (categorizado-1), realizamos otra nueva agrupando la mencionada subcategoría 1 ( $\leq 1,00$  mm) con la subcategoría 2 (1,01-2,00 mm), para adecuarla al estudio estadístico de supervivencias. Así, las nuevas subcategorías fueron: 1.  $\leq 2,00$ ; 2. 2,01-4,00; 3.  $>4,00$ .
  - Variable continua.
- **Nivel de Clark:** 1. II; 2. III; 3. IV; 4. V.
- **Índice mitótico** (en mitosis/mm<sup>2</sup>): 1.  $<1$ ; 2.  $\geq 1$ .
- **Lesiones satélites:** 1. Sí; 2. No.
- **Pigmentación:** 1. Sí; 2. No.
- **Ulceración:** 1. Sí; 2. No.

- **Márgenes laterales de resección del tumor afectos**: 1. Sí; 2. No.
- **Márgenes profundos de resección del tumor afectos**: 1. Sí; 2. No.
- **Invasión vascular**: 1. Sí; 2. No.
- **Invasión perineural**: 1. Sí; 2. No.
- **Linfocitos infiltrando la base del tumor**: 1. Sí; 2. No.
- **Regresión tumoral**: 1. Sí; 2. No.
- **Nevus asociado**: 1. Sí; 2. No.
- **Fase de crecimiento radial**: 1. Sí; 2. No.
- **Fase de crecimiento vertical**: 1. Sí; 2. No.
- **Estado mutacional del gen BRAF**: 1. Mutado; 2. No mutado.

#### 4.3.3. VARIABLES DE LA TÉCNICA BSGC

- **Tipo de migración a bases ganglionares objetivada en la linfogammagrafía**: 1. Migración a 1 base; 2. Migración múltiple.
- **Número de ganglios en tránsito**: variable continua.
- **Tiempo transcurrido entre la biopsia del melanoma y la BSGC (TR)** (en días): variable continua.
- **Número de GC resecados y analizados histológicamente**: se expresa de dos formas:
  - Variable continua.
  - Categorizada: 1. 1 ganglio; 2. 2 ganglios; 3. 3 ganglios; 4. 4 o más ganglios.
- **Estado ganglionar (EG)**: 1. Negativo (EGN); 2. Positivo (EGP).
- **Criterios de Rotterdam (carga tumoral)** (en milímetros): 1. <0,1; 2. 0,1-1; 3. >1.

#### 4.3.4. VARIABLES OBTENIDAS DE LA LINFADENECTOMÍA

- **Tiempo transcurrido entre la biopsia diagnóstica del melanoma y la realización de linfadenectomía (TD)** (en días): variable continua.
- **Tiempo transcurrido entre la BSGC y la realización de linfadenectomía** (en días): variable continua.
- **Número de ganglios resecados y analizados histológicamente**: variable continua.

- **Número de ganglios con afectación neoplásica en la linfadenectomía:** variable continua.

#### 4.3.5. VARIABLES DEPENDIENTES DE LA EVOLUCIÓN DEL PACIENTE

- **Recurrencia local:** se contabilizó el tiempo transcurrido (en meses) desde el diagnóstico del melanoma hasta la confirmación histológica de la aparición de una lesión maligna en la zona de la cicatriz de la resección del tumor primario.
- **Satelitosis:** se contabilizó el tiempo transcurrido (en meses) desde el diagnóstico del melanoma hasta la confirmación histológica de la aparición de una lesión maligna a menos de 2 cm de la lesión primaria.
- **Metástasis linfática:** se contabilizó el tiempo transcurrido (en meses) desde el diagnóstico del melanoma hasta la confirmación histológica de la aparición de una lesión maligna en una base ganglionar.
- **Metástasis a distancia:** se contabilizó el tiempo transcurrido (en meses) desde el diagnóstico del melanoma hasta la aparición en una prueba de imagen de una lesión altamente sugestiva de afectación metastásica o hasta su confirmación histológica.
- **Primera recurrencia:** se contabilizó el tiempo transcurrido (en meses) desde el diagnóstico del melanoma hasta la confirmación histológica/aparición de la primera recurrencia en cada paciente.
- **Mortalidad global:** se contabilizó el tiempo transcurrido (en meses) desde el diagnóstico del melanoma hasta el fallecimiento del paciente por cualquier causa.
- **Mortalidad por causa del melanoma:** se contabilizó el tiempo transcurrido (en meses) desde el diagnóstico del melanoma hasta el fallecimiento del paciente por causa directamente relacionada con el melanoma.
- **Mortalidad por causa ajena al melanoma:** se contabilizó el tiempo transcurrido (en meses) desde el diagnóstico del melanoma hasta el fallecimiento del paciente por causa ajena a la evolución clínica del melanoma.

En la Tabla 4.1 mostramos un resumen de las variables incluidas en el estudio.

Tabla 4.1: Resumen de las variables incluidas en el estudio.

CATEGORÍAS	VARIABLES
Demográficas	Edad Sexo
Tumor primario	Localización Índice de Breslow Nivel de Clark Índice mitótico Lesiones satélites Pigmentación Ulceración Márgenes laterales afectos Márgenes profundos afectos Invasión vascular Invasión perineural Linfocitos infiltrando base del tumor Regresión tumoral Nevus asociado Fase de crecimiento radial Fase de crecimiento vertical Mutación gen BRAF
Técnica BSGC	Tipo de migración del radiotrazador Número de ganglios en tránsito Tiempo entre biopsia melanoma y BSGC (TR) Número de GC resecaos Estado ganglionar (EG) Criterios de Rotterdam (carga tumoral)
Linfadenectomía	Tiempo entre biopsia melanoma y linfadenectomía (TD) Tiempo entre BSGC y linfadenectomía Número de ganglios resecaos Número de ganglios con afectación neoplásica
Evolución del paciente	Recurrencia local Satelitosis Metástasis linfática Metástasis a distancia Primera recurrencia Mortalidad global Mortalidad por causa del melanoma Mortalidad por causa ajena al melanoma

#### 4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis descriptivo de las variables, presentándose las cualitativas con su distribución de frecuencias y porcentaje relativo en la población, y las cuantitativas con su media y desviación estándar, o su mediana y rango intercuartílico (IQR) en aquellas cuya distribución no se puede asimilar a una distribución normal.

Para el cálculo de valor de corte del TR para la estratificación de la población, se categorizó la variable continua “tiempo de retardo” usando el procedimiento “valor mínimo de  $p$ ”<sup>164</sup>. Éste consiste en la realización de múltiples pruebas (test Long-Rank) para comparar las curvas de supervivencia (de la variable “mortalidad global”) y determinar el punto de corte óptimo para separar los pacientes en dos grupos. Se analizaron intervalos de 5 días, excluyendo el 5% en cada uno de los extremos. El punto de corte óptimo se estableció en 50 días (dividiendo así a la población total en 2 subpoblaciones con: “TR menor o igual a 50 días” y “TR mayor de 50 días”) basado en el mínimo valor de  $p$  obtenido.

La comparación de las variables a estudio se realizó mediante test de Chi-cuadrado o prueba exacta de Fisher, para variables cualitativas, y prueba  $t$  de Student-Fisher o  $U$  de Mann-Whitney, para variables cuantitativas, en función del cumplimiento de la normalidad de la distribución de las variables a estudio.

Se utilizó el modelo de regresión logística para valorar las posibles variables predictoras del EG, y se expresó con la Odds Ratio (OR) el intervalo de confianza (IC) del 95% y el  $p$ -valor.

El análisis de supervivencia se realizó mediante el método de Kaplan-Meier, con las curvas de supervivencia correspondientes, utilizándose el test de Log-Rank o el de Breslow para el análisis univariado. Se utilizó un modelo de regresión de Cox uni y multivariante para determinar los factores predictores independientes para el tiempo libre de enfermedad y para la mortalidad. Las covariables individuales del modelo se expresaron con el Hazard Ratio (HR), el intervalo de confianza (IC) del 95% y el  $p$ -valor.

En todos los tests se estableció el nivel de significación estadística en  $\alpha=0,05$ .

El análisis estadístico se realizó con el programa informático Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) en su versión v.22 (IBM Corporation).

#### **4.5. ASPECTOS ÉTICOS Y CONFIDENCIALIDAD DE DATOS**

Se trató de un estudio observacional en el que los datos obtenidos procedían de la práctica clínica habitual. Una vez que la información de cada paciente se introducía en la base de datos, a éste se le asignaba un número de caso y se eliminaban los datos de identificación, manteniéndose solo la edad y el sexo.

La información contenida en la base de datos para la realización de esta Tesis Doctoral fue anonimizada y solo accesible para la doctoranda, el director del trabajo y los estadísticos que realizaron el estudio.

Este estudio cuenta con el dictamen favorable del Comité de Ética de la Investigación con medicamentos de Cáceres.

# **5. RESULTADOS**

**5.1. POBLACIÓN A ESTUDIO**

**5.2. ANÁLISIS DESCRIPTIVO**

**5.3. ANÁLISIS BIVARIANTE**

**5.4. ANÁLISIS MULTIVARIANTE**

**5.5. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA**





## 5.1. POBLACIÓN DEL ESTUDIO

Para el análisis final, nuestro grupo de estudio estuvo constituido por un total de 177 pacientes en base a los criterios de inclusión y de exclusión descritos en el apartado “Material y Métodos”.

Teniendo en cuenta la influencia conocida del estado ganglionar (EG) del ganglio centinela (GC) en la evolución y su relación con distintas variables anatomoclínicas de los pacientes con melanoma, como hemos comentado en el apartado “Introducción”, clasificamos a la población en dos grupos atendiendo a dicho EG. De esta manera, se estableció un grupo de pacientes que no presentaron afectación neoplásica en el estudio anatomopatológico del GC, a los que se les denominó “estado ganglionar negativo” (EGN) y que estaba formado por 139 pacientes (78,5%), y otro grupo de pacientes que presentaba infiltración maligna del GC, a los que se les denominó “estado ganglionar positivo” (EGP) y que estaba constituido por 38 pacientes (21,4%).

De forma totalmente independiente a esta clasificación basada en el EG que hemos descrito, realizamos otra clasificación de la población atendiendo al tiempo transcurrido para cada paciente, desde la realización de la biopsia del melanoma hasta la realización de la biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC), para así estudiar la posible influencia de este intervalo de tiempo en la evolución de los pacientes con melanoma y en diversas variables anatomoclínicas. Así, clasificamos a la población en dos grupos según un punto de corte para este intervalo, que denominamos tiempo de retardo (TR). Como se explicó en el apartado “Material y Métodos”, la cifra de punto de corte que se calculó fue 50 días. Se estableció un grupo de pacientes cuyo TR entre la realización de la biopsia del melanoma y la BSGC había sido menor o igual a 50 días, que denominamos “ $TR \leq 50$ ”, y otro grupo con pacientes a los que la BSGC se había realizado en un intervalo de tiempo mayor a 50 días, considerado “ $TR > 50$ ”. Del total de 177 pacientes incluidos en el estudio, 80 pacientes (45,2%) constituían el grupo  $TR \leq 50$  y 97 (54,8%) el grupo  $TR > 50$ .

En la Figura 5.1 mostramos un esquema resumen de la distribución según las clasificaciones de la población a estudio.

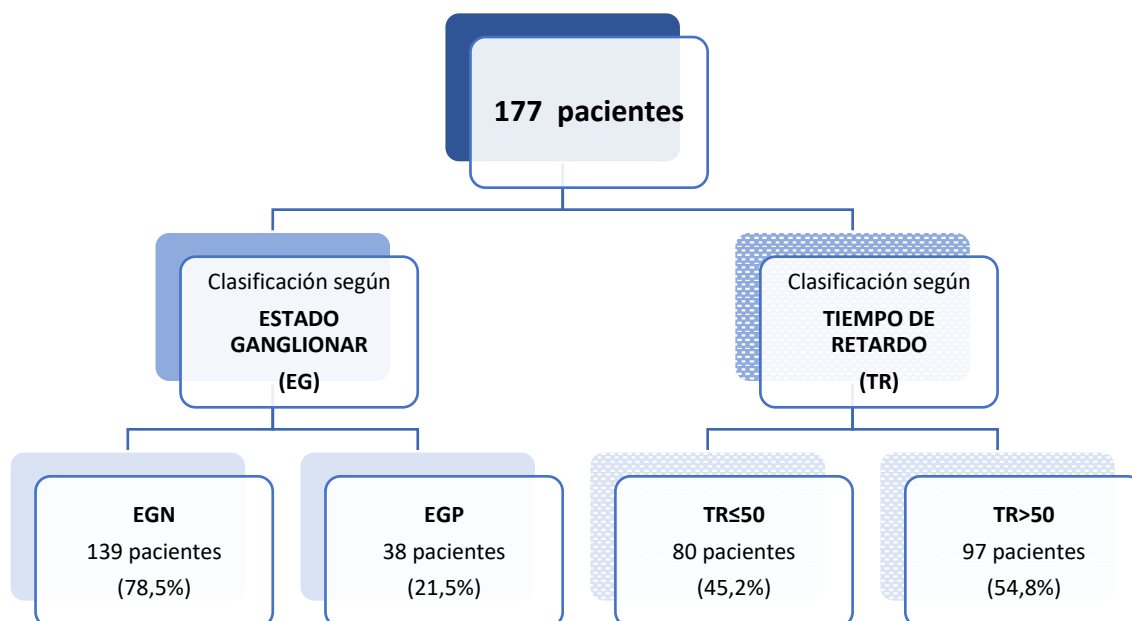


Figura 5.1: Esquema resumen de la distribución de la población total (N=177) según subclasificaciones.

## 5.2. ANÁLISIS DESCRIPTIVO

Las variables consideradas para el análisis descriptivo de la población total constituida por 177 pacientes fueron:

5.2.1. Variables demográficas

5.2.2. Variables relacionadas con el tumor primario

5.2.3. Variables relacionadas con la linfogammagrafía

5.2.4. Variables obtenidas de la intervención quirúrgica y estudio anatomopatológico del ganglio centinela

5.2.5. Variables obtenidas de la linfadenectomía

5.2.6. Variables relacionadas con la evolución del paciente

### 5.2.1. VARIABLES DEMOGRÁFICAS

- **Sexo:** al considerar la población total, observamos una distribución similar en la clasificación por sexos (51% hombres y 49% mujeres) (Figura 5.2).

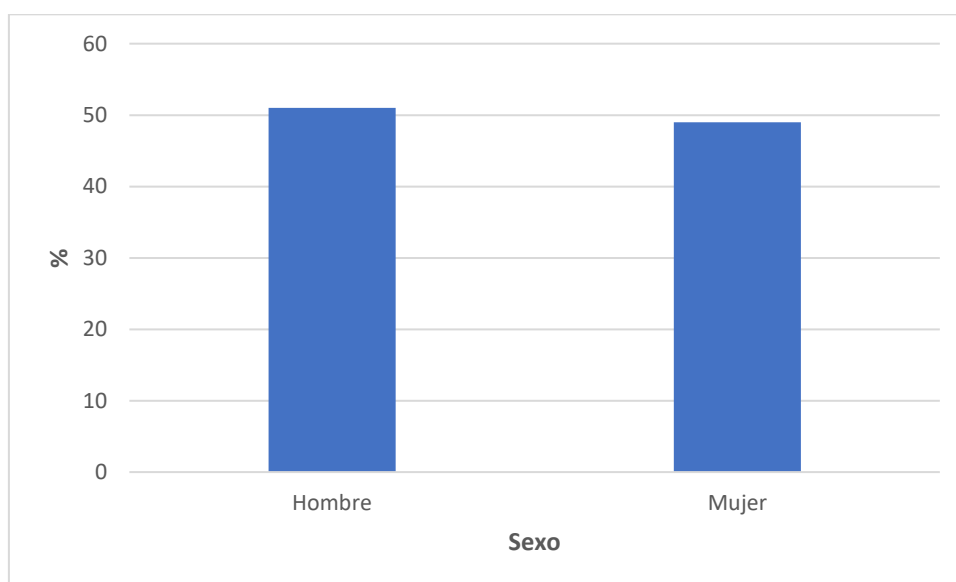


Figura 5.2: Distribución de la población total (N=177) en relación al sexo. Datos mostrados como porcentaje de pacientes.

- **Edad:** la mediana de edad de la población a estudio fue de 55 años (rango intercuartílico [IQR] 43,5-68), siendo más numerosa la población menor o igual de 60 años (61,1%) que la de mayor de 60 años (38,9%). Mostramos la distribución de la población total según edad (Figura 5.3) y según la variable “edad categorizada” ( $\leq 60$  años versus  $>60$  años) (Figura 5.4). En la Figura 5.5 presentamos la distribución de la población total según las variables “edad” y “sexo”.

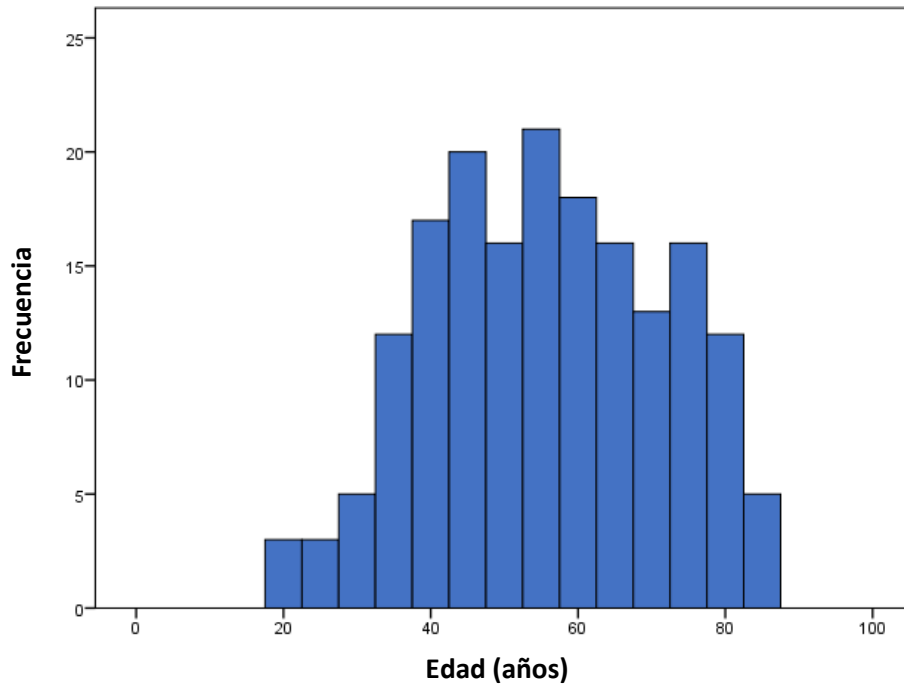


Figura 5.3: Distribución de edades en la población total (N=177). Datos mostrados como frecuencia de valores.

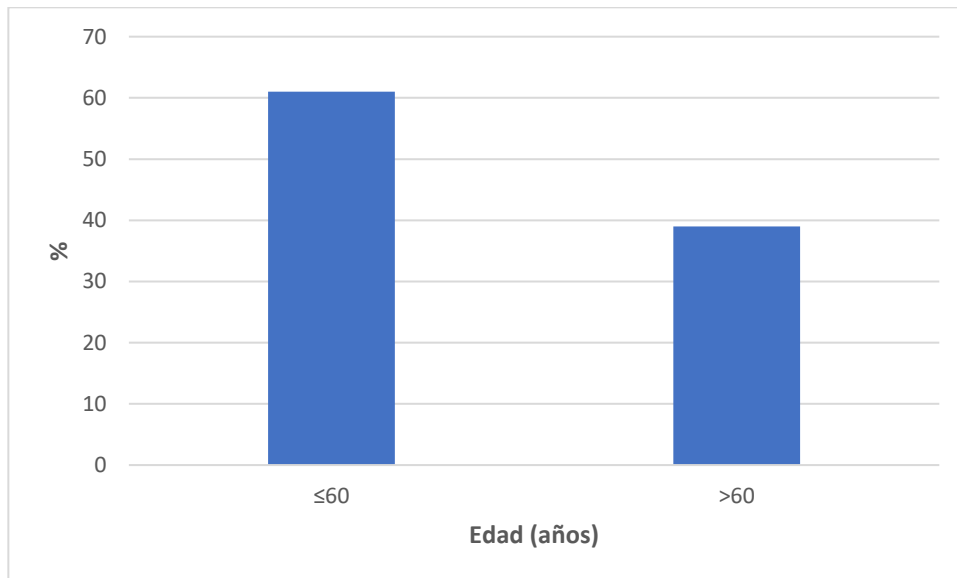


Figura 5.4: Distribución de la población total (N=177) para la variable "edad categorizada". Datos mostrados como porcentaje de pacientes.

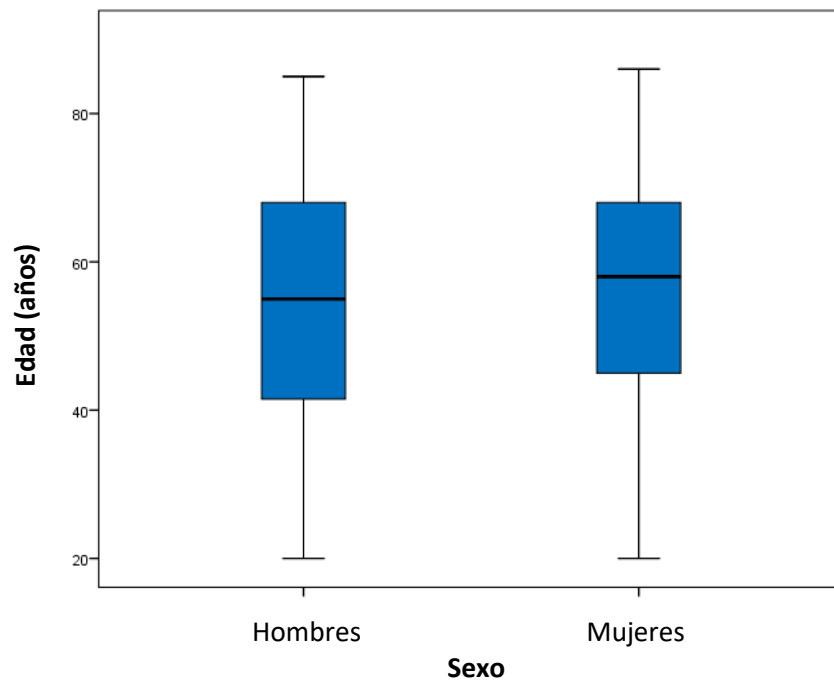


Figura 5.5: Distribución de la población total ( $N=177$ ) según las variables “edad” y “sexo”.

### 5.2.2. VARIABLES RELACIONADAS CON EL TUMOR PRIMARIO

- **Localización:** la cara fue la localización más frecuente del melanoma (16,9%), aunque solo ligeramente superior a pies y tobillos (15,2%), espalda (14,1%) y brazos y hombros (12,9%) (Figura 5.6). Exceptuando las piernas, el resto de localizaciones no superaron de forma individual el 6% de frecuencia.

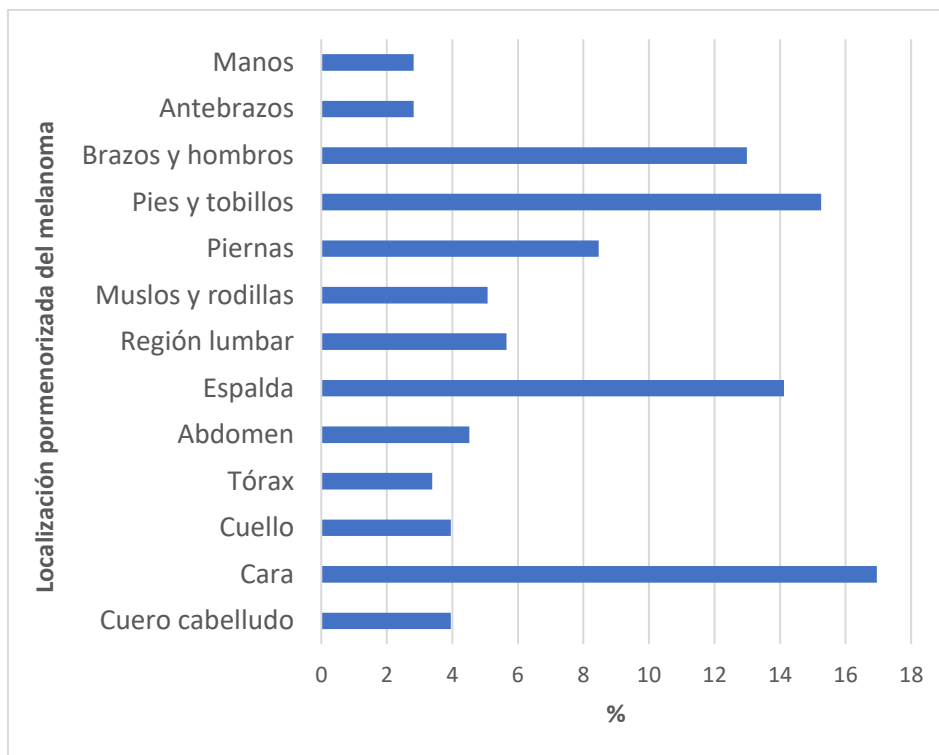


Figura 5.6: Distribución pormenorizada de la localización del melanoma en la población total (N=177). Datos mostrados como porcentaje de pacientes.

Al agrupar las localizaciones de los melanomas para obtener territorios más amplios, obtenemos unos valores similares de distribución en cabeza y cuello, tronco y extremidades (Figura 5.7).

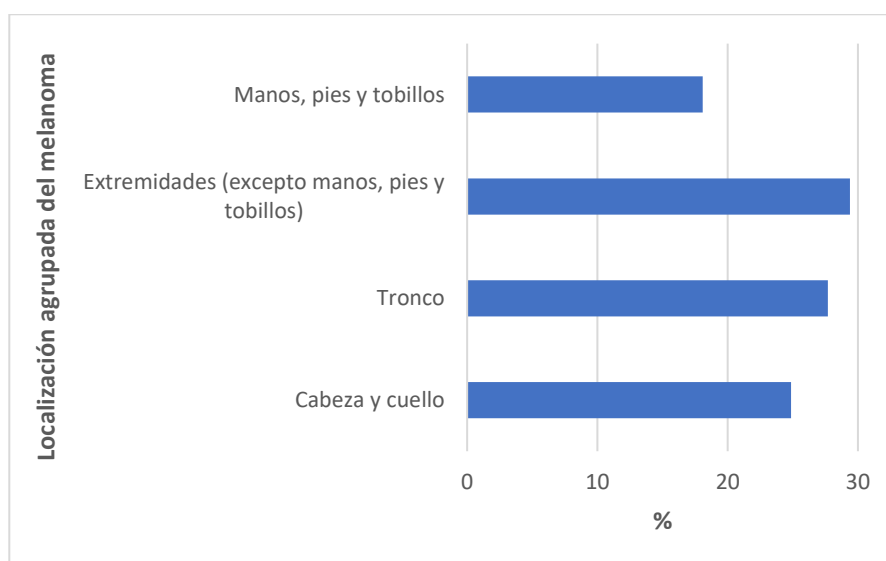


Figura 5.7: Distribución agrupada de la localización del melanoma en la población total (N=177). Datos mostrados como porcentaje de pacientes.

- **Variables anatomopatológicas:**

- **Índice de Breslow:** la mediana del índice de Breslow considerado como variable continua para la población total tuvo un valor de 1,8 mm (IQR 1-3). Se muestra la distribución de la población en relación al índice de Breslow según las dos categorizaciones que realizamos: categorizado-1 (Figura 5.8) y categorizado-2 (Figura 5.9).

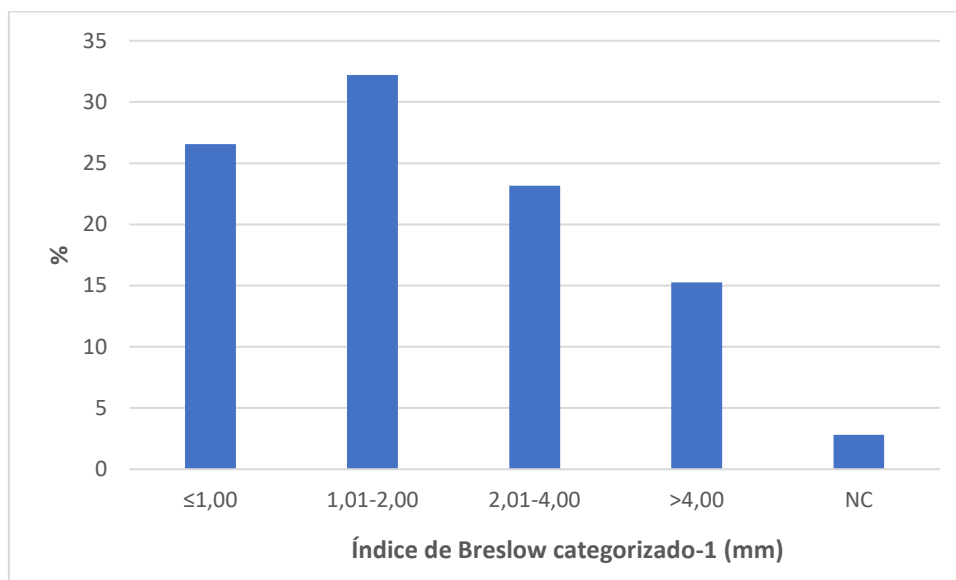


Figura 5.8: Distribución de la variable “índice de Breslow categorizado-1” en la población total (N=177). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. NC: No consta.

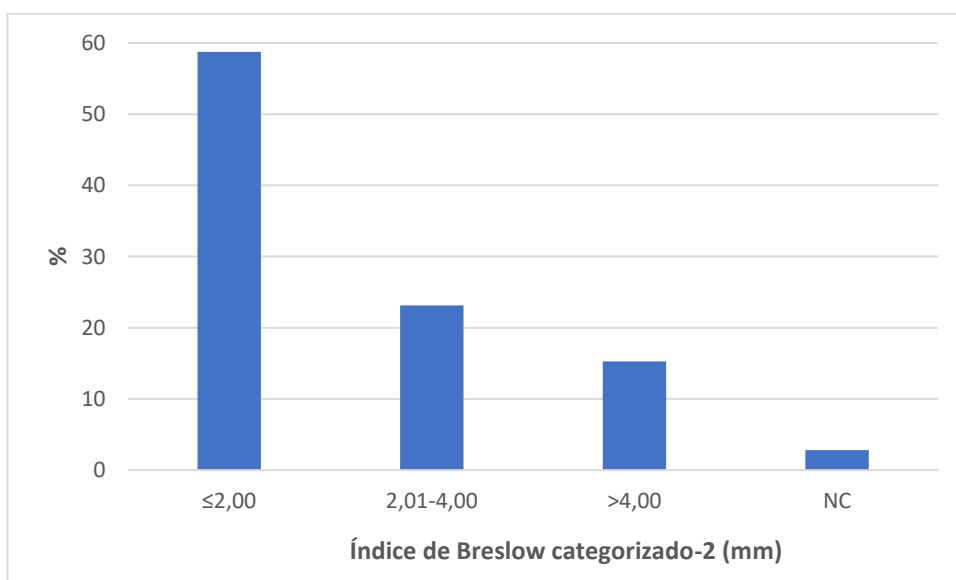


Figura 5.9: Distribución de la variable “índice de Breslow categorizado-2” en la población total (N=177). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. NC: No consta.

- **Nivel de Clark:** al clasificar la población según los niveles de Clark, se obtuvo que el IV fue el más frecuente, con un 45,8% de la población total, mientras que el nivel V era el menos frecuente (4,8%). En la Figura 5.10 se muestra la distribución de la población total en relación a los niveles de Clark.

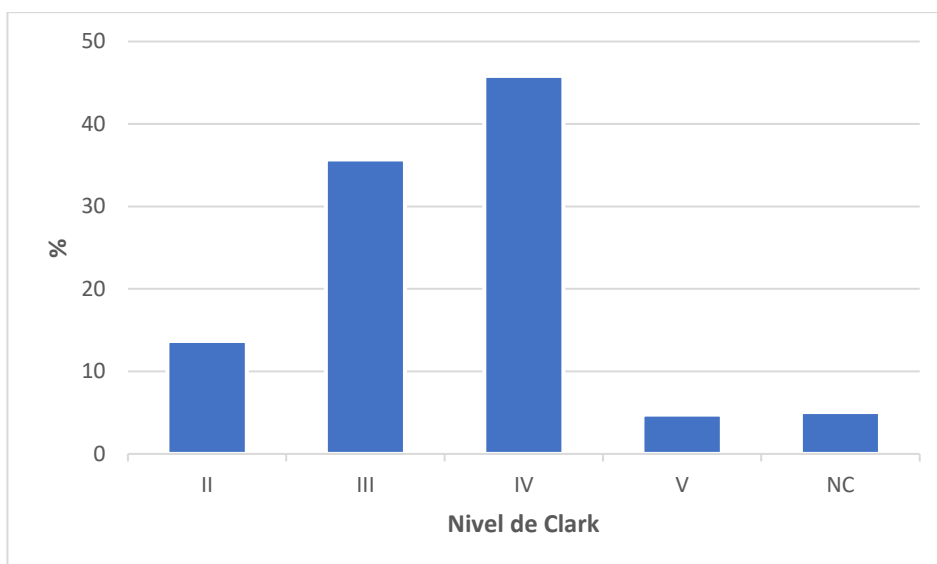


Figura 5.10: Distribución de la variable anatomopatológica “nivel de Clark” en la población total (N=177). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. NC: No consta.

- **Índice mitótico:** la variable “índice mitótico” estaba recogida solo en el 57,6% de los informes anatomopatológicos (102 pacientes). De ellos, el 68,6% (70 pacientes) presentaban un valor  $\geq 1$  mitosis/mm<sup>2</sup>, y el resto un valor  $< 1$  mitosis/mm<sup>2</sup> (Figura 5.11).

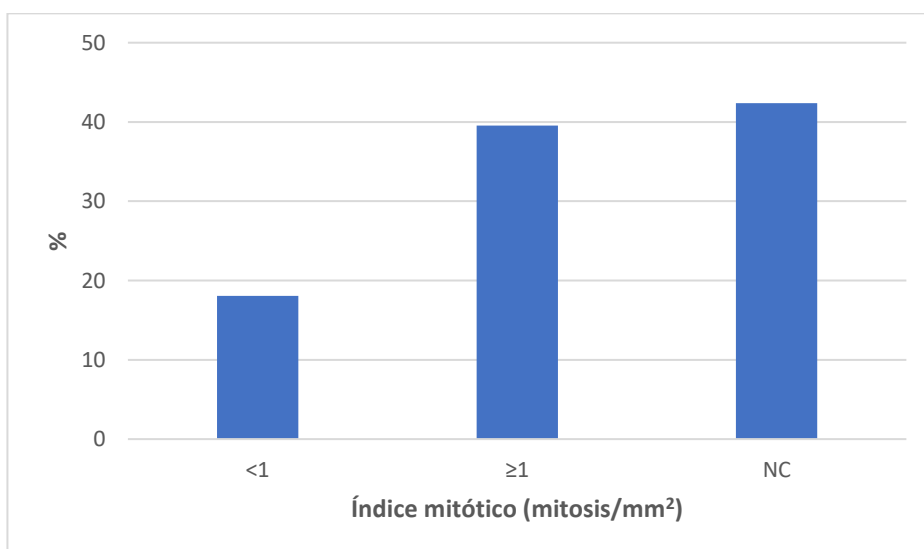


Figura 5.11: Distribución de la variable anatomopatológica “índice mitótico” del melanoma en la población total (N=177). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. NC: No consta.



- Otras variables anatomopatológicas: en la Figura 5.12 mostramos los resultados de diversas variables recogidas en los informes anatomopatológicos, cuyas categorías son “presente/ausente”. En algunas de estas variables existe un porcentaje llamativo de ausencia de datos, por lo que no fueron consideradas para el análisis, como se comentará en el apartado “Discusión”.

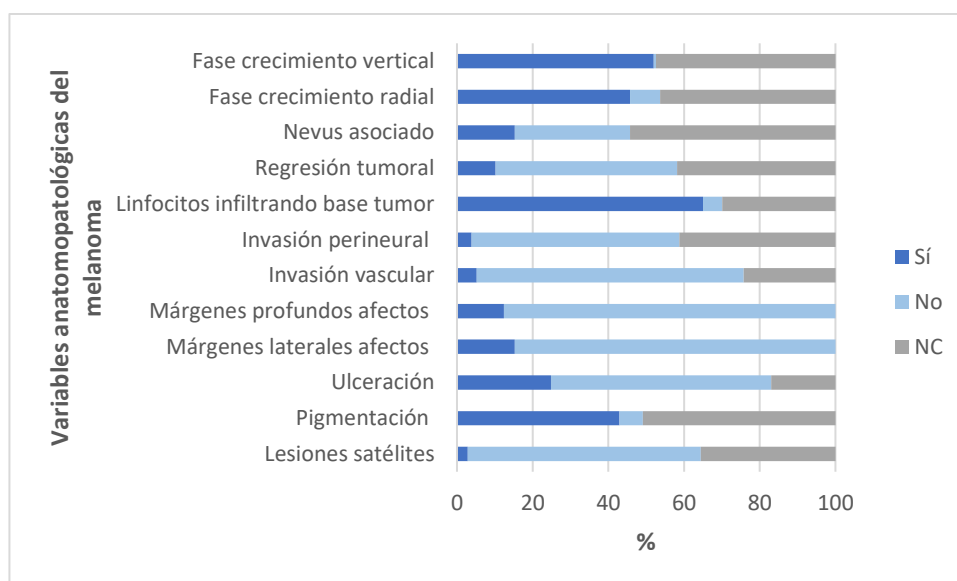


Figura 5.12: Distribución de la presencia de variables en el informe anatomopatológico del melanoma en la población total (N=177). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. NC: No consta.

- Estudio molecular de la mutación del gen BRAF: la determinación de la mutación del ganglio BRAF se realizó solo en el 12,4% de la población (22 pacientes), obteniéndose en el 50% mutación de dicho gen.

### 5.2.3. VARIABLES RELACIONADAS CON LA LINFOGAMMAGRAFÍA

Uno de los criterios de exclusión de pacientes del estudio fue la ausencia de migración del trazador a, al menos, una base linfática en la linfogammagrafía. Por ello, 7 pacientes no fueron incluidos, obteniéndose una sensibilidad de la técnica de la BSGC del 96,6%.

Del total de 177 pacientes incluidos en nuestro estudio, 140 (79,1%) presentaron migración del trazador hacia una única base linfática, evidenciándose la presencia de algún GC a ese nivel. Los restantes 37 pacientes (20,9% de la población) presentaron migración a más de una base ganglionar (Figura 5.13).

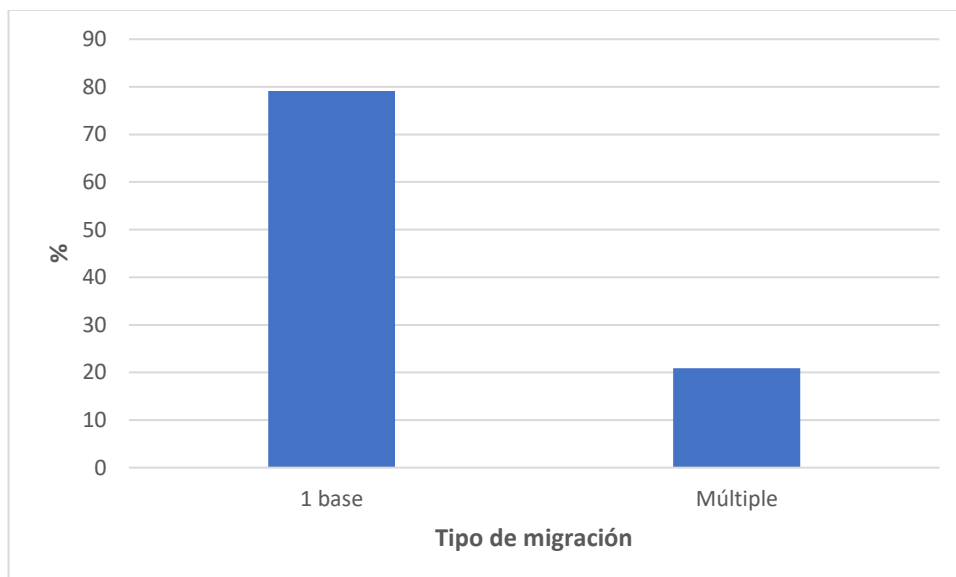


Figura 5.13: Tipos de migración del radiotrazador en la linfogammagrafía en la población total (N=177). Datos mostrados como porcentaje de pacientes.

#### 5.2.4. VARIABLES OBTENIDAS DE LA INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA Y ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO DEL GANGLIO CENTINELA

- **Tiempo de retardo:** la mediana del tiempo transcurrido desde la realización de la biopsia del melanoma a la de la BSGC, el denominado TR, fue de 53 días (IQR 39,5-70,5).
- **Tasa de detección:** la tasa de detección del GC en quirófano fue del 100%, al localizarse y researse al menos un GC en cada uno de los 177 pacientes incluidos en el estudio.
- **Número de ganglios reseados y analizados histológicamente:** el número de ganglios extirpados y analizados osciló entre 1 y 4, siendo la mediana de 2 (IQR 1-3) (Figura 5.14).

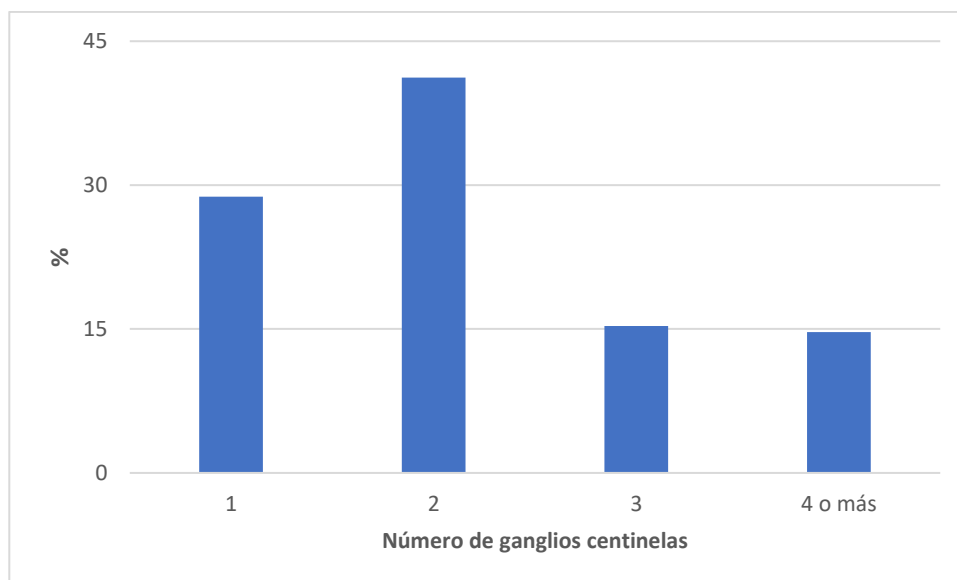


Figura 5.14: Número de ganglios centinelas resecados y analizados histológicamente, en la población total ( $N=177$ ). Datos mostrados como porcentaje de pacientes.

- **Estado ganglionar:** como hemos descrito previamente, de los 177 pacientes estudiados, 139 (78,5%) no presentaban afectación maligna del GC, siendo ésta la denominada población EGN. Los restantes 38 pacientes (21,4%) tenían afectación neoplásica del GC, siendo los denominados EGP. Los criterios de Rotterdam para la determinación de la carga tumoral solo constaban en 22 informes anatomopatológicos de estos pacientes EGP, siendo el valor “entre 0,1 mm y 1 mm” el más numeroso (45,5%) (Figura 5.15).

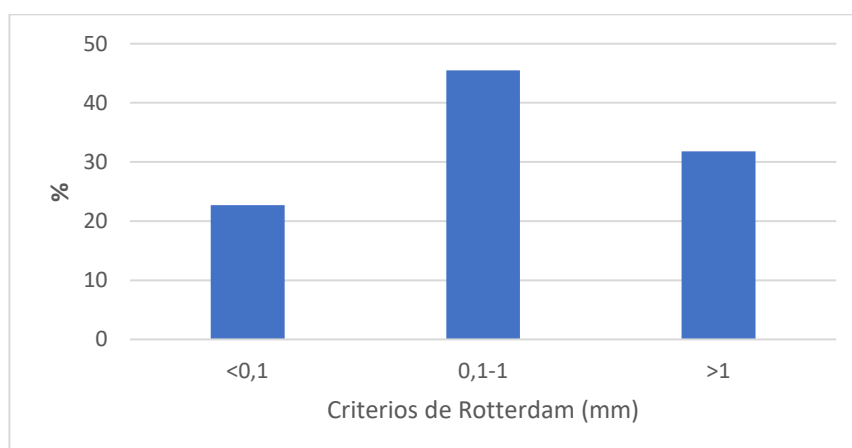


Figura 5.15: Distribución de los criterios de Rotterdam para carga tumoral en la población EGP ( $n=22$ ). Datos mostrados como porcentaje de pacientes.

### 5.2.5. VARIABLES OBTENIDAS DE LA LINFADENECTOMÍA

- **Linfadenectomía:** a los 38 pacientes con afectación neoplásica del GC se les realizó linfadenectomía de la base ganglionar donde se localizaba dicho ganglio. La mediana del intervalo de tiempo transcurrido entre la realización de la BSGC y la linfadenectomía fue de 41,5 días (IQR 28-49). La mediana de tiempo transcurrido entre la biopsia para el diagnóstico del melanoma maligno y la linfadenectomía, que denominamos como “tiempo de demora” (TD) fue de 89 días (IQR 68,25-113,75) (Figura 5.16).

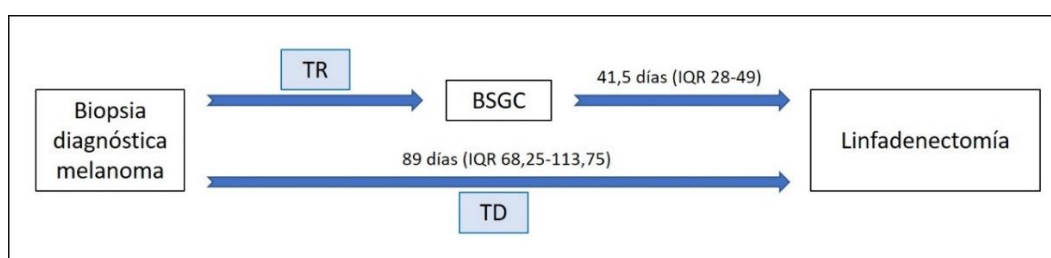


Figura 5.16: Esquema de medianas del tiempo transcurrido entre procedimientos ( $n=38$ ).

- **Características de los ganglios resecaados:** el número de ganglios resecaados en las linfadenectomías fue muy variable, con una mediana de 10 ganglios extraídos (IQR 6,75-16). De estos 38 pacientes, el 23,7% (9 pacientes) presentó afectación neoplásica en alguno estos ganglios resecaados, con una mediana de 1 ganglio (IQR 1-2) con infiltración maligna.

### 5.2.6. VARIABLES RELACIONADAS CON LA EVOLUCIÓN DEL PACIENTE

- **Tiempo de seguimiento:** la mediana del tiempo de seguimiento de los 177 pacientes incluidos en el estudio fue de 43 meses (IQR 24,5-64).
- **Tiempo libre de enfermedad:** de los 177 pacientes a estudio, 22 (12,4%) desarrollaron algún tipo de recurrencia de su enfermedad neoplásica, haciéndose presente en algunos casos en distintas localizaciones de forma sincrónica o metacrónica, con un total de 33 recidivas. La metástasis a distancia fue el tipo de recurrencia más frecuente, presente en el 7,3% de la población, y el tipo de recurrencia menos frecuente fue la recurrencia local (en el 0,6% del total de pacientes) (Figura 5.17).

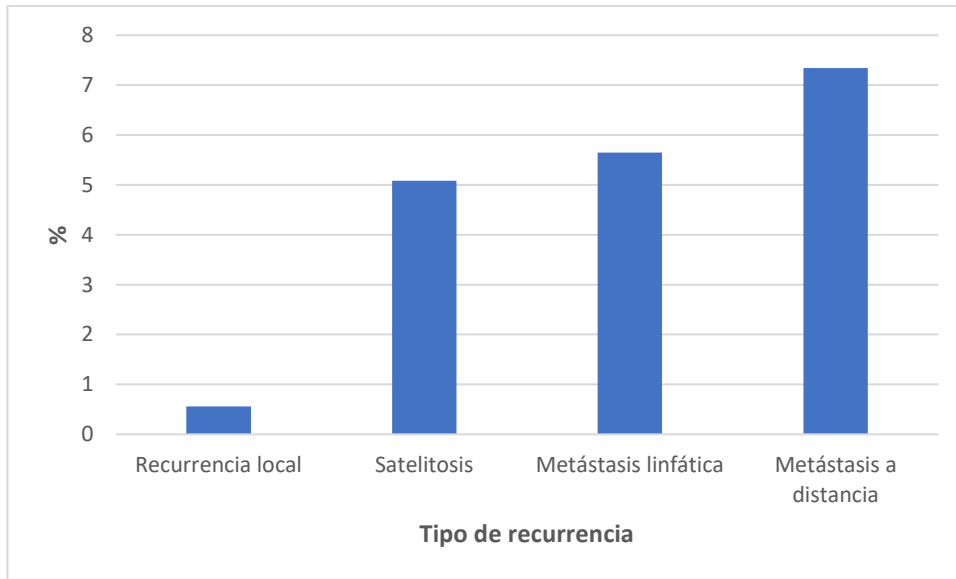


Figura 5.17: Distribución y frecuencia de los tipos de recurrencia en la población total (N=177). Datos mostrados como porcentaje de pacientes.

La única recurrencia local que fue diagnosticada tuvo lugar a los 9 meses de la realización de la BSGC. En la Figura 5.18 mostramos las medianas del tiempo transcurrido (en meses) desde el diagnóstico del melanoma hasta la aparición del resto de recurrencias, así como a la aparición de la primera recurrencia.

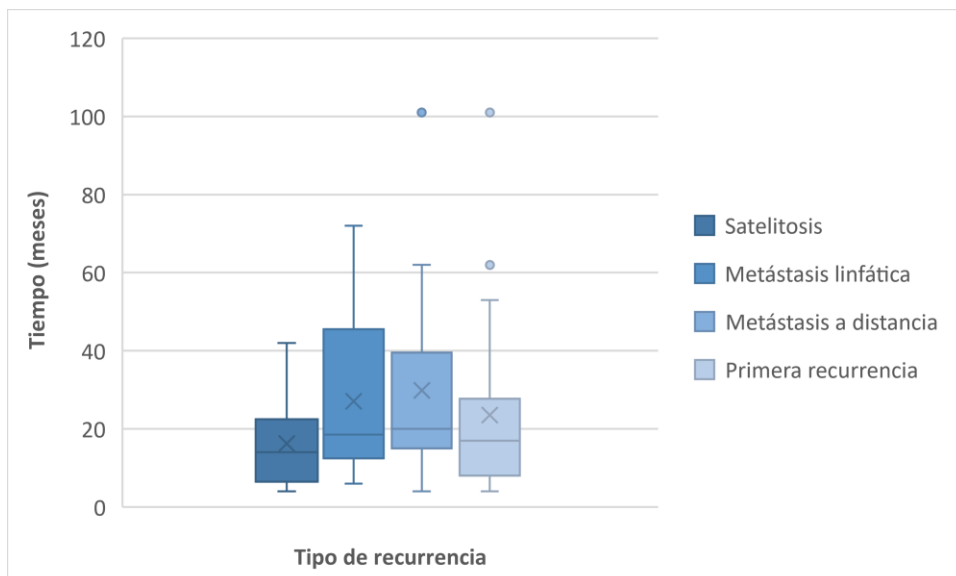


Figura 5.18: Distribución del tiempo a aparición de cada tipo de recurrencia en la población total (n=22).

- **Mortalidad:** de los 177 pacientes que conformaban nuestro estudio, 13 (7,3%) fallecieron durante el tiempo de seguimiento, 11 de ellos (6,2%) por causa del melanoma y 2 (1,1%) por causa ajena al melanoma.

La mediana del tiempo de supervivencia de los 11 pacientes que fallecieron por causa del melanoma fue de 24 meses (IQR 16-32), y la de los 2 pacientes que fallecieron por causa ajena al melanoma fue de 22 meses.

### 5.3. ANÁLISIS BIVARIANTE

Presentamos a continuación los resultados obtenidos del análisis bivalente de la relación del EG respecto a las distintas variables presentadas en el análisis descriptivo (comparando las dos poblaciones: pacientes EGN y pacientes EGP), y posteriormente los resultados comparados entre las dos poblaciones estratificadas por el TR (pacientes con  $TR \leq 50$  días y con  $TR > 50$  días) con las mismas variables.

#### 5.3.1. ESTADO GANGLIONAR

##### 5.3.1.1. VARIABLES DEMOGRÁFICAS

- **Sexo:** la distribución por sexos fue equitativa (Figura 5.19), no existiendo diferencias estadísticamente significativas en la distribución entre subpoblaciones.

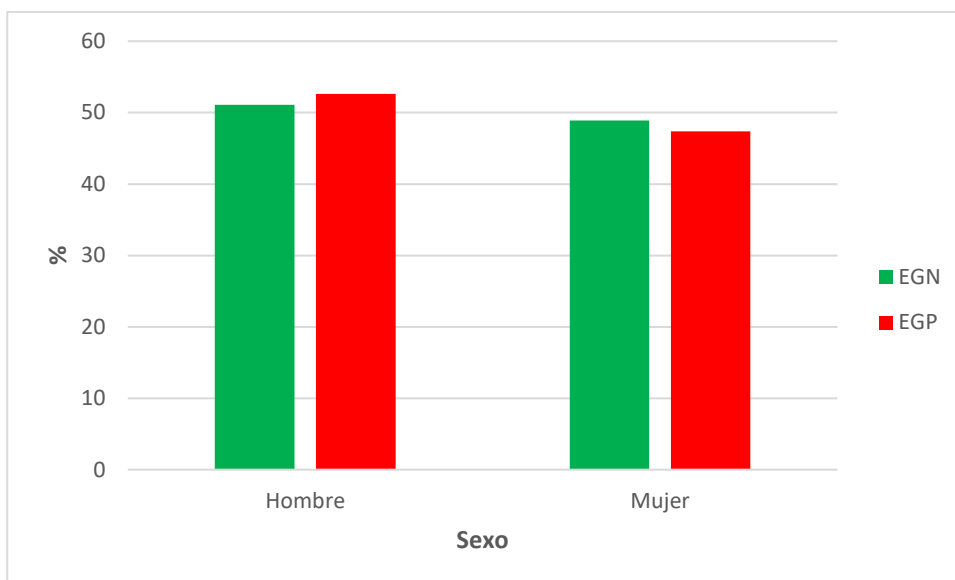


Figura 5.19: Distribución de la población clasificada por estado ganglionar (EGN:  $n=139$ , EGP:  $n=38$ ) para la variable "edad". Datos mostrados como porcentaje de pacientes.

- **Edad:** la mediana de edad de los pacientes con EGP (48,5 años [IQR 40,50-62,50]) fue comparativamente menor que la de los pacientes EGN (58,0 años [IQR 44-69]), con valor estadísticamente significativo ( $p=0,024$ ). Al considerar el punto de corte de 60 años, se observa que los pacientes EGP presentan un mayor porcentaje de pacientes de menor edad que los EGN, aunque sin ser estadísticamente significativo ( $p=0,071$ ) (Figura 5.20).

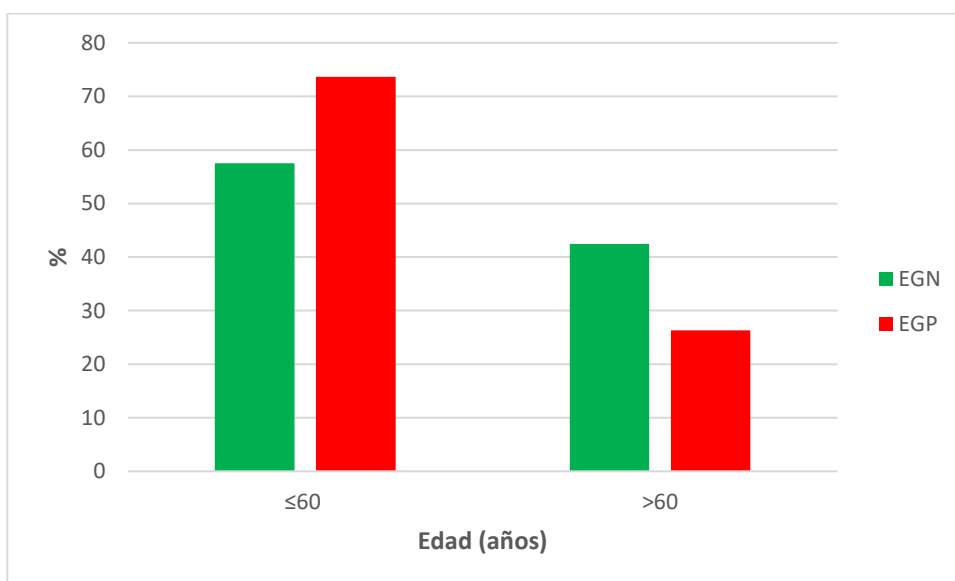


Figura 5.20: Distribución de la población clasificada por estado ganglionar (EGN:  $n=139$ , EGP:  $n=38$ ) para la variable "edad categorizada". Datos mostrados como porcentaje de pacientes.

5.3.1.2. VARIABLES RELACIONADAS CON EL TUMOR PRIMARIO

- Localización:** en la clasificación pormenorizada no se obtuvieron valores estadísticamente significativos para la distribución de los melanomas en la clasificación por EG (Figura 5.21). La cara fue la localización más frecuente (19,4%) en la población EGN, siendo muy infrecuente en los EGP (2,6%). Tampoco se obtuvieron resultados estadísticamente significativos al agrupar las localizaciones de los melanomas (Figura 5.22). No obstante, el tronco fue la localización más frecuente en los pacientes EGP (39,4%).

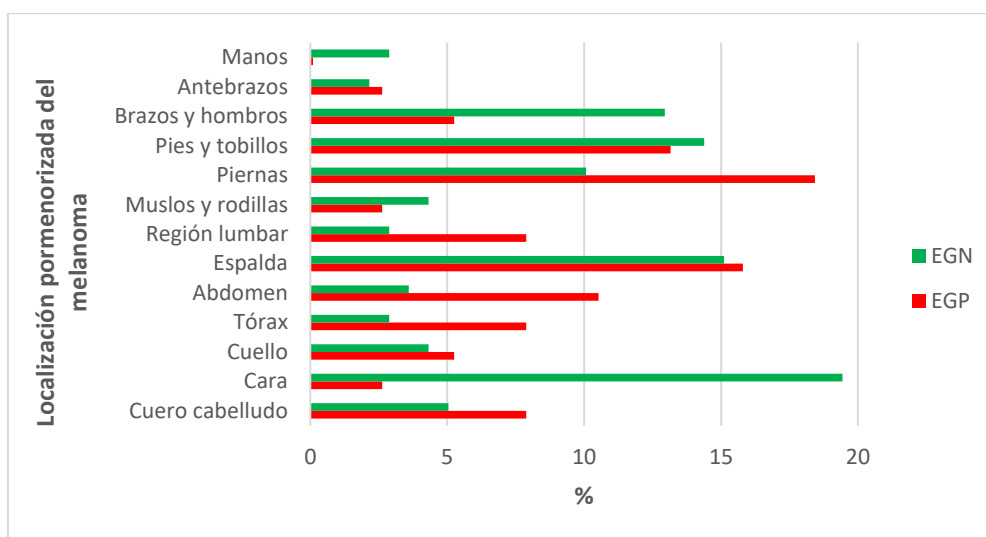


Figura 5.21: Distribución pormenorizada de la localización del melanoma en la población clasificada según estado ganglionar (EGN:  $n=139$ , EGP:  $n=38$ ). Datos mostrados como porcentaje de pacientes.

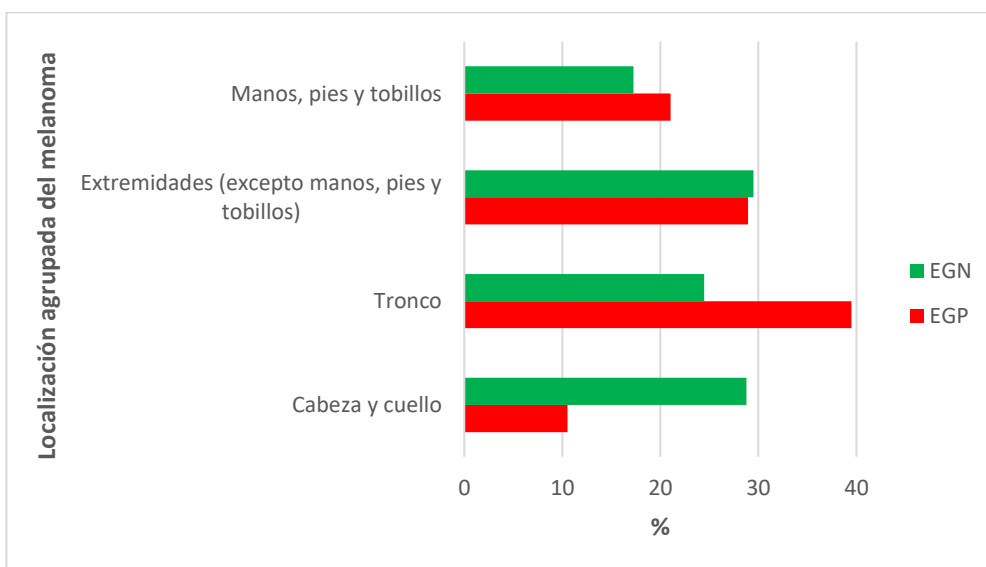


Figura 5.22: Distribución agrupada de la localización del melanoma en la población clasificada según estado ganglionar (EGN:  $n=139$ , EGP:  $n=38$ ). Datos mostrados como porcentaje de pacientes.



- **Variables anatomopatológicas:**

- Índice de Breslow: la distribución del índice de Breslow al considerarlo como variable continua muestra diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,001$ ), presentando la población EGN una mediana de 1,4 (IQR 0,85-2,4) y la EGP una de 3,0 (IQR 1,81-4,35). En las Figuras 5.23 y 5.24 mostramos los índices de Breslow categorizados (categorizado-1 y categorizado-2 respectivamente) obteniéndose también significación estadística ( $p < 0,001$ ) en su distribución.

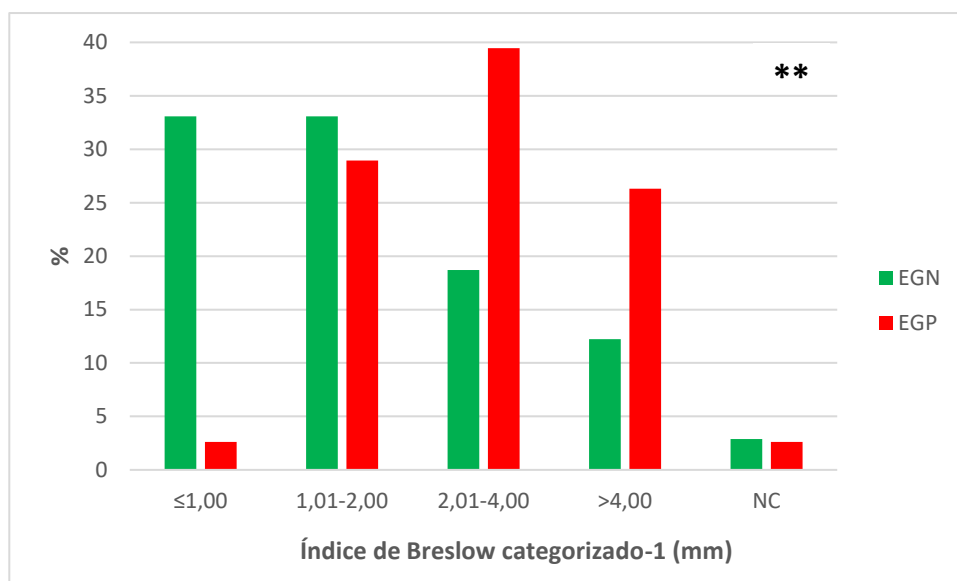


Figura 5.23: Distribución de la variable “índice de Breslow categorizado-1” en la población clasificada por estado ganglionar (EGN:  $n=139$ , EGP:  $n=38$ ). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. NC: No consta. \*\*Diferencias significativas entre pacientes de poblaciones clasificadas por estado ganglionar ( $p < 0,05$ ).

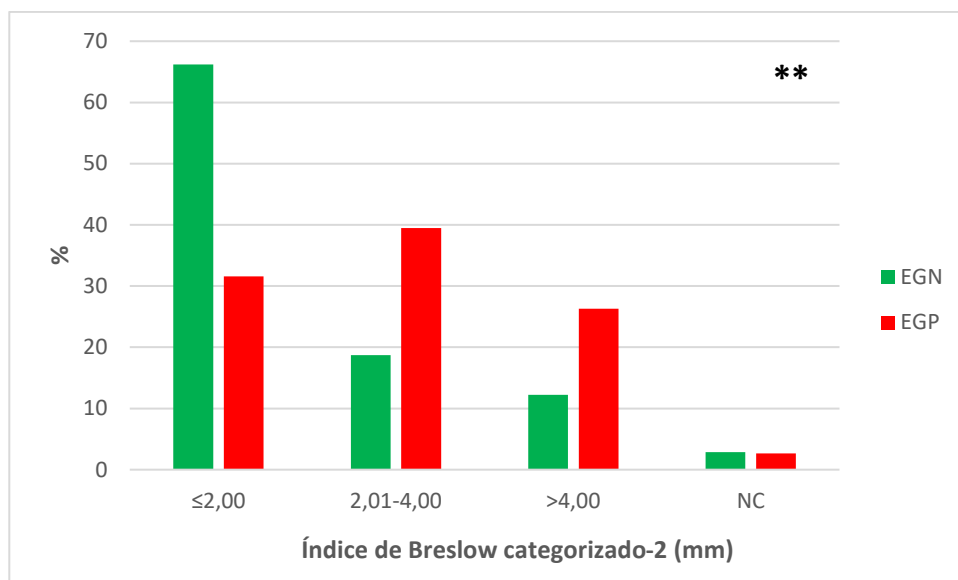


Figura 5.24: Distribución de la variable “índice de Breslow categorizado-2” en la población clasificada por estado ganglionar (EGN:  $n=139$ , EGP:  $n=38$ ). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. NC: No consta. \*\*Diferencias significativas entre pacientes de poblaciones clasificadas por estado ganglionar ( $p<0,05$ ).

- Nivel de Clark: el nivel IV fue el más frecuente en ambas poblaciones, sin presentar la distribución diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,410$ ) (Figura 5.25).

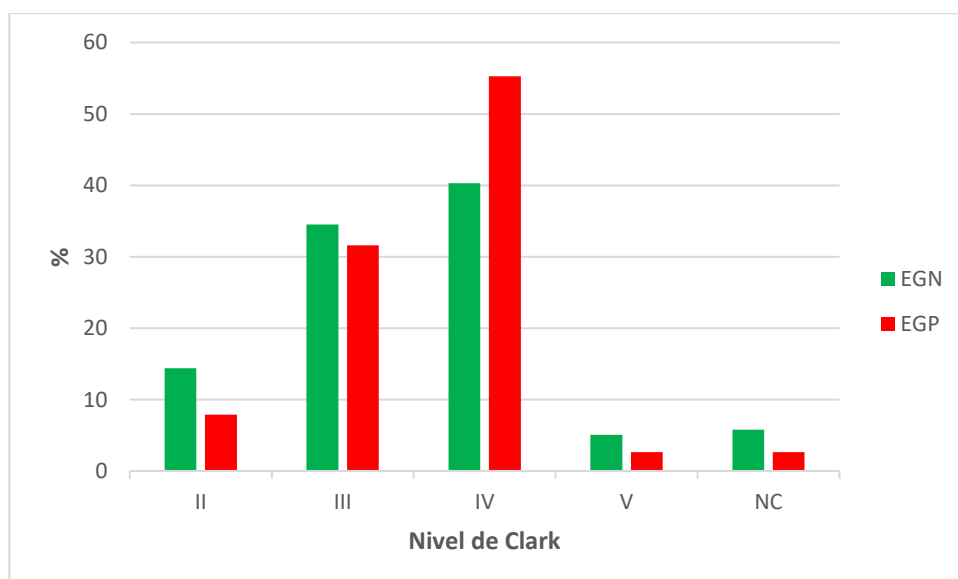


Figura 5.25: Distribución de la variable “niveles de Clark” en la población clasificada por estado ganglionar (EGN:  $n=139$ , EGP:  $n=38$ ). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. NC: No consta.

- Índice mitótico: la variable anatomopatológica “índice mitótico” presentó distribución estadísticamente significativa ( $p=0,003$ ) en la clasificación por EG, aunque en un número elevado de informes no estaba recogida esta variable (Figura 5.26).

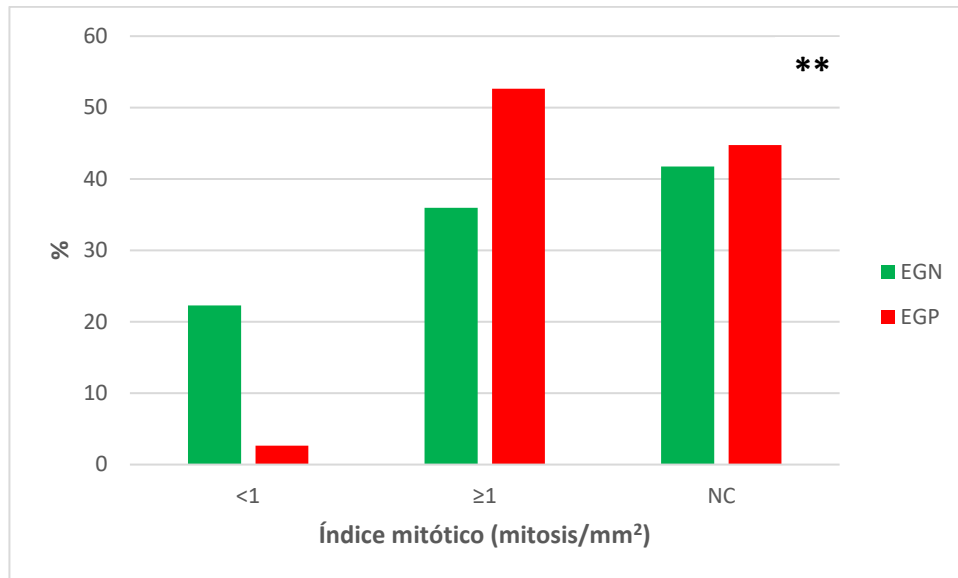


Figura 5.26: Distribución de la variable anatomopatológica “índice mitótico” del melanoma en la población clasificada por estado ganglionar (EGN:  $n=139$ , EGP:  $n=38$ ). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. NC: No consta. \*\*Diferencias significativas entre pacientes de poblaciones clasificadas por estado ganglionar ( $p<0,05$ ).

- Otras variables anatomopatológicas: estas variables descritas en los informes anatomopatológicos de los pacientes EGN quedan recogidas en la Figura 5.27, y los de la población EGP en la Figura 5.28. Se obtuvieron valores estadísticamente significativos para las variables: presencia de lesiones satélites ( $p=0,023$ ), ulceración ( $p=0,001$ ) e invasión vascular ( $p=0,015$ ).

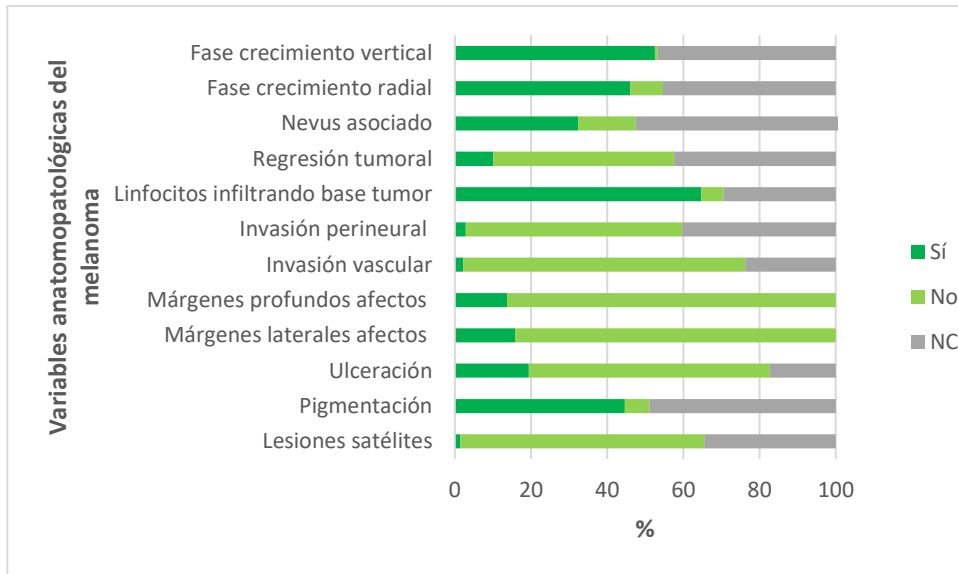


Figura 5.27: Distribución de la presencia de variables incluidas en el informe anatomopatológico del melanoma en la población EGN ( $n=139$ ). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. NC: No consta.

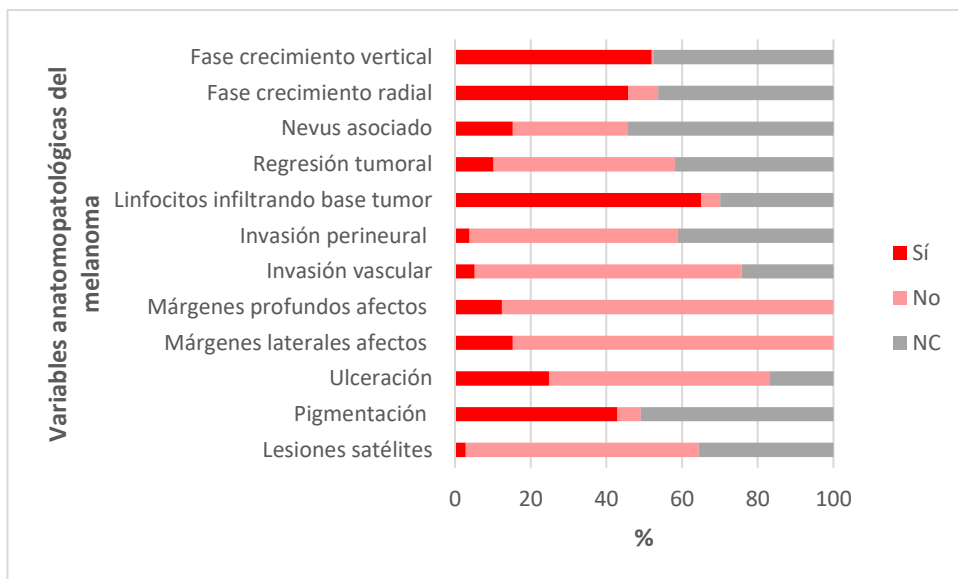


Figura 5.28: Distribución de la presencia de variables incluidas en el informe anatomopatológico del melanoma en la población EGP ( $n=38$ ). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. NC: No consta.

- Estudio molecular de la mutación del gen BRAF: en la Figura 5.29 mostramos la distribución del estado mutacional del gen BRAF clasificado según el EG. Como comentamos previamente, en un bajo porcentaje del total de la población se estudió dicha mutación, y no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,170$ ) entre subgrupos.

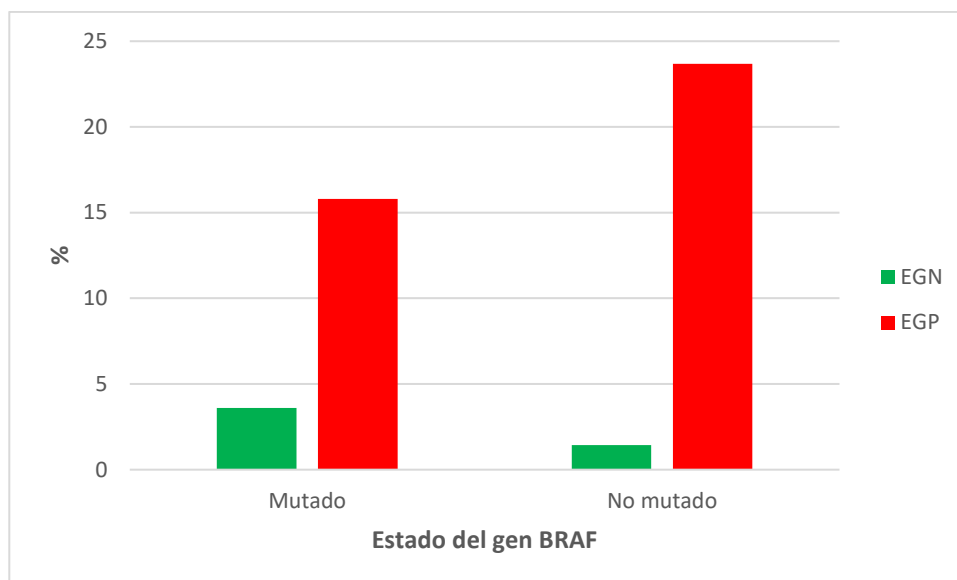


Figura 5.29: Distribución del estado mutacional del gen BRAF en la población clasificada por estado ganglionar (EGN:  $n=7$ , EGP:  $n=15$ ). Datos mostrados como porcentaje de pacientes.

### 5.3.1.3. VARIABLES RELACIONADAS CON LA LINFOGAMMAGRAFÍA

La migración del trazador en la linfo gammagrafía realizada para la localización del GC hacia una única base linfática fue el hallazgo más frecuente en ambas poblaciones, aunque sin que existiera asociación estadísticamente significativa ( $p=0,634$ ) (Figura 5.30).

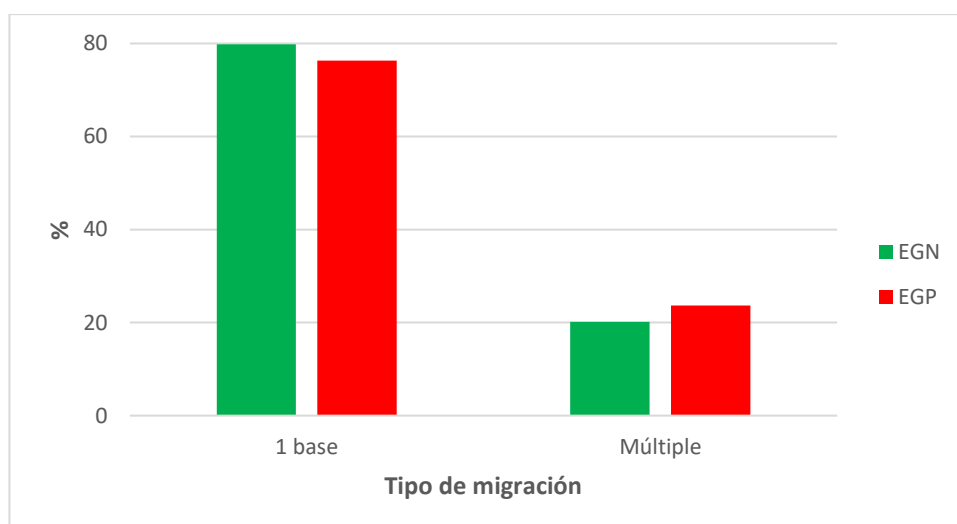


Figura 5.30: Tipo de migración del radiotrazador en la linfo gammagrafía en la población total clasificada por estado ganglionar (EGN:  $n=139$ , EGP:  $n=38$ ). Datos mostrados como porcentaje de pacientes.

5.3.1.4. VARIABLES OBTENIDAS DE LA INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA Y ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO DEL GANGLIO CENTINELA

- **Tiempo de retardo:** la mediana del intervalo de tiempo transcurrido desde la realización de la biopsia del melanoma y la BSGC fue similar en ambas poblaciones: 54,0 días (IQR 40-71) para la población EGN, y 50,5 días (IQR 37,75-70,25) para la población EGP, sin que la diferencia fuera estadísticamente significativa ( $p=0,609$ ) (Figura 5.31).

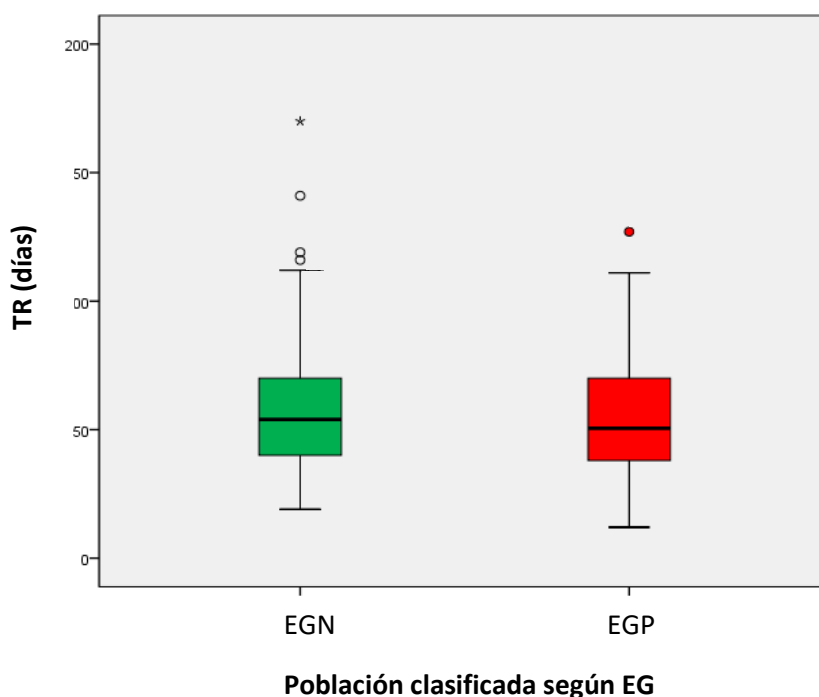


Figura 5.31: Distribución de la duración del tiempo de retardo en la población clasificada por estado ganglionar (EGN:  $n=139$ , EGP:  $n=38$ ).

- **Número de ganglios resecaados y analizados histológicamente:** la extirpación y análisis de 2 GC fue el hallazgo más frecuente en ambas poblaciones (Figura 5.32), con una mediana de 2 ganglios para la población EGN (IQR 1-3) y para la EGP (IQR 1-3,25), sin obtenerse valores estadísticamente significativos ( $p=0,385$ ).

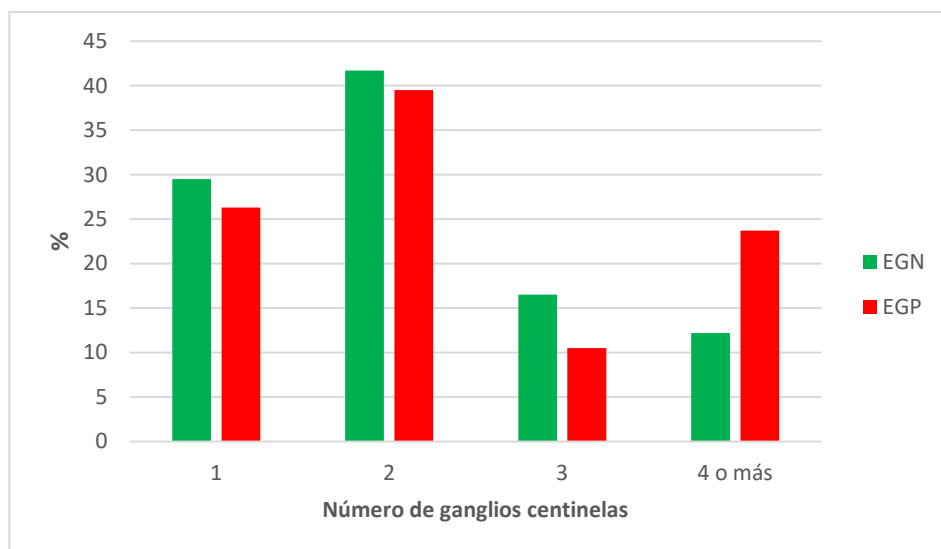


Figura 5.32: Número de ganglios centinela resecados y analizados histológicamente, en la población clasificada por estado ganglionar (EGN:  $n=139$ , EGP:  $n=38$ ). Datos mostrados como porcentaje de pacientes.

#### 5.3.1.5. VARIABLES RELACIONADAS CON LA EVOLUCIÓN DEL PACIENTE

- **Tiempo de seguimiento:** la mediana del tiempo de seguimiento de los pacientes EGP (28 meses [IQR 15,75-58]) fue menor que la de los pacientes EGN (46 meses [IQR 29-66]), con valor estadísticamente significativo ( $p=0,011$ ) (Figura 5.33).

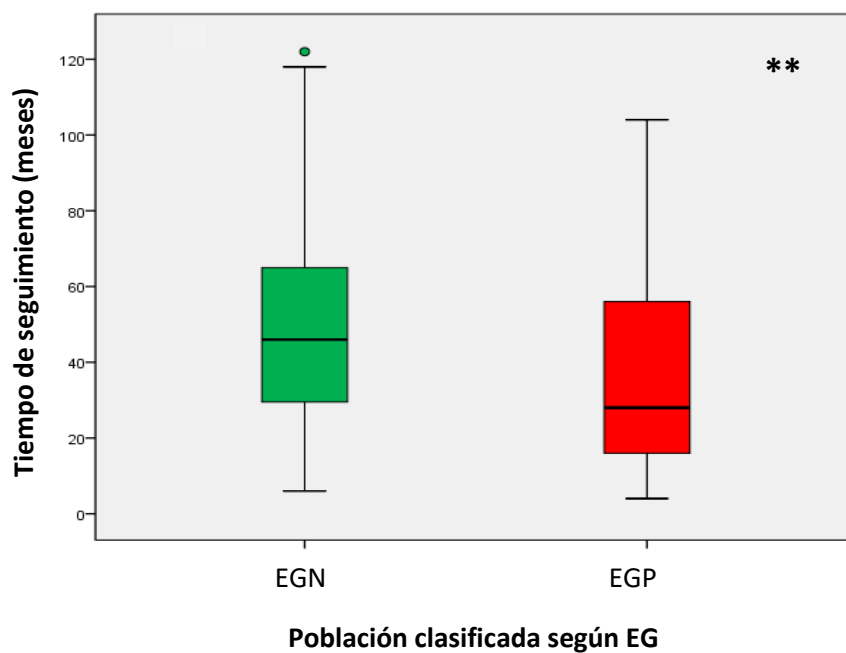


Figura 5.33: Distribución del tiempo de seguimiento de la población clasificada por estado ganglionar (EGN:  $n=139$ , EGP:  $n=38$ ). \*\*Diferencias significativas entre pacientes de poblaciones clasificadas por estado ganglionar ( $p<0,05$ ).

- **Tiempo libre de enfermedad:** en la clasificación de los pacientes en función del EG, la aparición de algún tipo de recurrencia fue estadísticamente significativa ( $p=0,018$ ), siendo más frecuente en la población EGP (23,7%) respecto a la EGN (9,4%) (Figura 5.34).

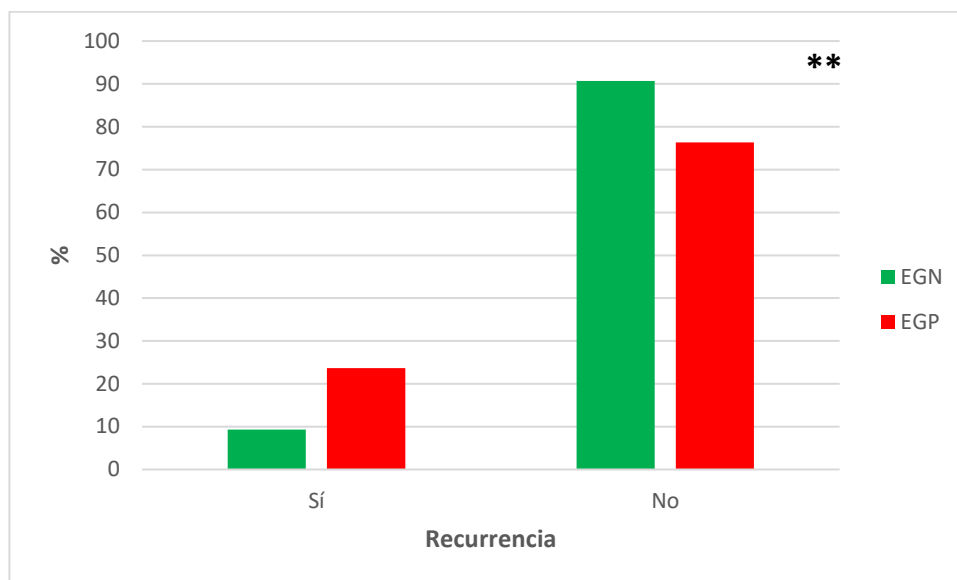


Figura 5.34: Distribución de la presencia de recurrencia en la población clasificada por estado ganglionar (EGN:  $n=139$ , EGP:  $n=38$ ). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. \*\*Diferencias significativas entre pacientes de poblaciones clasificadas por estado ganglionar ( $p<0,05$ ).

Al distribuir los pacientes según el tipo de recurrencia, observamos que todas ellas fueron más frecuentes en el EGP, siendo la satelitosis y las metástasis a distancia las que presentaron valores estadísticamente significativos ( $p=0,001$  y  $p=0,024$  respectivamente) (Figura 5.35).



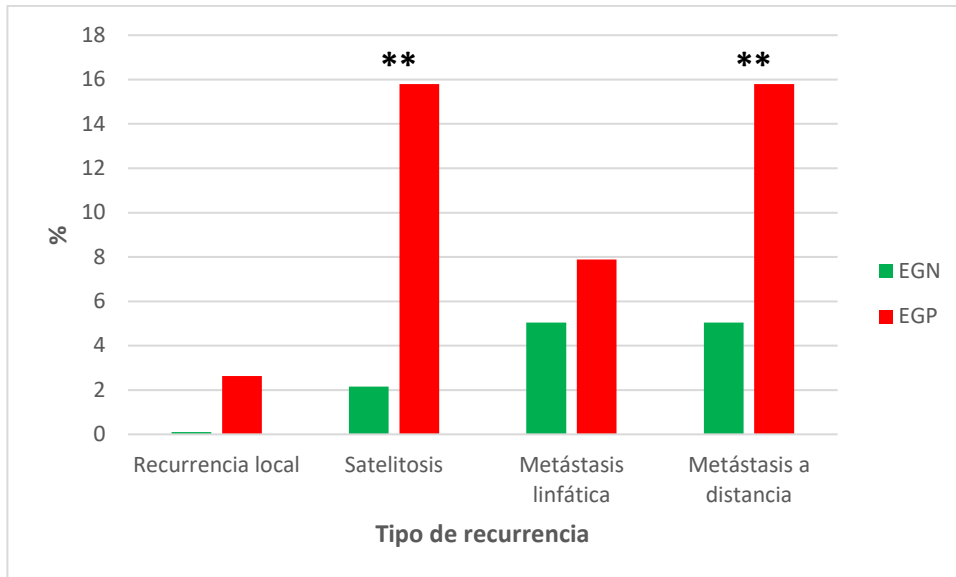


Figura 5.35: Distribución del tipo de recurrencia en la población clasificada por estado ganglionar (EGN:  $n=139$ , EGP:  $n=38$ ). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. \*\*Diferencias significativas entre pacientes de poblaciones clasificadas por estado ganglionar ( $p<0,05$ ).

En relación al tiempo transcurrido desde el diagnóstico del melanoma hasta la aparición de algún tipo de recurrencia:

- El único paciente que presentó una recidiva local era EGP, ocurriendo el evento a los 9 meses tras la realización de la BSGC.
- Nueve pacientes presentaron satelitosis: la mediana a la aparición de este evento en los pacientes EGN ( $n=3$ ) fue de 19 meses, y en los EGP ( $n=6$ ) fue de 11,5 meses (IQR 7-21,25), sin que se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambas poblaciones (Figura 5.36).

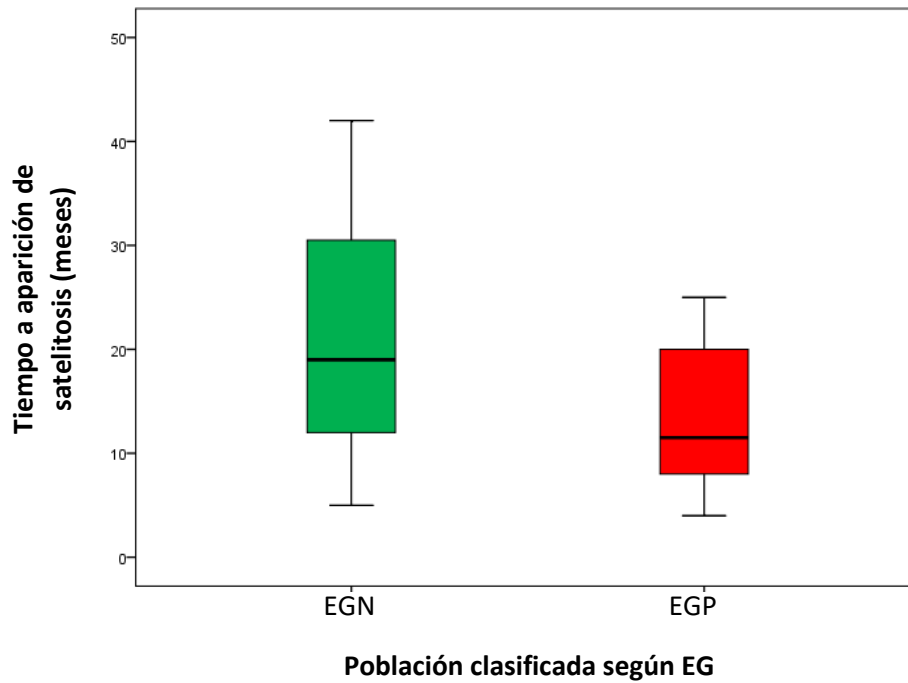


Figura 5.36: Distribución del tiempo transcurrido a la aparición de recurrencia tipo satelitosis en la población clasificada por estado ganglionar (EGN:  $n=3$ , EGP:  $n=6$ ).

- No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en relación al tiempo a la aparición de las recurrencias linfáticas (10 pacientes; EGN:  $n=7$ , EGP:  $n=3$ ), a distancia (13 pacientes; EGN:  $n=7$ , EGP:  $n=6$ ) o a la aparición de la primera recurrencia (22 pacientes; EGN:  $n=13$ , EGP:  $n=9$ ) (Figura 3.37).

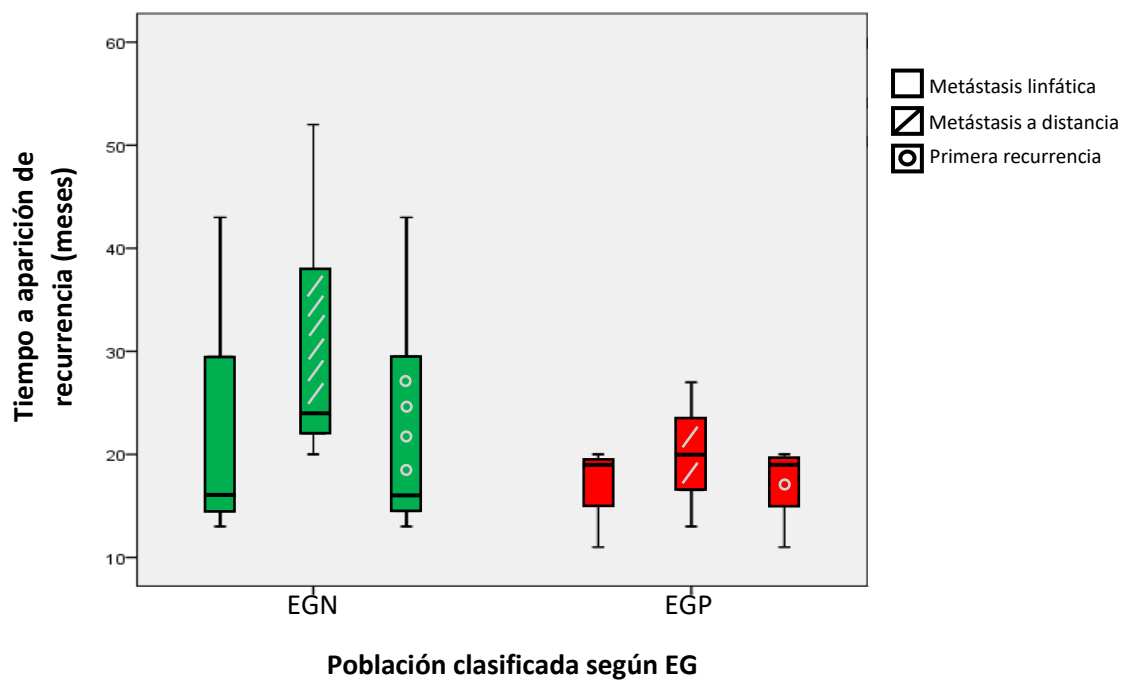


Figura 5.37: Distribución del tiempo a la aparición de recurrencia linfática ( $n=10$ ), a distancia ( $n=13$ ) y a primera recurrencia ( $n=22$ ) en la población clasificada por estado ganglionar.

- **Mortalidad:** la población EGP presentó mayor porcentaje de fallecimientos en todos los tipos de mortalidad, con asociación estadísticamente significativa:  $p < 0,001$  para mortalidad global,  $p = 0,006$  para mortalidad por causa del melanoma y  $p = 0,007$  para mortalidad por causa ajena al melanoma (Figura 5.38).

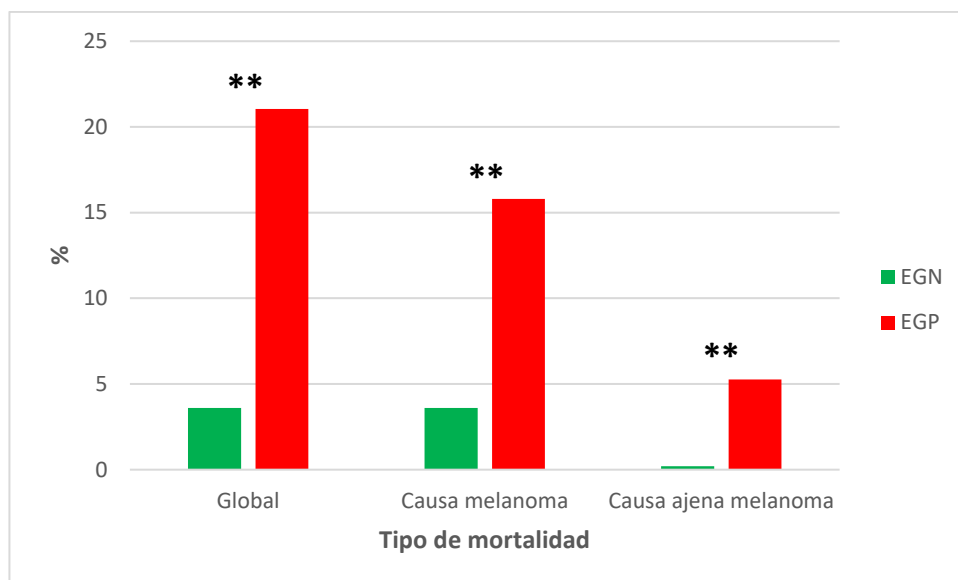


Figura 5.38: Distribución del tipo de mortalidad en la población clasificada por estado ganglionar (EGN:  $n=139$ , EGP:  $n=38$ ). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. \*\*Diferencias significativas entre pacientes de poblaciones clasificadas por estado ganglionar ( $p<0,05$ ).

La mediana del tiempo al fallecimiento por causa del melanoma de los 11 pacientes fue de 25,0 meses (IQR 21-42,5) para los pacientes EGN (5 pacientes), y de 18,5 meses (IQR 12,5-46,25) para los EGP (6 pacientes), aunque sin obtenerse diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,273$ ) (Figura 5.39). Los 2 pacientes que fallecieron por causa ajena al melanoma eran EGP y presentaron una mediana de 22 meses a dicho evento.

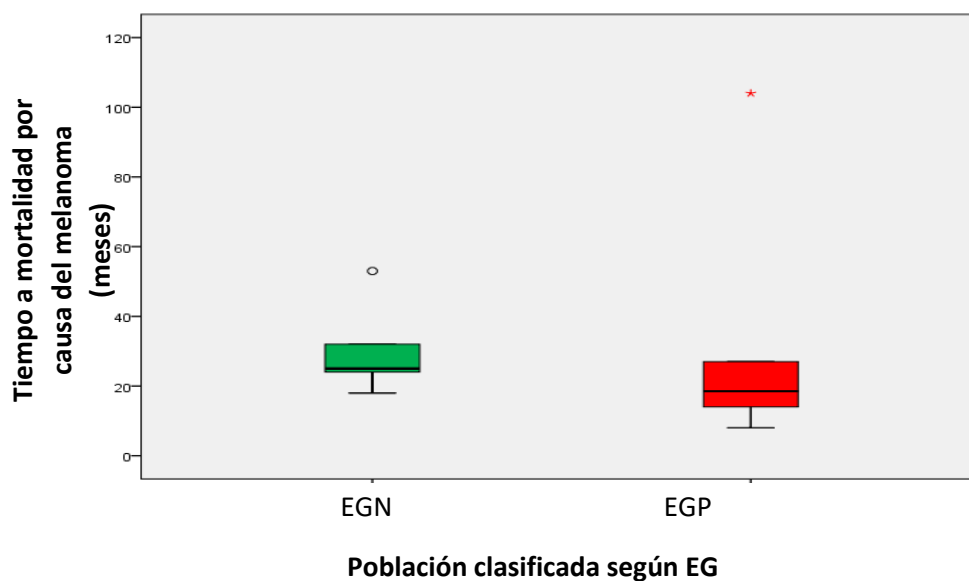


Figura 5.39: Distribución del tiempo a la aparición del evento “muerte por causa del melanoma” en la población clasificada por estado ganglionar (EGN:  $n=5$ , EGP:  $n=6$ ).

### 5.3.2. TIEMPO DE RETARDO

#### 5.3.2.1. VARIABLES DEMOGRÁFICAS

- **Sexo:** la distribución por sexos fue similar al clasificar a los pacientes según TR (Figura 5.40), sin que se obtuvieran diferencias estadísticamente significativas.

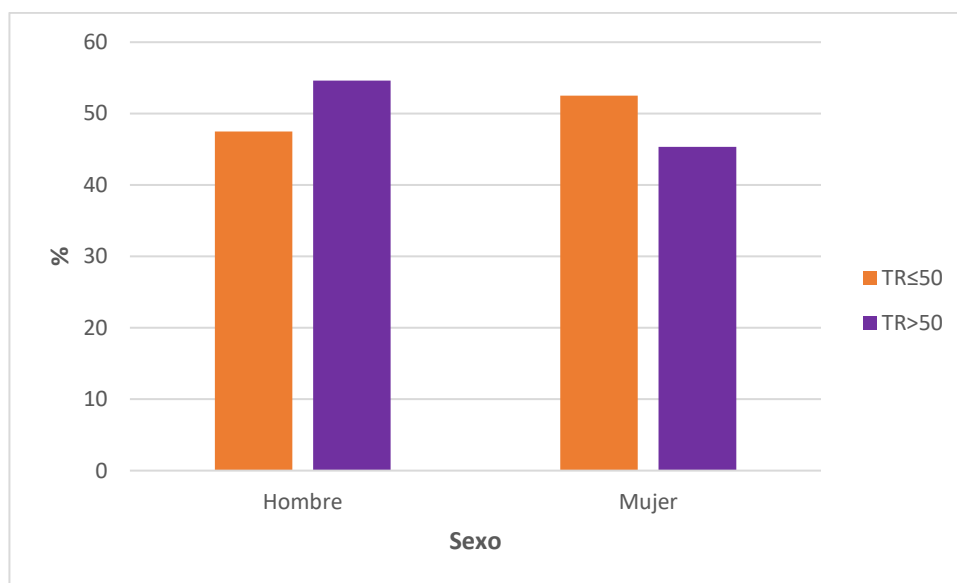


Figura 5.40: Distribución de la población clasificada por tiempo de retardo (TR≤50: n=80, TR>50: n=97) para la variable "sexo". Datos mostrados como porcentaje de pacientes.

- **Edad:** de los grupos de población establecidos, la población TR≤50 era comparativamente más joven que la TR>50, presentando asociación estadísticamente significativa ( $p=0,032$ ) al considerarla como variable continua: la mediana de edad de la población TR≤50 fue de 52 años (IQR 41-66,2), y la de la población TR>50 fue de 59 años (IQR 44,5-68). También se obtuvo significación estadística ( $p=0,026$ ) al estratificar la edad con el punto de corte de 60 años (Figura 5.41).

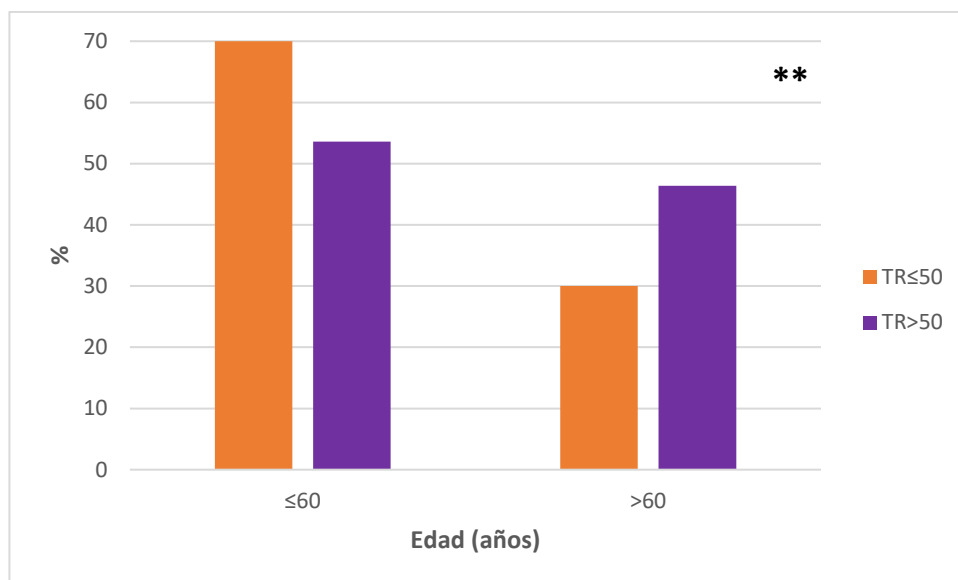


Figura 5.41: Distribución de la población total clasificada por tiempo de retardo (TR≤50: n=80, TR>50: n=97) para la variable “edad categorizada”. Datos mostrados como porcentaje de pacientes. \*\*Diferencias significativas entre pacientes de poblaciones clasificadas por tiempo de retardo (p<0,05).

### 5.3.2.2. VARIABLES RELACIONADAS CON EL TUMOR PRIMARIO

- Localización:** no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en la distribución de la localización de los melanomas ni en la clasificación pormenorizada (Figura 5.42) ni en la agrupada (Figura 5.43). No obstante, la localización estratificada más frecuente fue la cara (en la población TR≤50, con un 23,7%), mientras que la localización agrupada más frecuente fue el tronco (en la población TR>50, con un 35,0%).

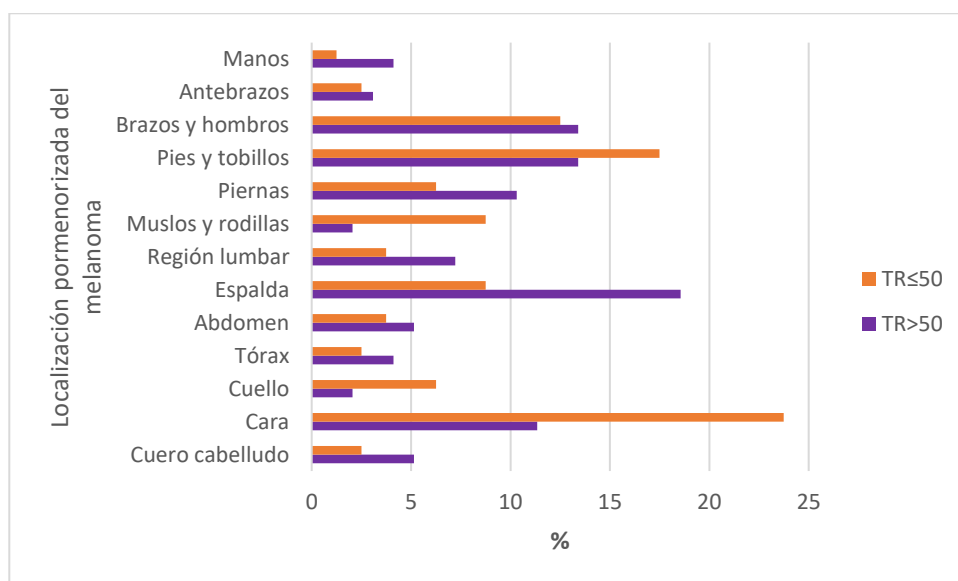


Figura 5.42: Distribución pormenorizada de la localización del melanoma en la población clasificada por tiempo de retardo (TR≤50: n=80, TR>50: n=97). Datos mostrados como porcentaje de pacientes.

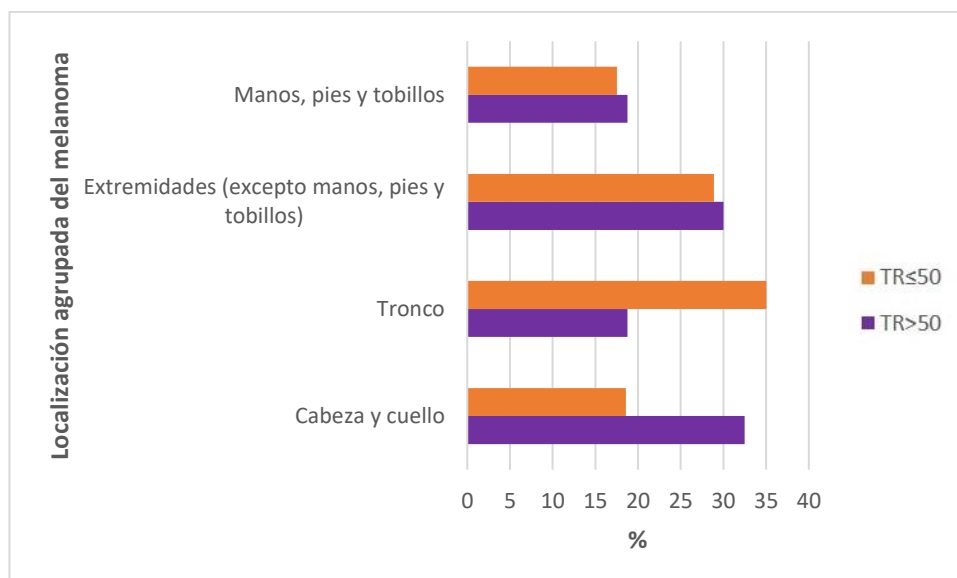


Figura 5.43: Distribución agrupada de la localización del melanoma en la población clasificada por tiempo de retardo (TR≤50:  $n=80$ , TR>50:  $n=97$ ). Datos mostrados como porcentaje de pacientes.

- **Variables anatomopatológicas:**

- Índice de Breslow: la mediana del índice de Breslow considerado como variable continua para la población TR≤50 fue de 1,8 mm (IQR 1,05-3,37) y para la población TR>50 fue de 1,7 mm (IQR 0,92-2,8). En las Figuras 5.44 y 5.45 mostramos la distribución del “índice de Breslow categorizado-1” e “índice de Breslow categorizado-2” respectivamente. No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en la distribución por subpoblaciones.

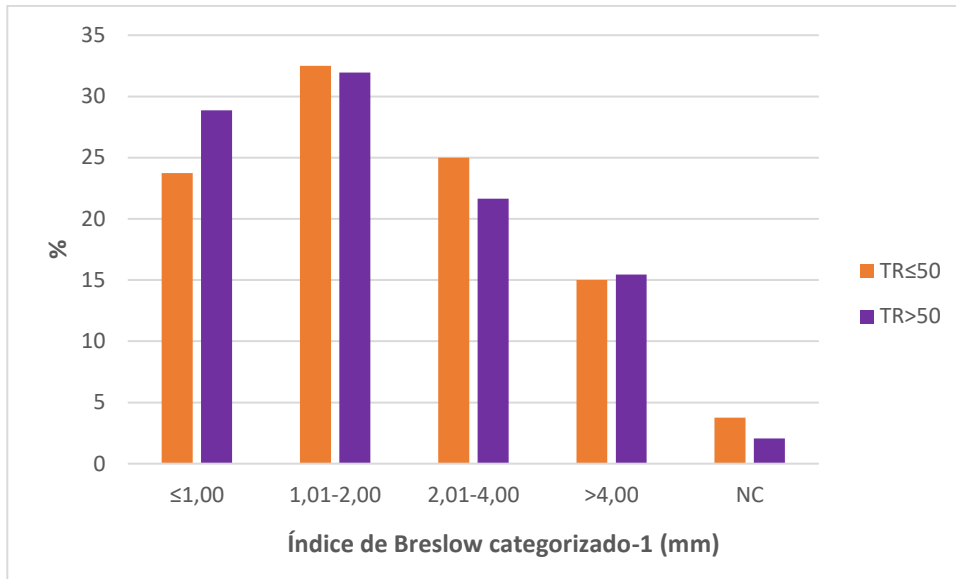


Figura 5.44: Distribución de la variable “índice de Breslow categorizado-1” en la población clasificada por tiempo de retardo (TR≤50: n=80, TR>50: n=97). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. NC: No consta.

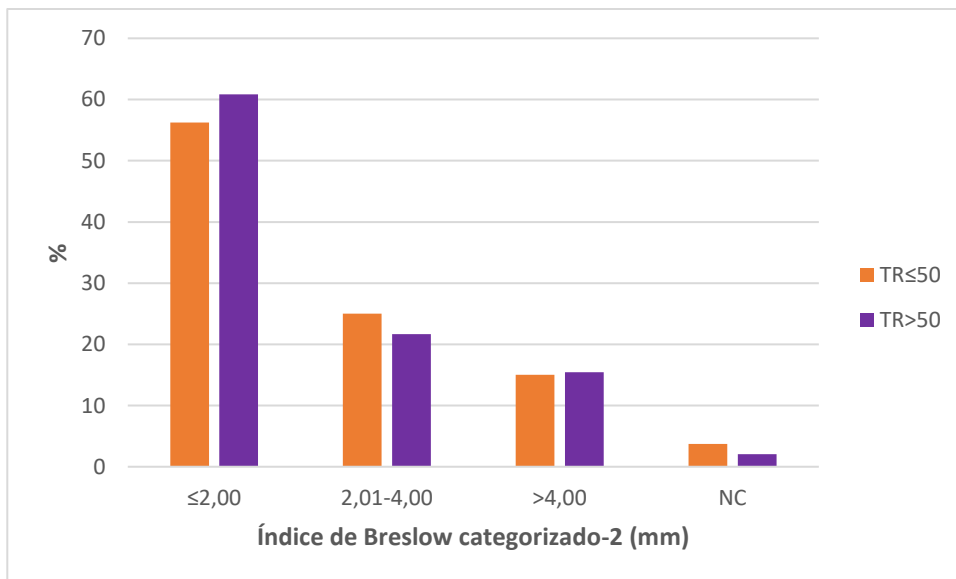


Figura 5.45: Distribución de la variable “índice de Breslow categorizado-2” en la población clasificada por tiempo de retardo (TR≤50: n=80, TR>50: n=97). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. NC: No consta.

- Nivel de Clark: en ambas poblaciones clasificadas por TR, el nivel IV de Clark fue el que se encontraba presente en mayor número de pacientes, aunque sin que se objetivaran diferencias estadísticamente significativas (Figura 5.46).



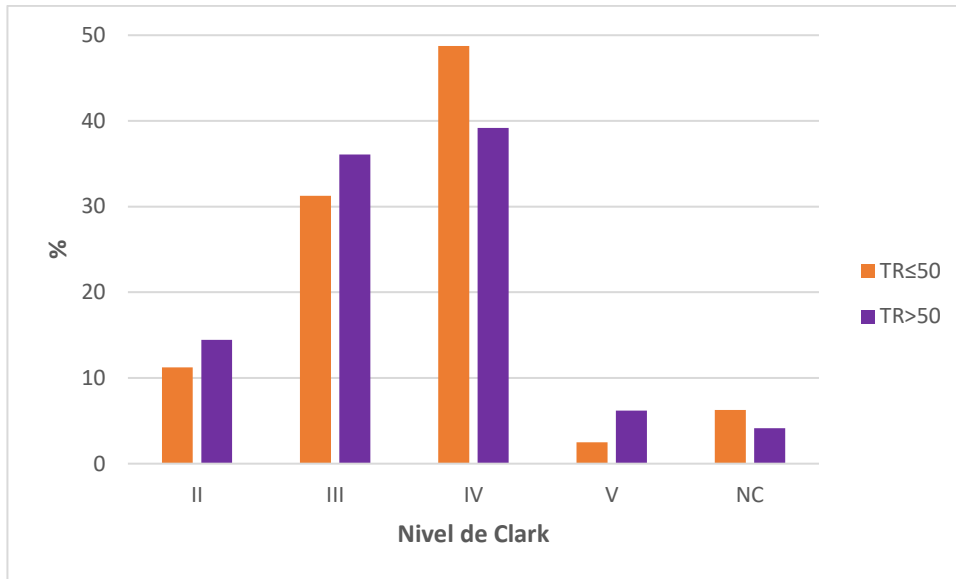


Figura 5.46: Distribución de la variable “nivel de Clark” en la población clasificada por tiempo de retardo (TR≤50: n=80, TR>50: n=97). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. NC: No consta.

- Índice mitótico: la variable anatomopatológica “índice mitótico” no mostró distribución estadísticamente significativa en la clasificación por TR (Figura 5.47).

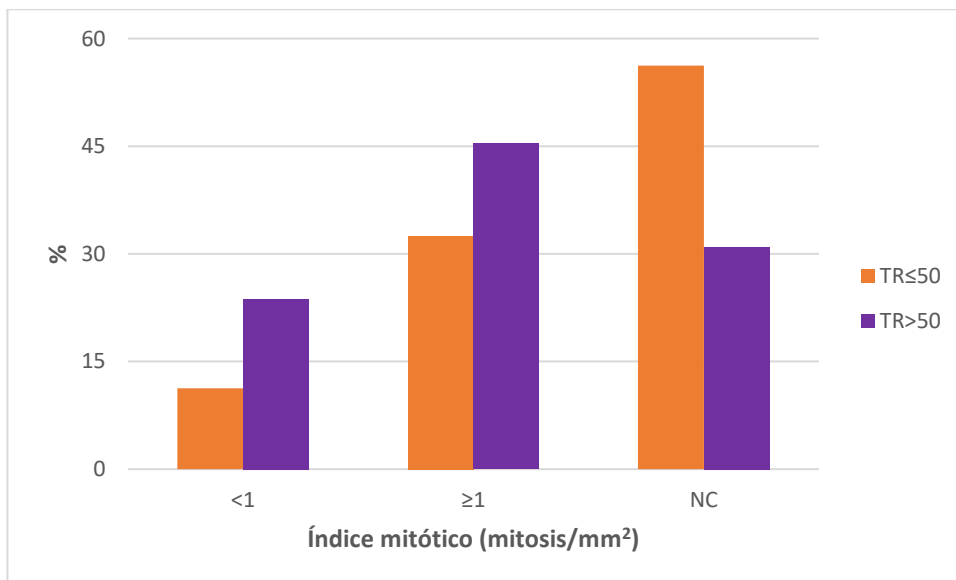


Figura 5.47: Distribución de la variable anatomopatológica “índice mitótico” del melanoma en la población clasificada por tiempo de retardo (TR≤50: n=80, TR>50: n=97). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. NC: No consta.

- Otras variables anatomopatológicas: estas variables recogidas en los informes del estudio del melanoma de los pacientes TR≤50 y TR>50 se representan en las Figuras 5.48 y 5.49 respectivamente, sin que presentara ninguna de ellas distribución estadísticamente significativa.

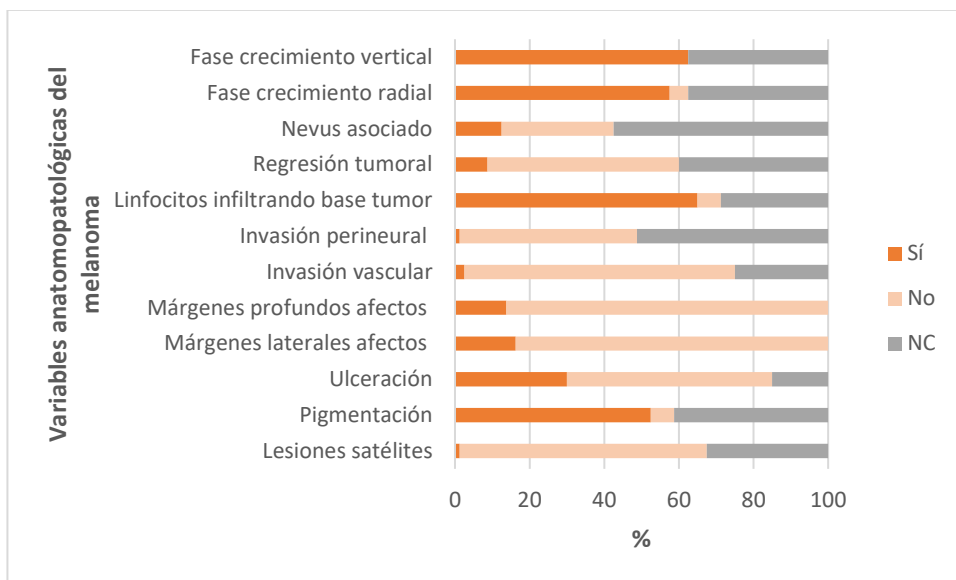


Figura 5.48: Distribución de la presencia de variables incluidas en el informe anatomopatológico del melanoma en la población TR≤50 (n=80). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. NC: No consta.

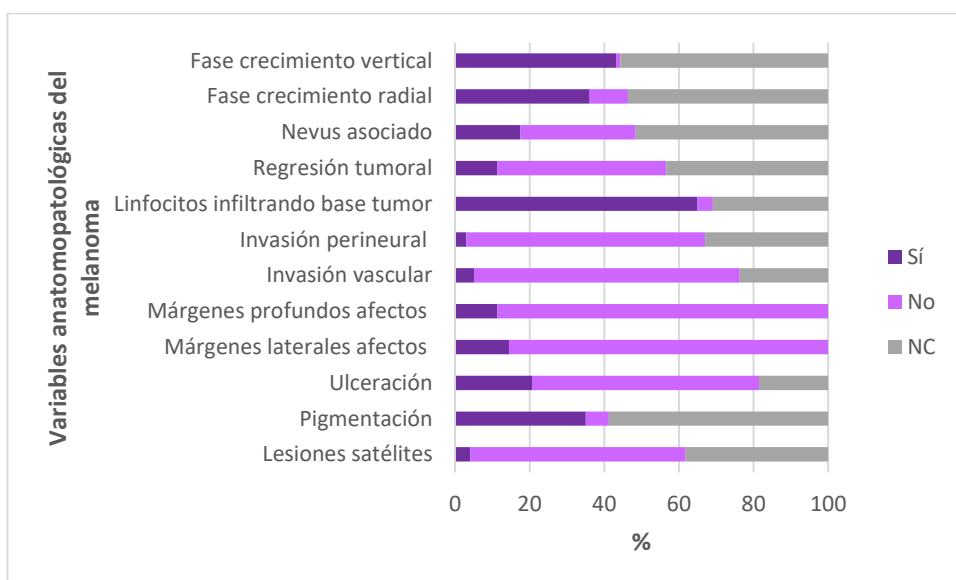


Figura 5.49: Distribución de la presencia de variables incluidas en el informe anatomopatológico del melanoma en la población TR>50 (n=97). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. NC: No consta.

- Estudio molecular de la mutación del gen BRAF: en la distribución del estado mutacional del gen BRAF clasificado según el TR no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre las subpoblaciones (Figura 5.50).

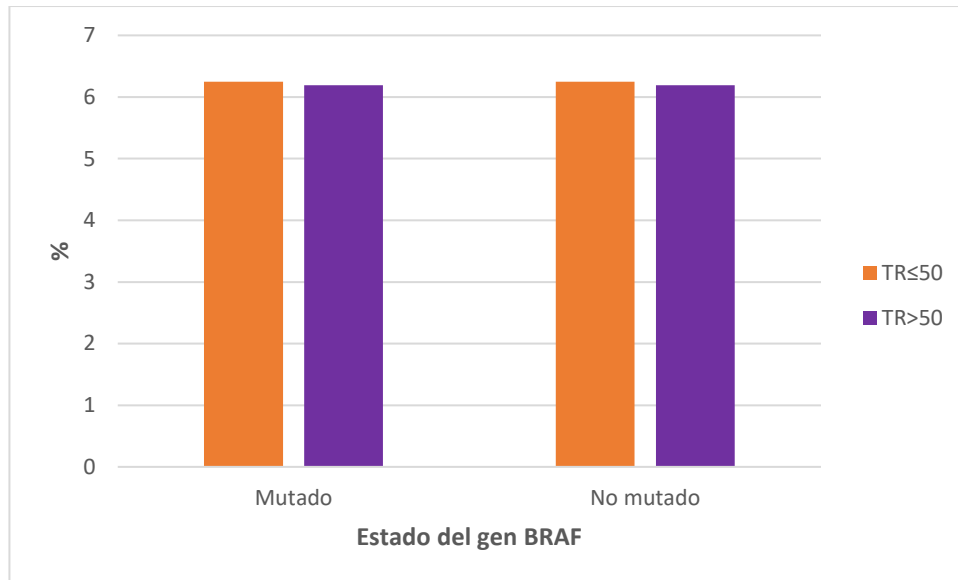


Figura 5.50: Distribución del estado mutacional del gen BRAF en la población clasificación por tiempo de retardo (TR≤50:  $n=10$ , TR>50:  $n=12$ ). Datos mostrados como porcentaje de pacientes.

### 5.3.2.3. VARIABLES RELACIONADAS CON LA LINFOGAMMAGRAFÍA

La tendencia en ambas poblaciones clasificadas por TR fue que el trazador migró en la linfogammagrafía hacia una única base linfática, aunque sin asociación estadísticamente significativa ( $p=0,788$ ) entre el TR y el número de bases linfáticas (Figura 5.51).

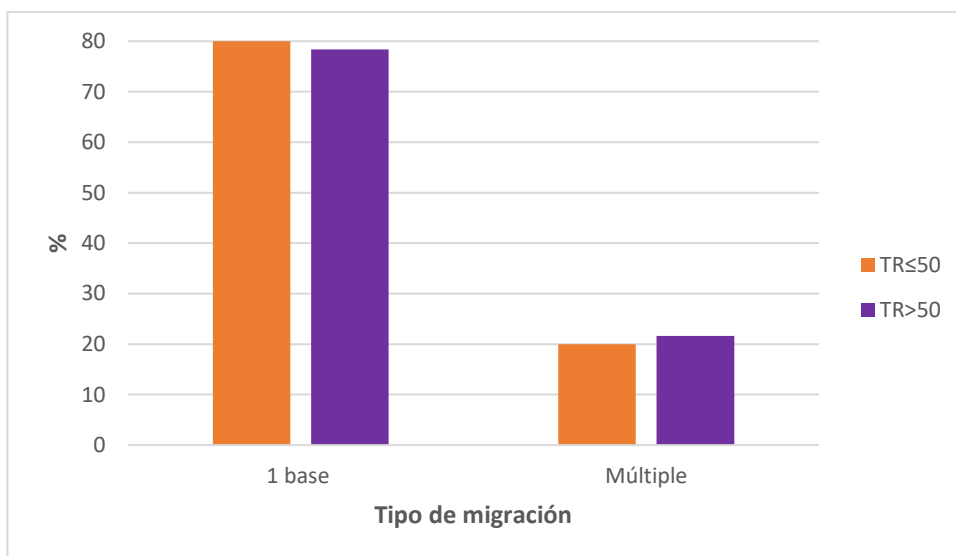


Figura 5.51: Tipo de migración del radiotrazador en la linfogammagrafía en la población clasificada por tiempo de retardo (TR≤50: n=80, TR>50: n=97). Datos mostrados como porcentaje de pacientes.

#### 5.3.2.4. VARIABLES OBTENIDAS DE LA INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA Y ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO DEL GANGLIO CENTINELA

- **Tiempo de retardo:** la mediana del TR para la población TR≤50 fue 38 días (IQR 30,25-44), y para la población TR>50 fue de 69 días (IQR 58-85,5) (Figura 5.52).

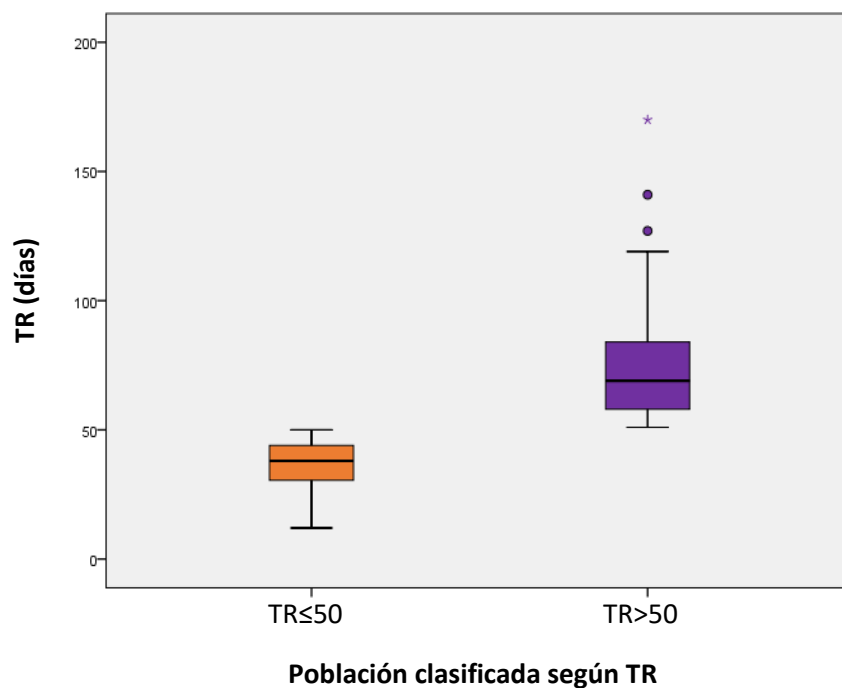


Figura 5.52: Distribución de la duración del tiempo de retardo en la población clasificada según tiempo de retardo (TR≤50: n=80, TR>50: n=97).

- **Número de ganglios resecaados y analizados histológicamente:** la mediana de ganglios que se extirparon y analizaron fue de 2 (IQR 1-3), similar en ambas poblaciones clasificadas por TR. Ninguno de los valores obtuvo diferencias estadísticamente significativas en la clasificación por TR. En la Figura 5.53 mostramos la distribución del número de GC resecaados y analizados histológicamente según las poblaciones clasificadas por TR.

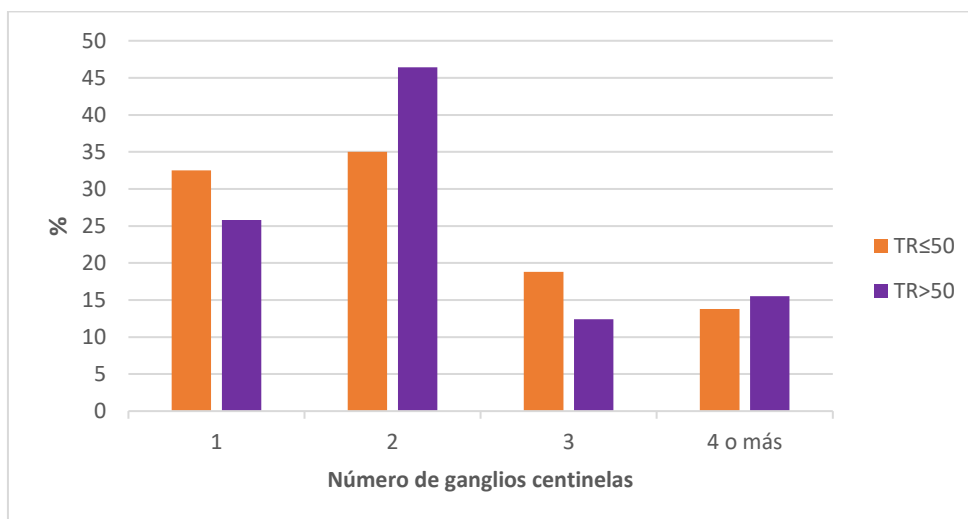


Figura 5.53: Distribución del número de ganglios centinelas resecaados y analizados histológicamente en la población clasificada por tiempo de retardo (TR ≤ 50:  $n=80$ , TR > 50:  $n=97$ ). Datos mostrados como porcentaje de pacientes.

- **Estado ganglionar:** no se obtuvo asociación estadísticamente significativa en relación con el resultado del EG al clasificar la población por TR ( $p=0,502$ ) (Figura 5.54).

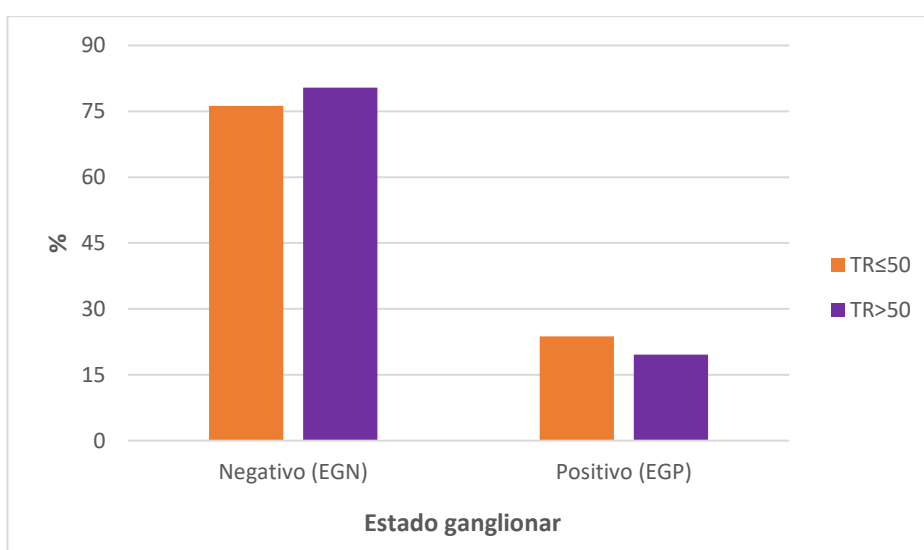


Figura 5.54: Distribución del resultado del estado ganglionar en la población clasificada por tiempo de retardo (TR ≤ 50:  $n=80$ , TR > 50:  $n=97$ ). Datos mostrados como porcentaje de pacientes.

5.3.2.5. VARIABLES OBTENIDAS DE LA LINFADENECTOMÍA

- Intervalo de tiempo transcurrido a linfadenectomía:** al clasificar por TR los 38 pacientes que presentaron afectación maligna del GC, se obtuvieron dos poblaciones con similar cifra (19 pacientes). No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en relación al tiempo transcurrido entre la BSGC y la linfadenectomía, pero sí para el tiempo transcurrido entre la biopsia del diagnóstico del melanoma y la linfadenectomía ( $p < 0,001$ ), que hemos denominado como TD (Figura 5.55).

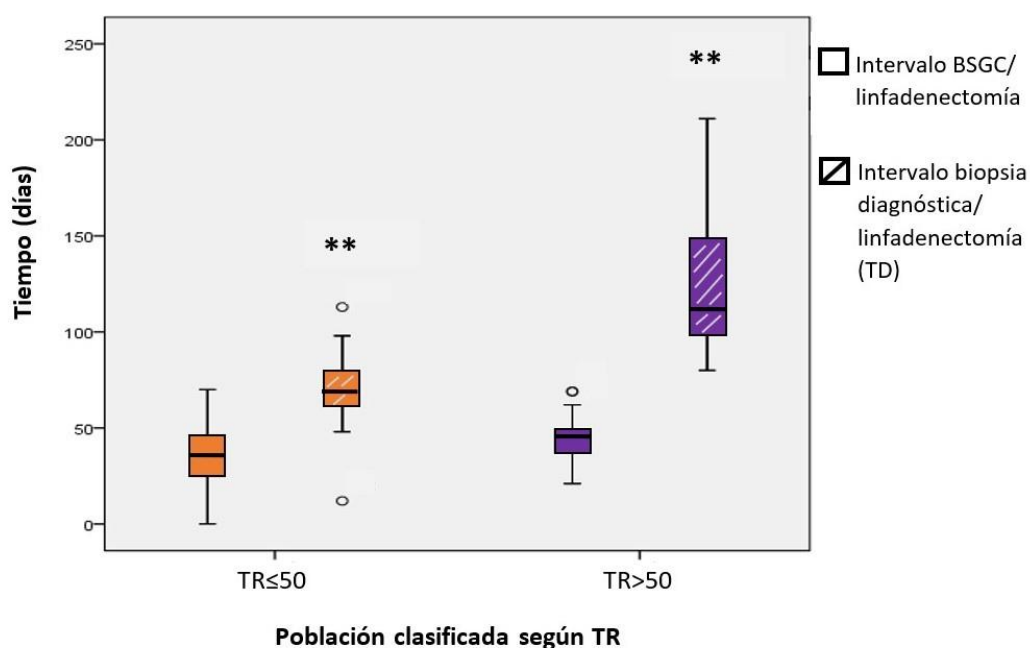


Figura 5.55: Distribución del tiempo transcurrido entre los eventos “diagnóstico del melanoma maligno y linfadenectomía” y “BSGC y linfadenectomía” para la población EGP ( $n=38$ ) clasificada por TR (TR $\leq$ 50:  $n=19$ , TR $>$ 50:  $n=19$ ). \*\*Diferencias significativas entre pacientes de poblaciones clasificadas por tiempo de retardo ( $p < 0,05$ ).

- Características de los ganglios resecaados:** la mediana de ganglios resecaados en las linfadenectomías fue similar en ambas poblaciones clasificadas por TR: 12 ganglios (IQR 6-16) para la población TR $\leq$ 50 (19 pacientes), y 10 ganglios (IQR 7-16) para la TR $>$ 50 (19 pacientes), sin que existieran diferencias estadísticamente significativas. De estos 38 pacientes, 9 presentaron afectación neoplásica en alguno de estos ganglios: 4 pacientes pertenecían a la población TR $\leq$ 50 (con una mediana de 2 ganglios afectados [IQR 1,25-2,75]) y los 5 pacientes restantes eran de la población TR $>$ 50 (con una mediana de 1 ganglio afecto [IQR 1-1,5]), sin que se obtuvieran diferencias estadísticamente significativas entre subpoblaciones.

## 5.3.2.6. VARIABLES RELACIONADAS CON LA EVOLUCIÓN DEL PACIENTE

- **Tiempo de seguimiento:** la población con  $TR \leq 50$  presentó una mediana de tiempo de seguimiento (49,5 meses [IQR 30-83]) mayor que la  $TR > 50$  (39 meses [IQR 19-55,5]), siendo la diferencia estadísticamente significativa ( $p=0,001$ ) (Figura 5.56).

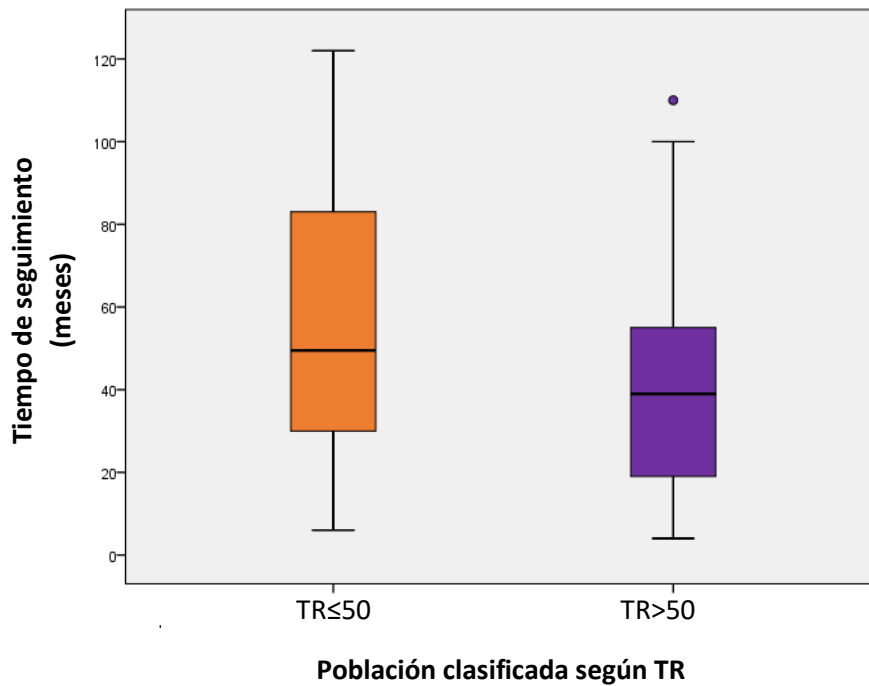


Figura 5.56: Distribución del tiempo de seguimiento en la población total clasificada por TR ( $TR \leq 50$ :  $n=80$ ,  $TR > 50$ :  $n=97$ ). \*\*Diferencias significativas entre pacientes de poblaciones clasificadas por tiempo de retardo ( $p < 0,05$ ).

- **Tiempo libre de enfermedad:** al clasificar por TR no se obtuvieron valores estadísticamente significativos para la aparición o no de algún tipo de recurrencia (Figura 5.57).

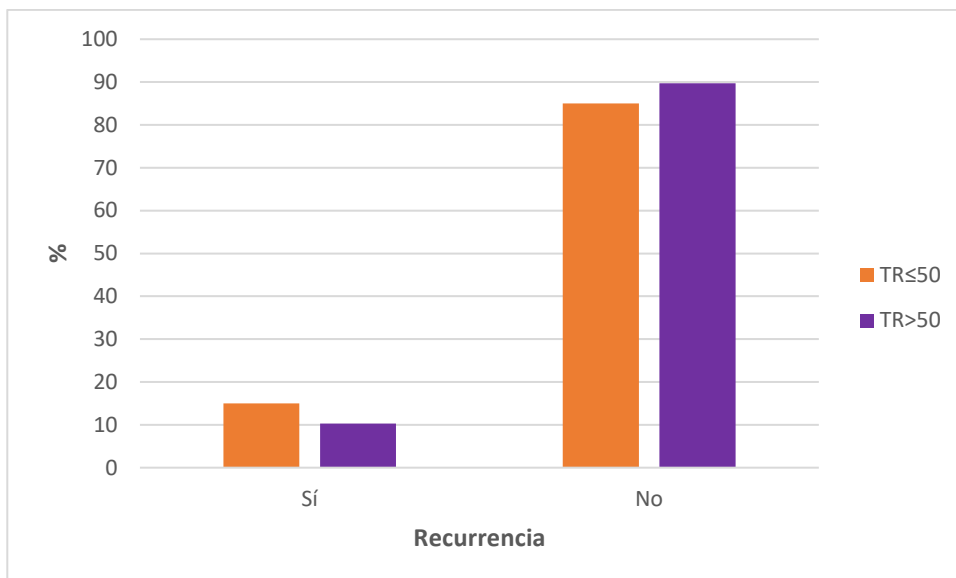


Figura 5.57: Distribución de la presencia de recurrencia en la población clasificada por tiempo de retardo (TR≤50: n=80, TR>50: n=97). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. NC: No consta.

Al clasificar la población según el TR y el tipo de recurrencia, obtenemos que la presencia de recurrencia en forma de satelitosis fue estadísticamente significativa (p=0,044), siendo más frecuente en el grupo de menor TR (Figura 5.58).

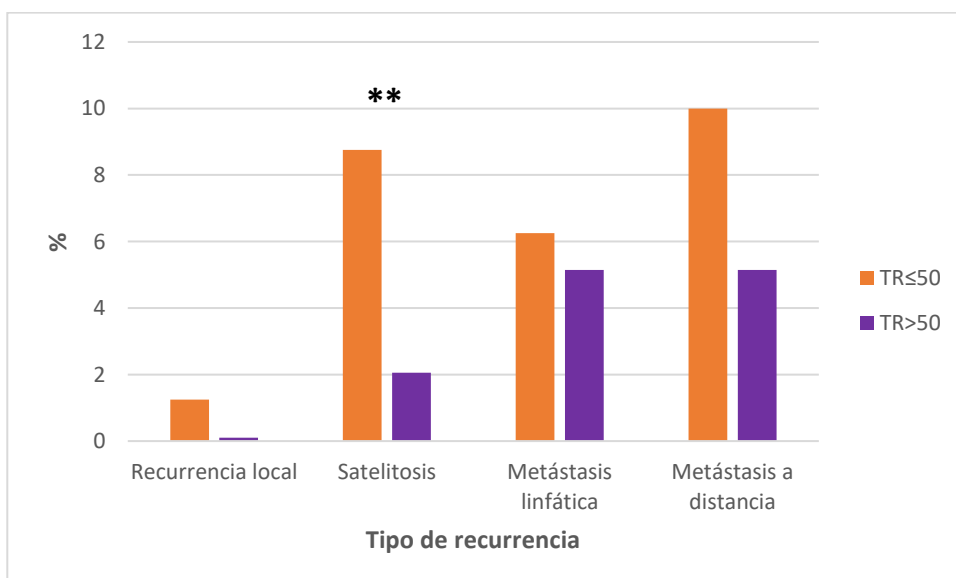


Figura 5.58: Distribución del tipo de recurrencia en la población clasificada por tiempo de retardo (TR≤50: n=80, TR>50: n=97). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. \*\*Diferencias significativas entre pacientes de poblaciones clasificadas por tiempo de retardo (p<0,05).



En relación al tiempo transcurrido desde el diagnóstico del melanoma hasta la aparición de algún tipo de recurrencia:

- El único paciente con recurrencia local pertenecía al grupo  $TR \leq 50$ , y como referimos previamente, dicho evento tuvo lugar a los 9 meses tras la realización de la BSGC.
- De los 9 pacientes que presentaron recurrencia tipo satelitosis, 7 fueron en pacientes  $TR \leq 50$  con una mediana de 19 meses (IQR 9-25), y los 2 pacientes restantes eran del grupo  $TR > 50$  (con recurrencias a los 5 y 8 meses de la BSGC).
- No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre las poblaciones clasificadas según TR en relación al tiempo a la aparición de las recurrencias linfáticas (10 pacientes;  $TR \leq 50$ :  $n=5$ ,  $TR > 50$ :  $n=5$ ), a distancia (13 pacientes;  $TR \leq 50$ :  $n=8$ ,  $TR > 50$ :  $n=5$ ) o a la aparición de la primera recurrencia (22 pacientes;  $TR \leq 50$ :  $n=12$ ,  $TR > 50$ :  $n=10$ ) (Figura 5.59).

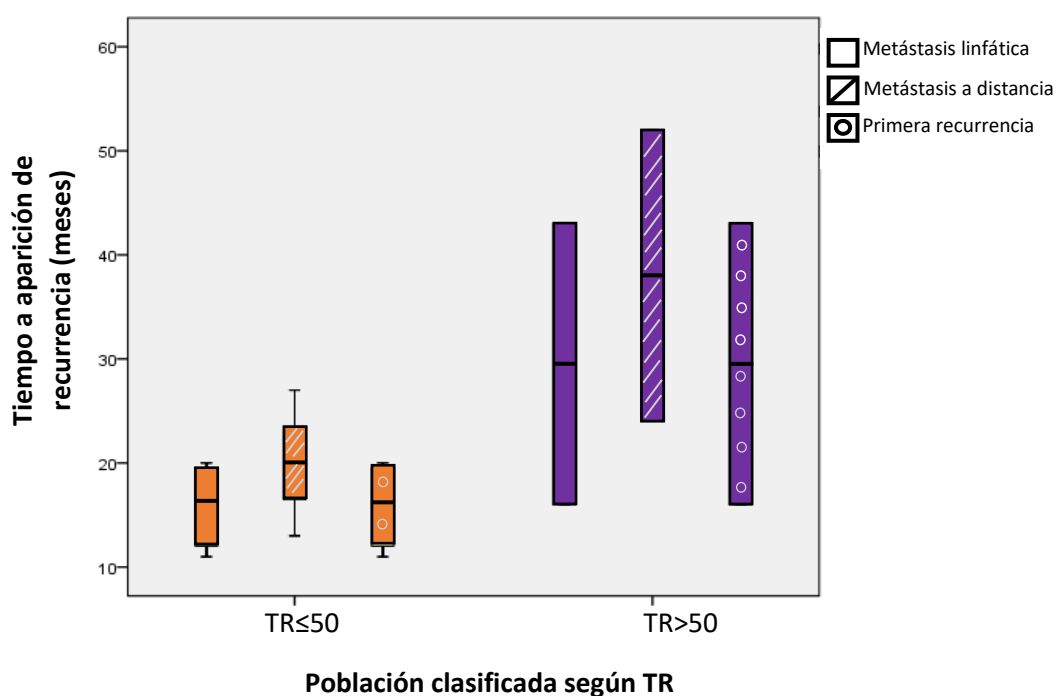


Figura 5.59: Distribución del tiempo a la aparición de recurrencia linfática ( $n=10$ ), a distancia ( $n=13$ ) y a primera recurrencia ( $n=22$ ) en la población clasificada por tiempo de retardo.

- **Mortalidad:** en relación con la mortalidad global, la población TR≤50 tuvo un mayor porcentaje de fallecimientos (12,5%) con valor estadísticamente significativo ( $p=0,017$ ). Sin embargo, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas al clasificar por etiología de la mortalidad (Figura 5.60).

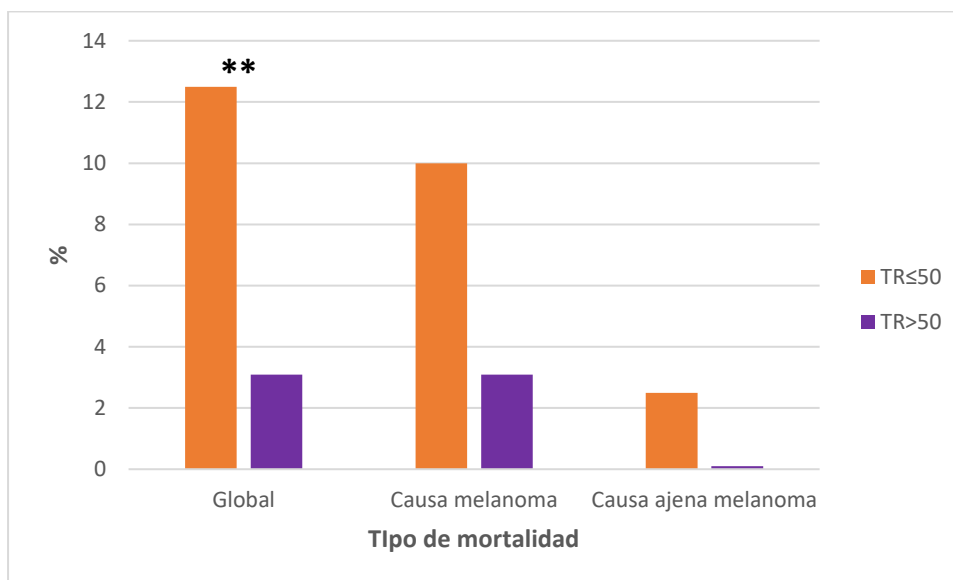


Figura 5.60: Distribución de los tipos de mortalidad en la población clasificada por tiempo de retardo (TR≤50:  $n=80$ , TR>50:  $n=97$ ). Datos mostrados como porcentaje de pacientes. \*\*Diferencias significativas entre pacientes de poblaciones clasificadas por tiempo de retardo ( $p<0,05$ ).

No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre poblaciones al considerar el tiempo a la aparición del evento “muerte por causa del melanoma”, aunque la mediana de tiempo de los 8 pacientes TR≤50 era menor (22,5 meses [IQR 14,5-26,5]) que la de los 3 pacientes TR>50 (32 meses). Los dos pacientes que fallecieron por causa ajena al melanoma pertenecían a la población TR≤50, presentando una mediana de 22 meses a dicho evento.

## 5.4. ANÁLISIS MULTIVARIANTE

### 5.4.1. FACTORES PREDICTORES DEL ESTADO GANGLIONAR

Para el estudio de las posibles variables predictoras del EG se llevó a cabo un análisis de regresión logística. Se consideraron las variables “edad”, “índice de Breslow categorizado-2”, “ulceración” y “TR50”. El TR no se asoció independientemente a la positividad del GC en el análisis univariante, mientras que sí lo hicieron el resto de variables, manteniendo su significación en el análisis multivariante (Tabla 5.1).

Tabla 5.1: Resultados del modelo de regresión logística. Análisis uni y multivariante de las posibles variables predictoras de la positividad del ganglio centinela. \*Significación estadística (p<0,05).

		UNIVARIANTE		MULTIVARIANTE			
		OR (95,0% IC)	p-valor	Modelo 1		Modelo 2	
		OR (95,0% IC)	p-valor	OR (95,0% IC)	p-valor	OR (95,0% IC)	p-valor
<b>Edad (continua)</b>		0,97 (0,95-1,00)	0,03*	0,96 (0,93-0,99)	0,022*	0,96 (0,93-1,00)	0,028*
<b>Índice Breslow categorizado-2 (mm)</b>	≤2,00	REF		REF		REF	
	2,01-4,00	4,42 (1,86-10,81)	<0,001*	4,90 (1,77-14,16)	0,003*	4,74 (1,72-13,62)	0,003*
	>4,00	4,51 (1,67-12,20)	0,003*	5,75 (1,74-19,78)	0,004*	5,52 (1,69-18,72)	0,005*
<b>Ulceración</b>	No	REF		REF		REF	
	Sí	3,69 (1,64-8,47)	0,002*	2,84 (1,10-7,45)	0,031*	2,74 (1,06-7,13)	0,037*
<b>TR50</b>	≤50 días	REF				REF	
	>50 días	0,78 (0,38-1,61)	0,5			1,08 (0,44-2,69)	0,860

### 5.4.2. FACTORES PREDICTORES DE TIEMPO LIBRE DE ENFERMEDAD Y DE MORTALIDAD

Presentamos los resultados del análisis uni y multivariante de las variables predictoras del tiempo libre de enfermedad (TLE) (también denominada “supervivencia libre de enfermedad”), la mortalidad global y la mortalidad por causa del melanoma, para cada uno de los grupos poblacionales: población total, población EGN y población EGP.

Tanto para el análisis uni como multivariante, y motivado por el bajo número o incluso ausencia de eventos (recurrencia y/o mortalidad) en algunas de las subpoblaciones a estudio,

solo se tomaron determinadas variables que potencialmente podían ser predictoras de dichos eventos.

### 5.4.2.1. POBLACIÓN TOTAL

- **Tiempo libre de enfermedad**

La Tabla 5.2 recoge los resultados del análisis univariante para el TLE, y obtuvieron significación estadística ( $p < 0,05$ ) las variables: “edad”, “sexo”, “índice de Breslow categorizado-2” e “índice de Breslow continuo”, “lesiones satélites” e “invasión vascular” en el tumor primario y el “EG”. En el análisis multivariante, solo las variables: “índice de Breslow categorizado-2” y “EG” permanecieron en la ecuación del módulo final. Mantuvieron la significación estadística el índice de Breslow entre 2 y 4 mm, y el EG positivo, considerándose por ello como factores predictores.

Tabla 5.2: Resultados del modelo de regresión de Cox. Análisis uni y multivariante del TLE para la población total (N=177). \*Significación estadística (p<0,05).

		UNIVARIANTE		MULTIVARIANTE	
		HR (95,0% IC)	p-valor	HR (95,0% IC)	p-valor
Edad (continua)		1,03 (1,00-1,06)	0,038*		
Edad (años)	≤60	REF			
	>60	2,07 (0,87-4,92)	0,100		
Sexo	Hombre	REF			
	Mujer	0,38 (0,15-0,95)	0,039*		
Localización	Cabeza y cuello	REF	0,265		
	Tronco	0,59 (0,17-1,97)	0,390		
	Extremidades	0,41 (0,12-1,38)	0,150		
	Manos y pies	1,33 (0,45-3,87)	0,603		
Nivel Clark	II	REF	0,070		
	III	0,98 (0,10-9,48)	0,986		
	IV	4,36 (0,57-33,07)	0,154		
	V	3,51 (0,22-56,17)	0,375		
Índice Breslow categorizado-2 (mm)	≤2	REF	0,010*	REF	
	2-4	4,47 (1,61-12,46)	0,004*	3,36 (1,12-10,06)	0,03*
	>4	4,12 (1,26-13,52)	0,020*	3,2 (0,95-10,81)	0,06
Índice Breslow (continuo)		1,23 (1,05-1,43)	0,009*		
Satélites	No	REF			
	Sí	7,42 (1,64-33,62)	0,009*		
Ulceración	No	REF			
	Sí	2,24 (0,92-5,44)	0,076		
Invasión vascular	No	REF			
	Sí	8,77 (2,84-27,08)	0,000*		
Invasión perineural	No	REF			
	Sí	3,11 (0,38-25,47)	0,290		
Regresión	No	REF			
	Sí	0,60 (0,08-4,67)	0,622		
Índice mitótico (mitosis/mm <sup>2</sup> )	<1	REF			
	≥1	3,15 (0,68-14,57)	0,141		
Fase crecimiento radial	No	REF			
	Sí	1,57 (0,20-12,21)	0,664		
Migración	1 base	REF			
	Múltiples bases	0,52 (0,12-2,27)	0,387		
Estado ganglionar	Negativo	REF		REF	
	Positivo	3,81 (1,60-9,06)	0,003*	2,74 (1,12-6,75)	0,03*
TR50	≤50 días				
	>50 días	1,05 (0,44-2,52)	0,905		

- **Mortalidad global**

En el análisis univariante de las variables predictoras de mortalidad global se obtuvo significación estadística para el “índice de Breslow categorizado-2” e “índice de Breslow continuo”, la presencia de “satélites” y “ulceración” en el tumor primario, y el “EG”. Para el análisis multivariante se consideraron solo las variables: “índice de Breslow categorizado-2”, “ulceración”, “EG” y “TR50”. La positividad del EG conservó la significación estadística como factor predictor. Un índice de Breslow mayor de 2 mm también retenía la significación como variable predictora, pero solo si no se consideraba la variable “ulceración” (Tabla 5.3).

Tabla 5.3: Resultados del modelo de regresión de Cox. Análisis uni y multivariante de mortalidad global para la población total (N=177). \*Significación estadística (p<0,05).

		UNIVARIANTE		MULTIVARIANTE			
		HR (95,0% IC)	p-valor	Modelo 1		Modelo 2	
		HR (95,0% IC)	p-valor	HR (95,0% IC)	p-valor	HR (95,0% IC)	p-valor
<b>Edad (continua)</b>		1,02 (0,98-1,06)	0,285				
<b>Edad (años)</b>	≤60	REF					
	>60	1,45 (0,49-4,32)	0,506				
<b>Sexo</b>	Hombre	REF					
	Mujer	0,34 (0,10-1,15)	0,082				
<b>Localización</b>	Cabeza y cuello	REF	0,802				
	Tronco	0,54 (0,10-2,98)	0,479				
	Extremidades	0,74 (0,18-2,96)	0,666				
	Manos y pies	1,22 (0,27-5,56)	0,793				
<b>Índice Breslow categorizado-2 (mm)</b>	≤2	REF	0,015*				
	2-4	8,76 (1,79-42,90)	0,007*	4,32 (0,76-24,45)	0,100	5,55 (1,09-28,18)	0,039*
	>4	10,26 (1,88-56,13)	0,007*	5,64 (0,87-36,49)	0,070	7,13 (1,26-40,25)	0,026*
<b>Índice Breslow (continuo)</b>		1,35 (1,13-1,61)	0,001*				
<b>Satélites</b>	No	REF					
	Sí	12,91 (2,59-64,28)	0,002*				
<b>Ulceración</b>	No	REF					
	Sí	3,83 (1,20-12,19)	0,023*	1,89 (0,55-6,47)	0,310		
<b>Invasión vascular</b>	No	REF					
	Sí	3,21 (0,40-25,67)	0,272				
<b>Invasión perineural</b>	No	REF					
	Sí	6,53 (0,68-62,82)	0,104				
<b>Regresión</b>	No	REF					
	Sí	0,04 (0,00-4,36)	0,492				
<b>Migración</b>	1 base	REF					
	Múltiples bases	0,87 (0,19-3,97)	0,855				
<b>Estado ganglionar</b>	Negativo	REF					
	Positivo	7,89 (2,58-24,18)	0,000*	3,55 (1,04-12,14)	0,04*	5,06 (1,60-15,94)	0,006*
<b>TR50</b>	≤50 días						
	>50 días	0,32 (0,09-1,19)	0,089	0,45 (0,12-1,74)	0,250	0,33 (0,09-1,23)	0,100

- **Mortalidad por causa del melanoma**

En la Tabla 5.4 se muestra el análisis univariante de la mortalidad por causa del melanoma. Se obtuvo significación estadística para las variables: “índice de Breslow categorizado-2” e “índice de Breslow continuo”, presencia de “satélites” y “ulceración” del tumor primario, y “EG”. Al igual que en el análisis de la mortalidad global, el análisis multivariante se realizó considerando las variables: “índice de Breslow categorizado-2”, “ulceración”, “EG” y “TR50”, de las cuales, solo el índice de Breslow mayor de 4mm conservaba la significación estadística como predictor. Si no se consideraba la variable “ulceración”, la positividad del EG también retenía su significación como valor pronóstico independiente.



Tabla 5.4: Resultados del modelo de regresión de Cox. Análisis uni y multivariante de mortalidad por causa del melanoma para la población total (N=177). \*Significación estadística (p<0,05).

		UNIVARIANTE		MULTIVARIANTE			
		HR (95,0% IC)	p-valor	Modelo 1		Modelo 2	
				HR (95,0% IC)	p-valor	HR (95,0% IC)	p-valor
Edad (continua)		1,01 (0,97-1,05)	0,566				
Edad (años)	≤60	REF					
	>60	0,98 (0,29-3,37)	0,979				
Sexo	Hombre	REF					
	Mujer	0,43 (0,12-1,53)	0,194				
Localización	Cabeza y cuello	REF	0,840				
	Tronco	0,55 (0,10-3,09)	0,501				
	Extremidades	0,55 (0,12-2,45)	0,428				
	Manos y pies	0,84 (0,15-4,67)	0,840				
Índice Breslow categorizado-2 (mm)	≤2	REF	0,025*				
	2-4	5,90 (1,11-31,38)	0,037*	3,92 (0,67-22,96)	0,13	4,06 (0,73-22,52)	0,11
	>4	10,29 (1,88-56,37)	0,007*	6,36 (0,99-40,79)	0,05*	7,62 (1,34-43,38)	0,02*
Índice Breslow (continuo)		1,36 (1,12-1,65)	0,002*				
Satélites	No	REF					
	Sí	15,34 (2,96-79,51)	0,001*				
Ulceración	No	REF					
	Sí	3,24 (0,98-10,75)	0,055	1,65 (0,47-5,85)	0,44		
Invasión vascular	No	REF					
	Sí	3,68 (0,45-29,97)	0,223				
Invasión perineural	No	REF					
	Sí	10,04 (0,91-110,71)	0,060				
Migración	1 base	REF					
	Múltiples bases	1,10 (0,23-5,17)	0,908				
Estado ganglionar	Negativo	REF					
	Positivo	5,87 (1,79-19,28)	0,004*	3,06 (0,85-10,93)	0,09	3,83 (1,12-13,02)	0,03*
TR50	≤50 días						
	>50 días	0,41 (0,11-1,56)	0,191	0,49 (0,12-1,92)	0,31	0,42 (0,11-1,60)	0,20

#### 5.4.2.2. POBLACIÓN EGN

- **Tiempo libre de enfermedad**

Los resultados del análisis univariante para el TLE se representan en la Tabla 5.5. Se consideraron las variables: “edad”, “índice de Breslow categorizado-2” y “TR50”. La edad resultó estar en el límite de la significación, incluyéndose en el análisis multivariante con la variable TR

por su resultado de significación más próximo, aunque la edad no retuvo su significación estadística para el TLE en dicho análisis multivariante.

Tabla 5.5: Resultados del modelo de regresión de Cox. Análisis uni y multivariante para tiempo libre de enfermedad en la población EGN ( $n=139$ ). \*Significación estadística ( $p<0,05$ ).

		UNIVARIANTE		MULTIVARIANTE	
		HR (95,0% IC)	p-valor	HR (95,0% IC)	p-valor
<b>Edad (continua)</b>		1,04 (1,00-1,09)	0,05	1,04 (0,99-1,08)	0,1
<b>Índice Breslow categorizado-2 (mm)</b>	$\leq 2$	REF			
	2-4	2,93 (0,79-10,95)	0,11		
	>4	2,76 (0,90-15,75)	0,07		
<b>TR50</b>	$\leq 50$ días	REF		REF	
	>50 días	3,50 (0,93-13,10)	0,06	2,68 (0,69-10,34)	0,2

- **Mortalidad global**

En la Tabla 5.6 mostramos los resultados del análisis univariante de las variables predictoras de la mortalidad global, obteniéndose significación estadística para el índice de Breslow mayor de 4 mm. En el análisis multivariante se estudió su asociación con el TR50, manteniendo este índice de Breslow (mayor de 4 mm) su significación como variable predictora.

Tabla 5.6: Resultados del modelo de regresión de Cox. Análisis uni y multivariante para mortalidad global de la población EGN ( $n=139$ ). \*Significación estadística ( $p<0,05$ ).

		UNIVARIANTE		MULTIVARIANTE	
		HR (95,0% IC)	p-valor	HR (95,0% IC)	p-valor
<b>Edad (continua)</b>		1,03 (0,97-1,10)	0,3		
<b>Índice Breslow categorizado-2 (mm)</b>	$\leq 2$	REF		REF	
	2-4	7,12 (0,64-78,81)	0,11	7,41 (0,67-82,64)	0,10
	>4	12,60 (1,14-139,01)	0,04*	12,54 (1,14-138,37)	0,04*
<b>TR50</b>	$\leq 50$ días	REF		REF	
	>50 días	1,55 (0,26-9,30)	0,6	1,61 (0,27-9,69)	0,61

- **Mortalidad por causa del melanoma**

Al no haberse producido ningún evento de mortalidad por causa ajena al melanoma en la población EGN, el análisis en esta población fue similar al del calculado para la mortalidad global (Tabla 5.6).

#### 5.4.2.3. POBLACIÓN EGP

- **Tiempo libre de enfermedad**

La Tabla 5.7 recoge el estudio univariante de las variables predictores del TLE, en el que incluimos las variables “edad”, “índice de Breslow categorizado-2”, “TR50”, el “tiempo transcurrido desde realización de la BSGC a la linfadenectomía” y el “tiempo transcurrido desde la realización de la biopsia del melanoma a la linfadenectomía”. Solo se obtuvo un resultado estadísticamente significativo para la variable “edad”, incluyéndose por ello para el análisis multivariante. Al igual que en la población EGN, incluimos también la variable “TR50”, conservando en este caso la variable “edad” la significación como variable predictora en esta población.

Tabla 5.7: Resultados del modelo de regresión de Cox. Análisis uni y multivariante para tiempo libre de enfermedad en la población EGP ( $n=38$ ). \*Significación estadística ( $p<0,05$ ).

		UNIVARIANTE		MULTIVARIANTE	
		HR (95,0% IC)	p-valor	HR (95,0% IC)	p-valor
<b>Edad (continua)</b>		1,05 (1,00-1,10)	0,03*	1,05 (1,00-1,10)	0,04*
<b>Índice Breslow categorizado-2 (mm)</b>	<b>≤2</b>	REF			
	<b>2-4</b>	4,51 (0,53-38,69)	0,2		
	<b>&gt;4</b>	3,38 (0,30-37,65)	0,3		
<b>TR50</b>	<b>≤50 días</b>	REF		REF	
	<b>&gt;50 días</b>	0,17 (0,02-1,35)	0,09	0,18 (0,02-1,47)	0,11
<b>Tiempo BSGC/linfadenectomía</b>		1,01 (0,97-1,06)	0,6		
<b>Tiempo biopsia/linfadenectomía (TD)</b>		0,99 (0,97-1,01)	0,4		

- **Mortalidad global**

Mostramos en la Tabla 5.8 los resultados del estudio univariante para el estudio de las variables predictoras de mortalidad global, considerándose para ello las variables: “edad”, “índice de Breslow categorizado-2”, “tiempo transcurrido desde realización de la BSGC a la linfadenectomía”, “tiempo transcurrido desde la realización de la biopsia del melanoma a la linfadenectomía” y “número de ganglios resecaados en la linfadenectomía”. Solo la variable “edad” presentó un valor cercano a la significación estadística, por lo que no se realizó el análisis multivariante. No se consideró la variable “TR50” al no existir ningún evento (mortalidad global) en la subpoblación TR>50.

Tabla 5.8: Resultados del modelo de regresión de Cox. Análisis univariante de mortalidad global en la población EGP (n=38). \*Significación estadística (p<0,05).

		UNIVARIANTE	
		HR (95,0% IC)	p-valor
<b>Edad (continua)</b>		1,05 (1,00-1,11)	0,05
<b>Índice Breslow categorizado-2 (mm)</b>	<b>≤2</b>	REF	
	<b>2-4</b>	3,80 (0,42-34,05)	0,2
	<b>&gt;4</b>	3,94 (0,36-43,64)	0,3
<b>Tiempo BSGC/linfadenectomía</b>		1,03 (0,98-1,08)	0,2
<b>Tiempo biopsia/linfadenectomía (TD)</b>		0,99 (0,97-1,02)	0,6
<b>Ganglios resecaados en linfadenectomía</b>		0,98 (0,87-1,10)	0,7

- **Mortalidad por causa del melanoma**

Para el estudio univariante de las variables predictoras de la mortalidad por causa del melanoma se consideraron las mismas variables que para la mortalidad global, sin que ninguna de estas obtuviera significación estadística (Tabla 5.9). No se consideró la variable “TR50” al no existir ningún evento (muerte por causa del melanoma) en la subpoblación TR>50.

Tabla 5.9: Resultados del modelo de regresión de Cox. Análisis univariante para mortalidad por causa del melanoma en la población EGP ( $n=38$ ).

		UNIVARIANTE	
		HR (95,0% IC)	p-valor
Edad (continua)		1,03 (0,97-1,09)	0,4
Índice Breslow categorizado-2 (mm)	≤2	REF	
	2-4	1,81 (0,16-20,00)	0,6
	>4	3,73 (0,34-41,46)	0,3
Tiempo BSGC/linfadenectomía		1,03 (0,97-1,09)	0,4
Tiempo biopsia/linfadenectomía (TD)		0,99 (0,96-1,02)	0,5

## 5.5. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA

### 5.5.1. ESTADO GANGLIONAR

Presentamos las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier para los pacientes clasificados según el EG en relación con el TLE, la mortalidad global y la mortalidad por causa del melanoma.

#### 5.5.1.1. TIEMPO O SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD

Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en la comparación de las curvas para la supervivencia libre de enfermedad entre subpoblaciones clasificadas por EG, así los pacientes EGP presentaban menor supervivencia que los EGN (Figura 5.61).

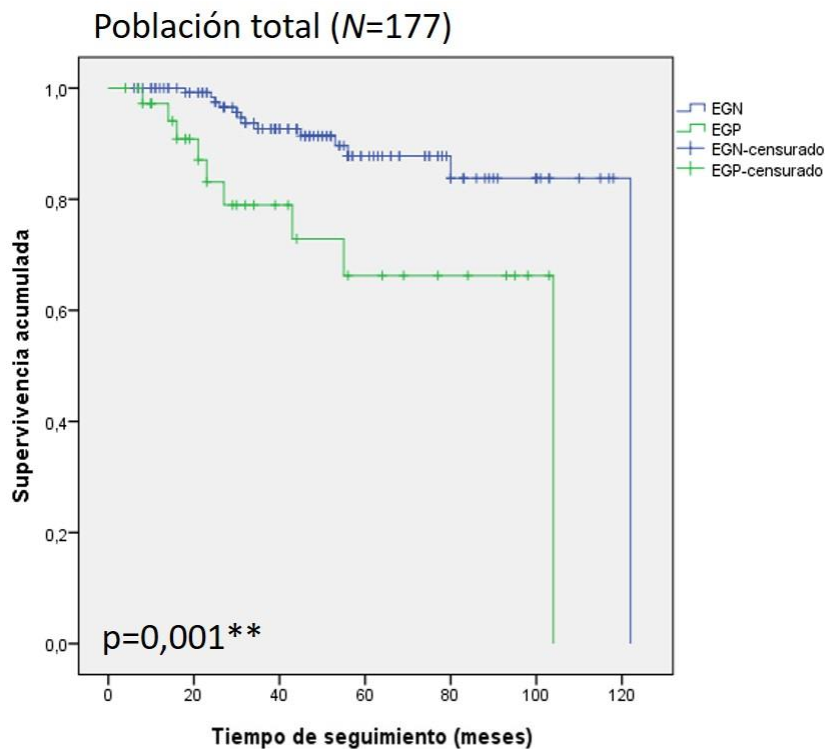


Figura 5.61: Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia libre de enfermedad para el total de pacientes (N=177) estratificado por estado ganglionar (EGN y EGP) (Test Log-Rank). \*\*Significación estadística ( $p<0,05$ ).

## 5.5.1.2. SUPERVIVENCIA GLOBAL

En el resultado de las curvas para la supervivencia global, se obtuvo diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ) al comparar las subpoblaciones clasificadas por EG: La supervivencia de los pacientes EGP era menor que la de los EGN (Figura 5.62).

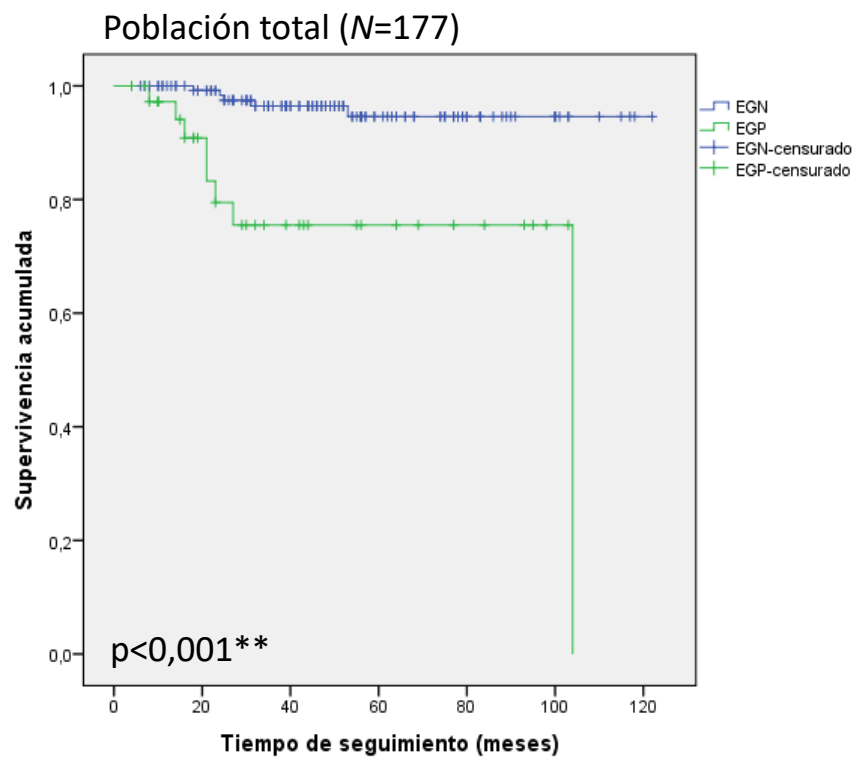


Figura 5.62: Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia global para el total de pacientes (N=177) estratificado por estado ganglionar (EGN y EGP) (Test Log-Rank). \*\*Significación estadística ( $p < 0,05$ ).

5.5.1.3. SUPERVIVENCIA CAUSA-ESPECÍFICA

La comparativa de las curvas de Kaplan-Meier para la supervivencia por causa del melanoma se muestra en la Figura 5.63. Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,001$ ), con una menor supervivencia de los pacientes EGP.

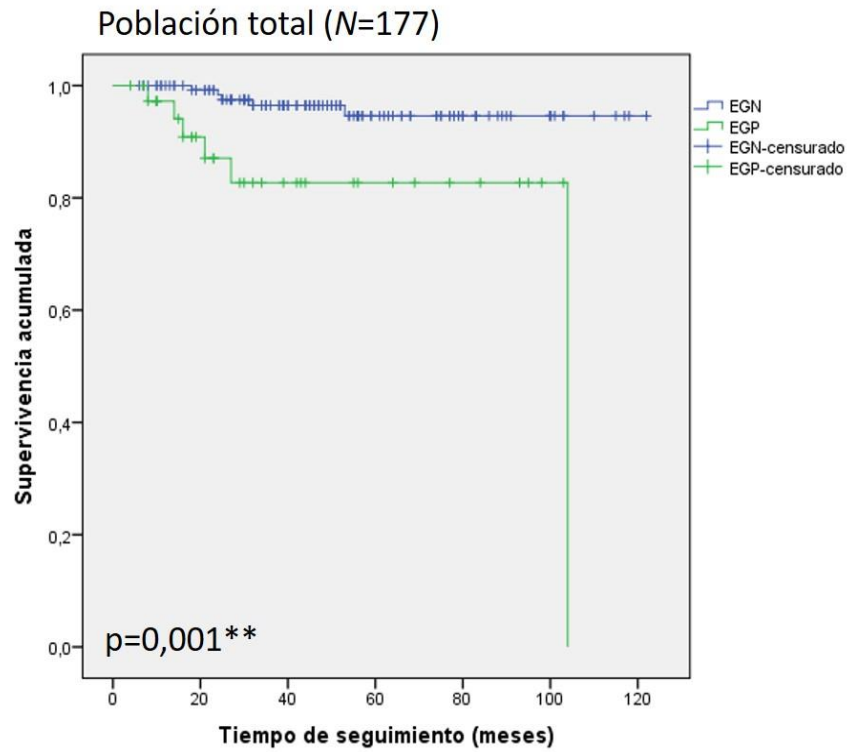


Figura 5.63: Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia causa-específica para el total de pacientes ( $N=177$ ) estratificado por estado ganglionar (EGN y EGP) (Test Log-Rank). **\*\***Significación estadística ( $p<0,05$ ).



### 5.5.2. TIEMPO DE RETARDO

Mostramos las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier para los pacientes clasificados según el TR en relación con el TLE, la mortalidad global y la mortalidad por causa del melanoma.

#### 5.5.2.1. TIEMPO O SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD

Comparamos las curvas de supervivencia libre de enfermedad para el total de pacientes, sin que se objetivaran diferencias estadísticamente significativas entre las poblaciones estratificadas por TR (Figura 5.64).

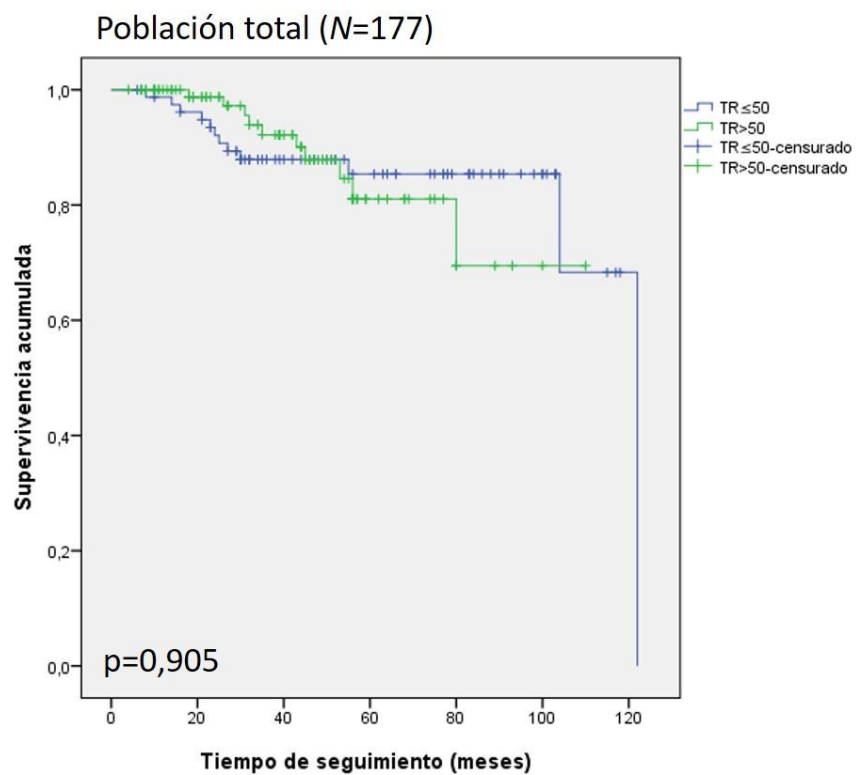
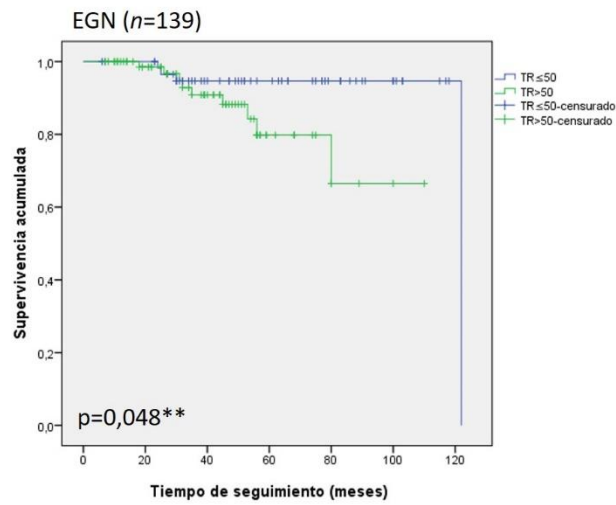


Figura 5.64: Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia libre de enfermedad para el total de pacientes (N=177) estratificado por tiempo de retardo (TR≤50 y TR>50) (Test Breslow).

No obstante, si consideráramos solo la población con EGN, sí se obtenían diferencias significativas ( $p=0,048$ ), resultando que los pacientes EGN con  $TR \leq 50$  días tenían mayor TLE que los pacientes EGN con  $TR > 50$  días (Figura 5.65 A). Pero ocurría lo contrario en la población EGP: la población  $TR \leq 50$  tenía menor TLE que la  $TR > 50$ , aunque sin que existieran diferencias estadísticamente significativas (Figura 5.65 B).

**A**



**B**

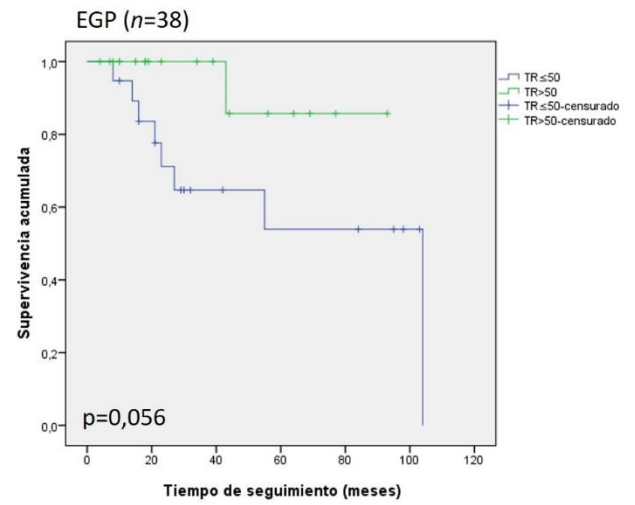


Figura 5.65: Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia libre de enfermedad de la población EGN (A) y la EGP (B) estratificadas por tiempo de retardo ( $TR \leq 50$  y  $TR > 50$ ) (Test Log-Rank). \*\*Significación estadística ( $p < 0,05$ ).

## 5.5.2.2. SUPERVIVENCIA GLOBAL

Al estudiar las curvas de supervivencia global, no se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos estratificados por TR al considerar la población total (Figura 5.66).

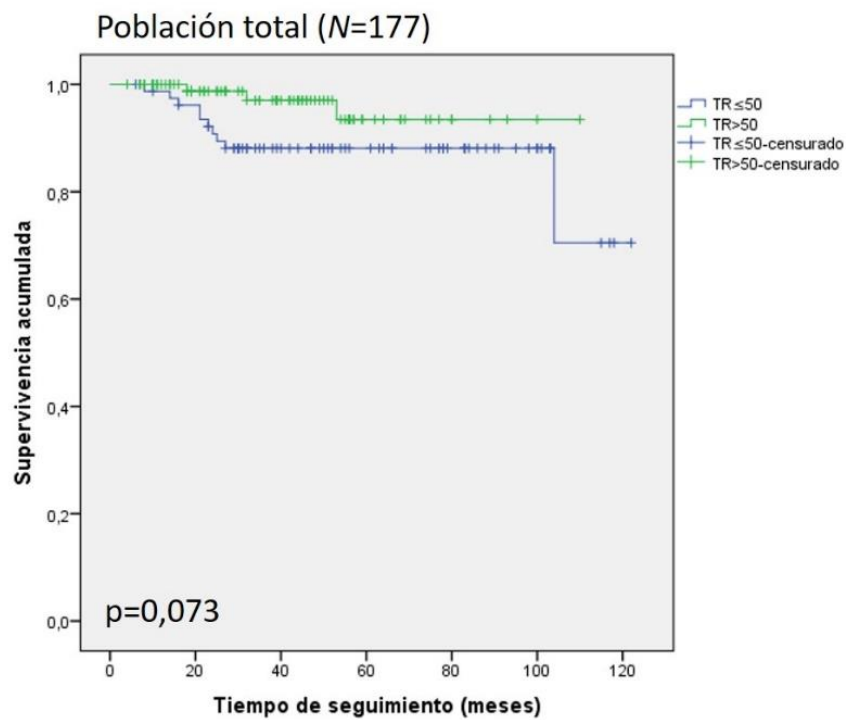
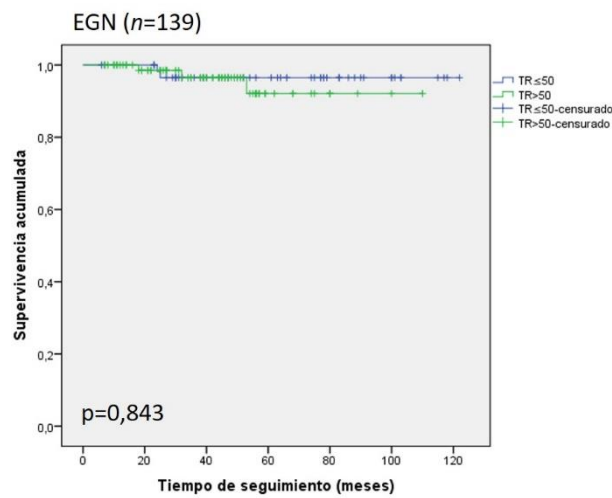


Figura 5.66: Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia global estratificada por tiempo de retardo (TR $\leq$ 50 y TR>50) para el total de pacientes (N=177) (Test Log-Rank).

No se obtuvieron tampoco diferencias estadísticamente significativas en relación a la supervivencia global al considerar solo los pacientes EGN (Figura 5.67 A), pero sí en los pacientes EGP ( $p=0,017$ ): los pacientes con  $TR>50$  días presentaban mayor supervivencia global que los pacientes con  $TR\leq 50$  (Figura 5.67 B).

**A**



**B**

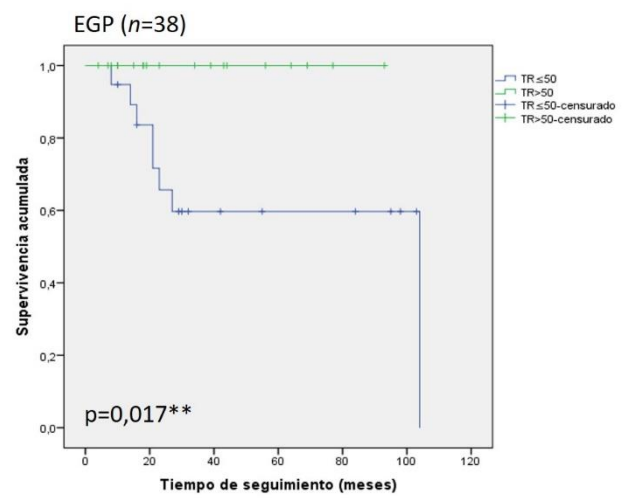


Figura 5.67: Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia global estratificada por tiempo de retardo ( $TR\leq 50$  y  $TR>50$ ) de los pacientes EGN (Test Breslow) (A) y los EGP (Test Log-Rank) (B). \*\*Significación estadística ( $p<0,05$ ).

## 5.5.2.3. SUPERVIVENCIA CAUSA-ESPECIFICA

En el análisis de las curvas de supervivencia por causa del melanoma, no se objetivaron diferencias significativas entre poblaciones estratificadas por TR en el estudio de la población total (Figura 5.68).

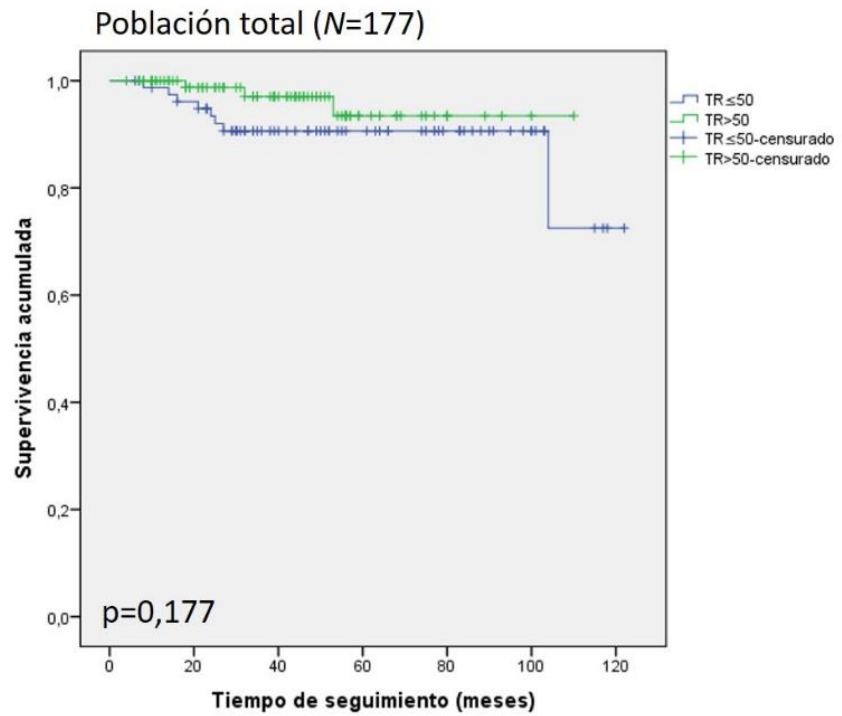
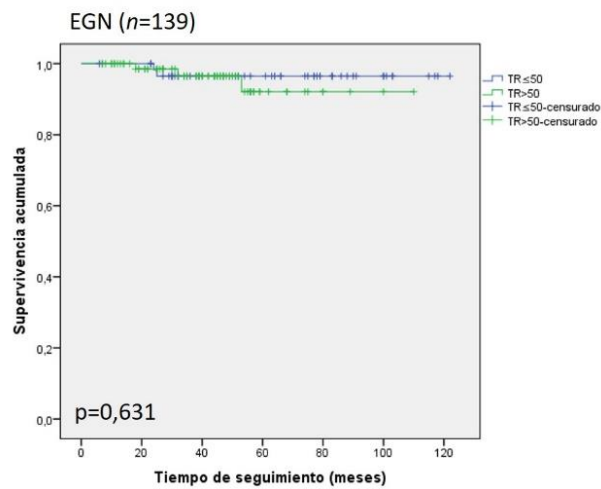


Figura 5.68: Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia causa-específica (mortalidad por causa del melanoma) estratificada por tiempo de retardo (TR≤50 y TR>50) para la población total (N=177) (Test Log-Rank).

Al considerar solo los pacientes EGN tampoco se obtenían diferencias estadísticamente significativas (Figura 5.69 A). No obstante, y como ocurría en la supervivencia global, sí se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en la población EGP: los pacientes con TR>50 días presentaban una menor supervivencia que los pacientes con TR≤50 días (Figura 5.69 B).

**A**



**B**

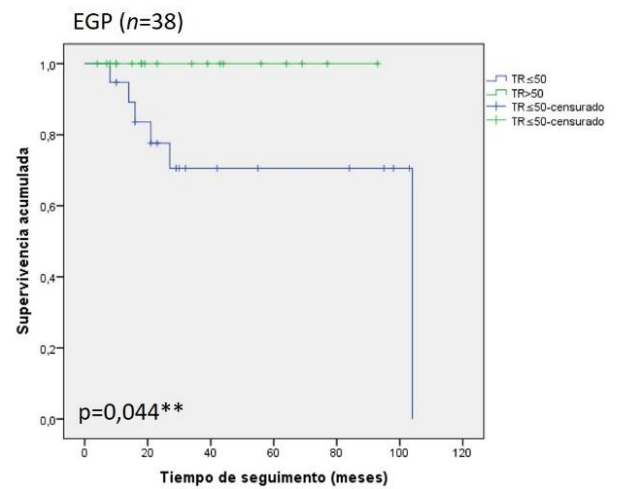


Figura 5.69: Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia causa-específica (mortalidad por causa del melanoma) estratificada por tiempo de retardo (TR≤50 y TR>50) para la población EGN (A) y la EGP (B) (Test Log-Rank). \*\*Significación estadística (p<0,05).

## **6. DISCUSIÓN**

**6.1. RESULTADOS DE LA TÉCNICA BSGC**

**6.2. INFLUENCIA DEL TIEMPO DE RETARDO**





Para su discusión, presentamos el análisis de nuestros resultados, estructurado en dos apartados. El primero está enfocado al estudio de los resultados obtenidos de la técnica de la biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC) en relación con distintas variables clínicas y anatomopatológicas, el estado ganglionar (EG) de los ganglios centinelas (GC) y la evolución de los pacientes con melanoma. El segundo apartado está dedicado al análisis de la influencia del tiempo de retardo transcurrido desde la biopsia diagnóstica del melanoma a la realización de la BSGC (al que hemos denominado TR), en el pronóstico del paciente y en el comportamiento de las diferentes variables estudiadas.

## **6.1. RESULTADOS DE LA TÉCNICA BSGC**

Como ya se comentó en el apartado “Introducción”, el EG es reconocido como uno de los factores pronósticos más importantes del melanoma maligno. La incorporación de la BSGC a la práctica clínica en el manejo de los pacientes con melanoma ha supuesto un notable avance, tanto para mejorar la exactitud del estadiaje tumoral como para evitar intervenciones innecesarias. Esto ha tenido una repercusión significativa en la posibilidad de un tratamiento individualizado, un impacto en el pronóstico y una modificación en el seguimiento de los pacientes con esta enfermedad.

Los resultados obtenidos en la BSGC no son homogéneos, variando levemente según las series publicadas, habiéndose atribuido estas discrepancias a las distintas metodologías utilizadas. Sin embargo, en general, puede decirse que son coherentes pues todas ellas muestran unas cifras de sensibilidad y de falsos negativos similares. Igualmente, se han identificado muchos factores predictores tanto de la positividad del GC como de la evolución clínica posterior de los pacientes. Se trata de variables relacionadas con la propia técnica de la BSGC, parámetros clínicos o resultados del estudio anatomopatológico. El objetivo de esta primera parte de la Discusión es exponer y analizar los resultados de la BSGC obtenidos en nuestra población y compararlos con los resultados publicados por otros grupos, dando argumentos para demostrar su validez externa.

### 6.1.1. CORRELACIÓN CLÍNICO-ANATOMOPATOLÓGICA

La mediana de edad de nuestra población a estudio fue de 55 años, valor similar a los 54 años del metaanálisis de Valsecchi et al.<sup>165</sup>. En nuestros resultados encontramos una diferencia en la distribución de la edad, siendo la subpoblación con estado ganglionar positivo (EGP) significativamente más joven que la subpoblación con estado ganglionar negativo (EGN), y en el análisis de regresión logística encontramos que una menor edad estaba independientemente asociada con una elevación del riesgo de positividad del GC. Estos hallazgos están en consonancia con otras publicaciones en las que se afirma que la frecuencia de afectación metastásica del GC varía inversamente con la edad<sup>166,167</sup>. Conway et al.<sup>92</sup> han atribuido este hallazgo a una menor sensibilidad de la técnica consecuencia de una mayor tasa de falsos negativos en los pacientes de mayor edad, por la menor función de los vasos linfáticos aferentes o motivada por un comportamiento biológico diferente con un predominio de diseminación hematológica<sup>168</sup>. A pesar de todo ello y de forma paradójica, está descrito que los pacientes de mayor edad presentan un peor pronóstico, ya sea por presentar un incremento en las metástasis a distancia<sup>169</sup> o una mayor incidencia de muerte por melanoma<sup>170</sup>. En definitiva, todo ello induce a pensar que respecto a los pacientes más jóvenes probablemente existen diferencias tanto en el comportamiento biológico como en la respuesta inmune<sup>171</sup>.

La distribución por sexos en la población de nuestro estudio fue bastante equilibrada al aproximarse a valores del 50%, siendo estos datos similares a otros registros, aunque existen ligeras variaciones en algunas series. Así, en el último Registro Nacional de melanoma cutáneo<sup>172</sup> donde se incluyeron 13 628 casos diagnosticados en el periodo 1997-2011 en España, la proporción de pacientes según sexo fue de 56,5% mujeres y 43,5% hombres. En nuestro estudio, no encontramos diferencia estadísticamente significativa en la distribución por sexo de las subpoblaciones EGN ni EGP, siendo la distribución por sexos similar en ambas poblaciones. Por otra parte, aunque es conocido que los hombres tienen un peor pronóstico que las mujeres en el melanoma<sup>173</sup>, atribuido a una mayor incidencia de afectación ganglionar metastásica, diversos estudios muestran que el género no predice el EG del GC<sup>174,175</sup>.

La frecuencia de localización de la lesión primaria fue muy variada, siendo la cara la localización más frecuente tanto en la población total como en la subpoblación EGN. Sin embargo, cuando agrupábamos las localizaciones en áreas de mayor extensión (cabeza-cuello, tronco, extremidades y manos-pies) los resultados variaban, pues los pacientes EGP presentaban el tronco como la localización más frecuente (39,5%). Este hecho está en

consonancia con otras publicaciones<sup>176</sup>, pero sin que se pueda determinar exactamente cuál es su mecanismo fisiopatológico, ya que diversos estudios han refutado la idea de que el peor pronóstico de los melanomas localizados en tronco sea motivado por la mayor frecuencia de un drenaje a múltiples bases linfáticas<sup>177</sup>. En cambio, en la población EGN, la localización agrupada más frecuente era la cabeza y el cuello. Algunos autores aventuran que esta menor afectación ganglionar en esta localización y la inesperada menor supervivencia que a pesar de ello presentan podría estar motivada porque un subgrupo de estos tumores tendría propensión a invadir el sistema vascular sin invasión de los canales linfáticos<sup>178</sup>.

En relación con las variables del estudio anatomopatológico del melanoma primario, recogimos para su análisis todas aquellas que estaban descritas de forma específica en el informe del estudio anatomopatológico tanto de la biopsia diagnóstica inicial del melanoma como de la ampliación de márgenes en el acto de la BSGC. No obstante, objetivamos una importante falta de homogeneidad en dichos informes respecto al número de parámetros recogidos en los mismos, con el añadido de que algunas variables dicotómicas cuyo resultado era “presencia” versus “ausencia”, podrían haber sido incluidas en el informe anatomopatológico solo cuando el resultado era “presencia”, pudiendo conducir a un sesgo. Pensamos que este hecho podría estar motivado por la procedencia multicéntrica de dichos estudios anatomopatológicos, así como el prolongado tiempo transcurrido desde la realización de estos estudios en los primeros pacientes incluidos en el análisis y los más recientes, siendo éste de casi una década de duración. En el año 2015 el Grupo Español de Dermatopatología diseñó unas guías de práctica clínica<sup>179</sup> donde se exponen los datos que debe incluir un informe protocolizado de melanoma, siguiendo las directrices de los principales protocolos publicados, e incluyéndose dentro de los datos obligatorios: la localización y lateralidad del tumor, el tipo de muestra, el índice de Breslow, la ulceración, el índice de mitosis, los márgenes quirúrgicos, la invasión linfovascular, el neurotropismo y la presencia de microsátélites. En nuestro estudio, todas las variables que se recogieron estaban presentes en más del 50% de los informes anatomopatológicos, excepto las variables “pigmentación” (49,1%) y la “presencia de nevus asociado” (44,6%), por lo que no fueron consideradas para el estudio.

Del resto de variables, destacar que la determinación de la afectación neoplásica de los márgenes de resección estaba recogida en todos los informes de la ampliación de márgenes realizada en la BSGC y solo en algunos de los de la biopsia diagnóstica del melanoma, no obstante, existía bastante heterogeneidad en los informes respecto a la consideración de la

afectación neoplásica de dichos márgenes. La guía de práctica clínica del melanoma de la NCCN<sup>180</sup> no considera que la determinación de la afectación maligna de los márgenes de resección del tumor primario deba tener impacto en el manejo del paciente, no siendo así el tamaño de los márgenes realizado en la cirugía de ampliación de los mismo llevada a cabo en el acto de la BSGC. En nuestra población no disponíamos del dato de dicho tamaño, siendo este hecho considerado por algunos autores<sup>155</sup>, que tampoco dispusieron del mismo, como un inconveniente para las conclusiones de su artículo. Por todo ello, no consideramos las variables “márgenes profundos afectos” ni “márgenes laterales afectos” para su estudio.

En el análisis de la distribución de variables por EG de nuestro estudio, obtuvimos diferencias estadísticamente significativas para el “índice de Breslow” (tanto categorizado como continuo), “ulceración”, “índice mitótico”, “invasión vascular” y presencia de “lesiones satélites”.

Un índice de Breslow menor de 2 mm era más frecuente en los pacientes EGN, mientras que el índice mayor de 2 mm lo era en los EGP. Algunos autores<sup>181</sup> también encuentran este espesor de 2 mm como el diferencial para la aparición de metástasis ganglionares, es decir, ser EGP. También las cifras de mediana del índice de Breslow fueron superiores para los pacientes EGP, hallazgos todos ellos en consonancia con la bibliografía donde se establece que un incremento en el índice de Breslow se correlaciona con una mayor probabilidad de afectación del GC<sup>182,183</sup>.

En nuestra población, los pacientes EGP presentaban mayor porcentaje de ulceración que los EGN, con diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,001$ ). La mayoría de los autores sostienen esta misma asociación<sup>184,185</sup>, aunque existen estudios que no confirman estos hallazgos<sup>186,187</sup>.

En relación a estas dos variables (“índice de Breslow” y “ulceración”), obtuvimos valores estadísticamente significativos en los análisis uni y multivariante como predictoras de la afectación metastásica del GC. Este resultado es consistente con la relevancia pronóstica de estas variables en la clasificación de la AJCC<sup>27</sup>.

A pesar de que el índice mitótico fue una variable recogida solo en el 57,6% de los informes anatomopatológicos, obtuvimos valores estadísticamente significativos ( $p=0,003$ ) y concordantes con otros estudios en los que la población EGP tenía un mayor porcentaje de pacientes con índice mitótico mayor de 1 mitosis/mm<sup>2</sup> <sup>30,182,188</sup>.

En ambas poblaciones (EGN y EGP) la ausencia de invasión linfovascular fue el hallazgo más frecuente. Sin embargo, entre los pacientes que presentaban invasión linfovascular encontramos mayor porcentaje de EGP (10,5%) que de EGN (2,16%). Estos hallazgos son concordantes con lo publicado por autores como Moy et al.<sup>189</sup> que también encuentran un mayor riesgo de afectación del GC y peor pronóstico cuando existe invasión.

En el estudio anatomopatológico del melanoma, solo una minoría de los pacientes presentaba lesiones satélites, siendo no obstante su presencia más frecuente en la población EGP, con una distribución estadísticamente significativa ( $p=0,023$ ). Estos hallazgos se encuentran en consonancia con otros autores, que encuentran que la ausencia de satelitosis está significativamente asociada a un menor riesgo de positividad del GC<sup>182,190</sup>.

La determinación de la mutación del gen BRAF se realiza, como ya comentamos en el apartado “Introducción”, para valorar la posibilidad de administración de terapias dirigidas en el caso de que presenten dicha mutación. Por ello, esta determinación se realiza en los pacientes con melanoma avanzado (enfermedad metastásica y/o irreseccable) o con alto riesgo de recidiva en los que estas terapias pueden ser una opción de tratamiento en el futuro<sup>180</sup>. Estos tratamientos son de relativamente reciente uso, y la implantación en nuestro hospital de la técnica para su diagnóstico tuvo lugar en el año 2014. En los dos años previos, la determinación de esta mutación se obtenía al enviar las muestras de tejidos a otros hospitales (Madrid y Barcelona). Por todo ello, la determinación de la mutación del gen BRAF solo se realizó en 22 pacientes (12,4%) del total de población incluida en el estudio, por lo que el estudio de su distribución en la población consideramos que no sería relevante.

En resumen, los pacientes incluidos en nuestro estudio presentaban unas características demográficas y unos especímenes con características anatomopatológicas y distribución según el EG concordantes con los descritos en la literatura.

### 6.1.2. ANÁLISIS DE LA TÉCNICA BSGC

En nuestra población, la migración del trazador en la linfogammagrafía a una única base linfática fue el hallazgo más frecuente (79,1%) frente al 20,9% que lo hizo a múltiples bases. En la bibliografía, el porcentaje de pacientes con drenaje múltiple en la linfogammagrafía es muy variable, con un rango desde el 6% hasta el 49%<sup>191,192</sup>. Estas cifras dependen de si se incluyen solo melanomas localizados en el tronco, que suelen presentar migración a mayor número de

bases linfáticas, o según el tipo de metodología de imagen utilizada en la linfogammagrafía, donde la realización de imágenes SPECT asociadas a las planares puede incrementar el número de GC detectados<sup>193</sup>. Al clasificar por EG, la migración del trazador a una única base linfática fue también el hallazgo más frecuente, aunque sin que se objetivara relación entre el tipo de migración y el EG, hallazgos en concordancia con otros autores<sup>177,194</sup>. Existe controversia sobre si el número de bases linfáticas de drenaje, al considerar de forma global todas las localizaciones del melanoma, afecta al tiempo libre de enfermedad (TLE) o a la mortalidad. Este hecho no se confirmó en el análisis multivariante del *the Sunbelt Melanoma Trial*<sup>177</sup>, aunque sí en otros estudios también con elevado número de pacientes<sup>195</sup>. En el caso de los melanomas en tronco, numerosos estudios sí que relacionan un peor pronóstico con la migración a varias bases ganglionares<sup>196</sup>, incluso con independencia del EG<sup>192</sup>. En nuestra población no obtuvimos significación estadística en el análisis univariante para TLE o mortalidad al considerar las localizaciones de forma global.

Uno de los criterios de exclusión de nuestro estudio fue la ausencia de migración del radiotrazador a bases linfáticas en la linfogammagrafía ni en las imágenes tardías realizadas a las 2 horas ni en las de 24 horas. Este hecho ocurrió solo en 7 pacientes, que al considerar con el resto de pacientes incluidos en el estudio supone un 3,8%, cifra en consonancia con la de otros estudios, con rangos entre 0 y 12%<sup>89</sup>. De esta forma, se consideró que la sensibilidad de la técnica de la BSGC para la detección del GC fue del 96,2%. Creemos que este resultado podría considerarse como adecuado si tenemos en cuenta que en nuestro estudio solo se realizaron imágenes planares por la ausencia de equipamiento híbrido SPECT-CT en el Servicio de Medicina Nuclear. Actualmente la realización de SPECT-CT es una técnica recomendada por las guías de la *European Association of Nuclear Medicine (EANM)* para la identificación de GC en melanomas de cabeza y cuello, y en región inguinal por su compleja anatomía y la posibilidad de patrones de drenaje anómalo<sup>83</sup>.

En relación a la linfogammagrafía, el 3,9% de los pacientes de nuestro estudio presentaron en la linfogammagrafía ganglios en tránsito, es decir, aquellos ganglios que se sitúan entre el tumor primario y la primera estación ganglionar regional. Esta cifra se encuentra en consonancia con la descrita en la literatura, aunque el rango es variable, siendo de entre 3,1 y 8,9%<sup>163</sup>, estando en relación con la metodología del estudio gammagráfico (tamaño del radiotrazador, realización complementaria de estudio SPECT-CT...), no obstante hay que tener en cuenta que en nuestro caso, todos estos hallazgos gammagráficos fueron explorados en

quirófano y resecaos para su análisis anatomopatológico confirmándose que se correspondían con ganglios. Solo uno de estos ganglios en tránsito presentó afectación metastásica, representando un 14,3% de esta población, cifra que también se encuentra dentro del rango recogido por otros estudios con cifras entre el 8 y 39%<sup>197</sup>. En estos pacientes con ganglios en tránsito, existe controversia sobre la necesidad de la realizar linfadenectomía de la cadena ganglionar de drenaje habitual. Algunos autores no creen que sea necesaria<sup>148</sup>, otros abogan por realizarla sólo cuando el ganglio en tránsito y el GC de la base linfática sean positivos<sup>198</sup>, mientras que otros creen que la linfadenectomía siempre estaría indicada, ya que el pronóstico desfavorable de estos pacientes podría mejorar al realizar un tratamiento precoz de la posible diseminación linfática<sup>149</sup>. En nuestra población se realizó la linfadenectomía de la base linfática atendiendo al EG del GC y no al del ganglio en tránsito, aunque el único paciente que tuvo afectación neoplásica del ganglio en tránsito, también presentaba infiltración neoplásica del GC.

La tasa de detección del GC en quirófano de nuestra población fue del 100%, en consonancia con la de otros autores con rangos entre 97,5 y 100%<sup>187</sup>. Los resultados tan favorables obtenidos por nuestro grupo creemos que están motivados por la experiencia del equipo quirúrgico, familiarizado con la técnica de la BSGC desde su implantación, y la presencia constante del médico nuclear colaborando activamente en quirófano en la detección del GC<sup>95</sup>.

En nuestro estudio, la mediana de GC resecaos para el análisis anatomopatológico fue de 2, tanto para la población global como clasificada por grupos según el EG. Estos valores son acordes con los recogidos en la literatura, con rangos entre 1,2 y 3,6 ganglios resecaos<sup>199</sup>, sin que exista consenso sobre el número de ganglios a resecao. Algunos autores consideran incluso que el número de GC resecaos puede ser predictor de la positividad del GC<sup>155</sup>, no habiendo sido este hecho valorado en nuestro estudio.

El porcentaje de pacientes de nuestro estudio que presentó afectación neoplásica del GC fue de 21,5%. Estas cifras se encuentran en el rango de las descritas en grandes series de pacientes, con unas tasas de positividad del GC de 11,5% en el estudio MSLTII<sup>136</sup> o de 24% en el DeCOG<sup>137</sup>.

En nuestra población, el dato de la carga tumoral, según la clasificación de Rotterdam<sup>116</sup>, solo constaba en el informe anatomopatológico de 22 de los 38 pacientes (57,9%). No obstante, al clasificarlos por valores, se objetivó que en general, la carga tumoral era relativamente baja: 68,2% de estos 22 pacientes presentaban unos valores menores de 1 mm. Este valor fue similar al del estudio DeCOG<sup>137</sup> con un 66%, hecho que algunos autores criticaron como posible sesgo

de este estudio, dado el excelente pronóstico de esta población respecto a otras con mayor carga tumoral<sup>200</sup>.

A todos los pacientes EGP se les realizó de forma diferida una linfadenectomía de la base ganglionar donde se había resecado el GC, con una mediana de 10 ganglios resecados. Este valor se encuentra en el rango propuesto por Rossi et al.<sup>201</sup> para una correcta estadificación del proceso y además refiere estar en relación con la supervivencia, aunque en nuestro estudio esta variable no fue predictora de mortalidad global.

Así como algunos autores han estudiado la posible influencia del tiempo transcurrido desde la realización de la biopsia del melanoma hasta la realización de la BSGC (que hemos denominado TR) y que comentaremos en la segunda parte de este apartado "Discusión", otros autores han valorado la posible asociación de distintas variables con el tiempo de demora que transcurre entre la realización de la biopsia diagnóstica del melanoma y la linfadenectomía en los pacientes EGP, que denominaremos como TD. A pesar de que en nuestro estudio solo 38 pacientes conformaban este grupo de pacientes a los que se les realizó linfadenectomía, obtuvimos resultados similares a los de Oude et al.<sup>202</sup> que en otro artículo estudiaron este TD en 784 pacientes con melanoma. En nuestra población la mediana del TD fue de 89 días (IQR 68,25-113,75), siendo de 84 días en este estudio referido de Oude et al.<sup>202</sup>. Otro intervalo de tiempo que también se estudió fue el comprendido entre la realización de la BSGC y la linfadenectomía, siendo en nuestra población de 41,5 días (IQR 28-49), similar a los 37 días de Oude et al.<sup>202</sup>. Todos estos resultados creemos que deben ser considerados como favorables, al reflejar que el protocolo asistencial del melanoma en nuestro hospital se asemeja a los utilizados en centros internacionales con contrastada experiencia en esta patología.

En relación a la afectación neoplásica de alguno de los ganglios resecados en la linfadenectomía, un 23,7% de los pacientes de nuestro estudio lo presentaron. Esta cifra es discretamente superior a las publicadas por estudios de grandes poblaciones con valores de hasta el 20%<sup>203,165</sup>, y de los estudios de Oude et al.<sup>155,202</sup> con valores cercanos al 19%. Para estos autores, el TD no estaba asociado a un mayor número de ganglios afectados en la linfadenectomía, lo que implicaba que el riesgo de diseminación a ganglios linfáticos adyacentes no estaba incrementado con mayores intervalos de tiempo hasta la realización de la linfadenectomía. Asimismo, no encontraron asociación entre el TD y las variables TLE y mortalidad, concluyendo que un retardo limitado (en su caso de 180 días) entre la biopsia del melanoma y la linfadenectomía se consideraba seguro para el pronóstico de los pacientes<sup>202</sup>. En nuestra



población, tampoco obtuvimos que este TD fuera una variable predictora de recurrencia o mortalidad en el modelo de regresión de Cox, no considerándose el estudio de la influencia en esta variable en la positividad de estos ganglios resecados en la linfadenectomía, ya que se trataba de un reducido número de pacientes (9 pacientes). McMasters et al.<sup>174</sup> no identificaron factores indicadores de riesgo para la afectación de los ganglios en la linfadenectomía. Leung et al.<sup>204</sup> obtuvieron que la positividad de estos ganglios era uno de los factores pronósticos con mayor significación en los pacientes con melanoma estadio III, e incluso postulaban que esta subclasificación debería estar incluida en la clasificación de la AJCC. El estudio MSLT-II confirmó que el estado patológico de estos ganglios era un indicador independiente para el pronóstico, por lo que la realización de la linfadenectomía en los casos de GC positivo proveía de información para la estratificación del riesgo y la selección de terapias adyuvantes, de la que carecerían los pacientes a los que no se les realizaba dicha linfadenectomía<sup>136</sup>.

A modo de resumen, podemos considerar que los resultados de la técnica de la BSGC obtenidos en nuestra población se encuentran en el rango de los descritos por otros grupos con mayor número de pacientes y, en muchos casos, realizados en centros de referencia y especializados en patología oncológica.

### 6.1.3. PARÁMETROS PRONÓSTICOS

La mediana de seguimiento de los pacientes incluidos en nuestro estudio fue de 43 meses, obteniéndose valores estadísticamente significativos al clasificar por EG: la población EGP tuvo menor tiempo de seguimiento que la población EGN, hecho que pudiera estar motivado por la mayor cifra de fallecimientos de la población EGP, como mostraremos a continuación. No obstante, esta explicación no se confirmó en la clasificación por TR, como expondremos en la segunda parte de este apartado “Discusión”, pudiendo ser considerados ambos hechos como posibles sesgos en nuestro estudio.

#### 6.1.3.1. TIEMPO LIBRE DE ENFERMEDAD

El 12,4% del total de pacientes de nuestro estudio presentó algún tipo de recurrencia de la enfermedad, siendo las metástasis a distancia las más frecuentes (7,3%), aunque eran las que aparecían de forma más tardía (mediana de 20 meses [IQR 15-39,5]). En el Sunbelt Melanoma

Trial, Chao et al.<sup>205</sup> obtuvieron unos datos más favorables en el estudio de 1183 pacientes, al presentar un 7,9% de los mismos algún tipo de recurrencia, a pesar de que no incluyeron pacientes con nivel de Breslow  $\leq 1$  mm, como sí ocurría en nuestro estudio.

En nuestra población, la aparición de algún tipo de recurrencia se asoció de forma estadísticamente significativa al EG, presentando los pacientes EGP un mayor porcentaje de recurrencias que los EGN (23,7% versus 9,4%). Este hecho se encuentra en consonancia con la bibliografía, encontrándose incluso cifras superiores como se describió en un metaanálisis<sup>152</sup> donde el porcentaje de recurrencias era del 61% en la EGP y del 29% en la población EGN, estando este hecho probablemente motivado porque se incluyeron únicamente pacientes con melanomas gruesos (con índice de Breslow mayor de 4 mm).

Al pormenorizar por tipo de recurrencia, obtuvimos valores estadísticamente significativos para la aparición de satelitosis y de metástasis a distancia en los pacientes EGP. La aparición de estas recurrencias también era más precoz en los pacientes EGP respecto a los EGN, así como la aparición de la primera recurrencia con independencia de su tipo, aunque estos valores no fueron estadísticamente significativos.

La recurrencia en forma de metástasis linfáticas fue también más frecuente en la población EGP (7,9%), aunque sin ser un valor estadísticamente significativo, pero con unas cifras similares a las obtenidas en un metaanálisis de Valsecchi et al.<sup>165</sup> (7,5%). Asimismo, el porcentaje de pacientes EGN que presentaron en su evolución recurrencia linfática fue del 5,0%, siendo éste un valor también en consonancia con lo publicado en la literatura, con un rango entre 5 y 21%<sup>126,127,129,206</sup>. Estas recurrencias de la enfermedad son lo que se consideran como falsos negativos del estado del GC, y como ya se comentó en el apartado “Introducción”, la etiología de estos falsos negativos es muy variada<sup>207</sup>, pudiendo ser por factores biológicos (dependientes del paciente o de las características del tumor) o técnicos (específicos de las especialidades de medicina nuclear, cirugía o anatomía patológica)<sup>174,206</sup>, incluida la heterogeneidad en los tiempos de seguimiento, incrementándose las cifras de recurrencia al aumentar dicho seguimiento<sup>126</sup>. No obstante, las bajas cifras de nuestro estudio podrían estar motivadas por el limitado tiempo de seguimiento y la pequeña población de nuestra muestra. La mediana de tiempo a la aparición de metástasis linfáticas en nuestra población EGN fue de 18 meses (IQR 13-53), valores discretamente superiores a los 14 meses de Jones et al.<sup>208</sup> o 13 meses de Sinnamon et al.<sup>209</sup>. No obstante, la mediana del tiempo a la aparición de metástasis a

distancia fue en nuestro estudio de 23 meses (IQR 17-52), inferior a la de Jones et al.<sup>208</sup> con 30 meses.

En el análisis multivariante de los factores predictores de la aparición de recurrencia teniendo en cuenta el total de pacientes, solo las variables “índice de Breslow entre 2 y 4 mm” y tener el GC positivo (es decir, ser población EGP), fueron las que retuvieron la significación estadística. Calomarde et al.<sup>210</sup> en un estudio con 1177 pacientes con melanomas en estadios I y II, encuentran que el factor de riesgo común para la diseminación linfática y a distancia era un índice de Breslow mayor de 4 mm, aunque sin considerar el EG. Sin embargo, para Mandala et al.<sup>187</sup> el EG era el predictor más significativo de supervivencia libre de enfermedad a los cinco años, así como para la mortalidad global.

En la clasificación por EG, al considerar este mismo análisis sobre las variables predictoras para la aparición de recurrencia, obtuvimos significación estadística para la edad en el análisis univariante de ambas poblaciones (EGN y EGP), pero solo en la población EGP mantuvo su significación como factor predictor en el análisis multivariante. Sin embargo, Lyth et al.<sup>211</sup> en un estudio con 1437 pacientes EGN sí que obtuvieron como predictoras de recurrencia las variables edad avanzada y el índice de Breslow incrementado.

#### 6.1.3.2. MORTALIDAD

Un 7,3% de nuestra población a estudio falleció durante el seguimiento, con una mediana de tiempo a dicho evento de 24 meses (IQR 16-32), siendo una cifra del 6,2% al considerar solo las muertes por causa del melanoma. Estudios con mayores tiempos de seguimiento presentan mayores cifras de mortalidad, con valores de mortalidad por melanoma de 18%-20,6% para medianas de 72 meses<sup>131,212</sup>.

En la clasificación según EG, obtuvimos diferencias estadísticamente significativas para todos los tipos de mortalidad (global, por causa del melanoma y por causa ajena al melanoma), presentando los pacientes EGP un mayor porcentaje de fallecimientos que los EGN. Estos hallazgos están en consonancia con la bibliografía, donde las tasas de supervivencia de los pacientes EGN son superiores a los EGP<sup>213</sup>, aunque sin obtener diferencias estadísticamente significativas en relación al tiempo hasta el evento muerte<sup>152,214</sup>.

En el análisis multivariante para la población total de los factores predictores de mortalidad global, conservaron la significación estadística las variables EGP y el índice de Breslow mayor de 2 mm (solo cuando para el ajuste de variables no se consideraba la ulceración). Sin embargo, en la mortalidad por causa del melanoma, las variables predictoras que se obtuvieron fueron el índice de Breslow mayor de 4 mm y el EGP (esta última solo si no se consideraba la ulceración para el ajuste de variables). Estos resultados son similares a los del TLE y se encuentran en consonancia con los recogidos por la bibliografía en relación con las variables pronósticas independientes del melanoma<sup>134</sup>.

Considerando sólo la población EGN, en el análisis multivariante de variables predictoras de mortalidad global solo se obtuvo significación para el índice de Breslow mayor de 4 mm, siendo similar para el caso de la mortalidad por causa del melanoma al no existir ningún evento de mortalidad por causa ajena al melanoma en esta población EGN.

Para la población EGP, en el estudio univariante de los factores pronósticos para la mortalidad global y para la mortalidad por causa del melanoma, ninguna de las variables resultó ser predictor de la misma, probablemente motivado por el bajo número de pacientes incluidos en esta subpoblación y su limitado tiempo de seguimiento.

### 6.1.3.3. CURVAS DE SUPERVIVENCIA

Tanto en las curvas de supervivencia libre de enfermedad como de mortalidad global y causa-específica se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre las subpoblaciones clasificadas por EG: la supervivencia de los pacientes EGP era menor que la de los pacientes EGN.

A modo de síntesis, y en relación a los parámetros pronósticos de las subpoblaciones clasificadas por EG, obtuvimos datos de peor pronóstico en los pacientes EGP que los EGN, hallazgo consistente con la amplia experiencia y extensa literatura que existe sobre el tema.

## 6.2. INFLUENCIA DEL TIEMPO DE RETARDO

En los últimos años se han publicado estudios que han valorado el efecto que tiene el tiempo que transcurre desde la biopsia diagnóstica del melanoma hasta la realización de la técnica de la BSGC en la evolución de la enfermedad. La bibliografía sobre este tema es muy escasa, y solo seis autores<sup>155,158-162</sup> han estudiado de forma exhaustiva y con una adecuada calidad metodológica la relación de este intervalo con diversas variables clínico-patológicas, el EG y el pronóstico clínico de estos pacientes. Los resultados obtenidos en estos estudios son contradictorios, por lo que decidimos comparar los mismos con los obtenidos en nuestra población. No obstante, comentaremos también los resultados de otros trabajos menos relevantes en los que de forma somera muestran los resultados de este tiempo de retardo entre la biopsia y la realización de la BSGC (al que hemos denominado TR) y su relación con la evolución clínica.

Existió diferencia en el número de pacientes incluidos entre estudios, ya que algunos eran de origen multicéntricos y/o realizados en centros de referencia para el tratamiento oncológico, con un rango de pacientes analizados de entre 473<sup>160</sup> y 3546<sup>155</sup>, mientras que en nuestro análisis valoramos 177 pacientes al tratarse de un estudio retrospectivo de una técnica con solo diez años de implantación en un único centro hospitalario.

En el apartado “Material y Métodos” describimos el cálculo del valor de corte del TR en nuestra población, siendo el mismo método que el utilizado por Tejera et al.<sup>159</sup>, categorizando la variable TR y usando el procedimiento “valor mínimo de p”, resultando un punto de corte en 50 días (siendo de 40 días para Tejera et al.<sup>159</sup>). Además, este valor estaba muy próximo a nuestra cifra de mediana (53 días), que fue el valor utilizado por otros autores para determinar su punto de corte de TR, aunque en general, las cifras de mediana obtenidas en estos estudios eran inferiores a la nuestra: 40 días para Parret et al.<sup>162</sup>, 43 días para Oude et al.<sup>155</sup> (aunque con importante diferencia entre los centros participantes, con cifras entre 25 y 58 días) o 30 días para Nelson et al.<sup>161</sup> (en las dos cohortes de pacientes que estudia). La mediana del estudio de Fortes et al.<sup>158</sup> fue de 41 días, aunque utilizaron como TR principalmente el primer cuartil (30 días), y Carpenter et al.<sup>160</sup> obtuvieron una mediana de 27 días, aunque estudiaron el TR para dos valores: 28 y 56 días. Sin embargo, otros autores como Crawford et al.<sup>215</sup> en una población de 723 pacientes obtuvieron una mediana de 59 días, superior a la de nuestro estudio, reforzando el hecho de que existe heterogeneidad en los TR entre distintos centros, aunque en general se encuentran en un rango aproximado de entre 4 y 6 semanas. Con estos hallazgos, Gambichler

et al.<sup>216</sup> quisieron determinar si una reducción muy significativa del TR (de tan solo 7 días) tendría influencia en el pronóstico de los pacientes, aunque como comentaremos más adelante, no la tuvo.

### 6.2.1. CORRELACIÓN CLÍNICO-ANATOMOPATOLÓGICA

La mediana de edad de 55 años de nuestra población a estudio fue similar a las de los seis estudios tomados como referencia<sup>155,158-162</sup> presentando nuestra población TR≤50 una menor edad que los TR>50 con asociación estadísticamente significativa. Carpenter et al.<sup>160</sup> obtuvieron similares resultados, alegando que este hallazgo podría estar motivado por el hecho de que la población de más edad precisa consultas adicionales en el estudio preoperatorio para la cirugía por la presencia de comorbilidades.

La distribución por sexos fue equilibrada, con valores similares en ambos grupos al clasificar por TR. Nelson et al.<sup>161</sup> obtuvieron asociación estadísticamente significativa ( $p=0,03$ ), con una mayor proporción de varones en el grupo de menor TR (TR≤30 días) sin razonar el motivo de esta distribución, mientras que para Carpenter et al.<sup>160</sup> el TR fue significativamente mayor en los varones que en las mujeres, sin que considere que sea motivado porque en esta población el pronóstico sea más desfavorable o por las características del tumor primario.

Excepto Parret et al.<sup>162</sup>, los estudios tomados como referencia<sup>155,158-162</sup> consideraban la variable “localización” del melanoma de forma agrupada, siendo las extremidades y el tronco las más frecuentes. La localización del melanoma en el tronco presentaba asociación estadísticamente significativa en la clasificación por TR en los artículos de Tejera et al.<sup>159</sup> y en una cohorte del estudio de Nelson et al.<sup>161</sup>, aunque en poblaciones clasificadas según TR opuestas, hecho en probable relación con la distinta agrupación de localizaciones de cada estudio. En nuestro estudio, el tronco también fue la localización más frecuente en los pacientes TR>50, mientras que la cabeza y el cuello lo fueron en la población TR≤50.

En la clasificación por TR no obtuvimos resultados estadísticamente significativos para ninguna de las variables anatomopatológicas analizadas, sin que podamos descartar que este hecho esté motivado, de forma parcial, por la falta de variables descritas en los informes anatomopatológicos. No obstante, las variables más relevantes sí que están recogidas en un elevado porcentaje de pacientes, y el hecho de haber obtenido resultados estadísticamente significativos en la clasificación por EG no confirmaría esta posible explicación.

Al comparar estas variables anatomopatológicas respecto a los artículos de referencia, habría que destacar el elevado número de las mismas que fueron recogidas en nuestro estudio. En general, estos autores encontraron muy escasa asociación entre las variables anatomopatológicas y el TR, siendo las variables “ulceración” e “índice de Breslow” las más estudiadas. Solo se obtuvieron resultados estadísticamente significativos de la variable ulceración en una de las cohortes de Nelson et al.<sup>161</sup> (mayor porcentaje de ulceración en TR>30,  $p<0,0001$ ) y en el estudio de Tejera et al.<sup>159</sup> (mayor porcentaje de ulceración en TR≤40,  $p=0,014$ ), pudiendo estar estos resultados opuestos motivados por la falta de información de esta variable en el 21,7% de la población del estudio de Tejera et al.<sup>159</sup>. En nuestra población obtuvimos resultados similares a los de Tejera et al.<sup>159</sup>, con un mayor porcentaje de ulceración en la población con menor TR: 30% en TR≤50 versus 20,6% en TR>50. Asimismo, en esta población de menor TR se objetivó que presentaban un mayor índice de Breslow, dato similar al obtenido por Parret et al.<sup>162</sup> quienes refieren que este hecho, junto a una mayor frecuencia de ulceración en esta población, es el responsable de que la población de menor TR tenga más pacientes EGP y unas mayores cifras de recurrencia y mortalidad.

Tejera et al.<sup>159</sup> también consideraron la variable “regresión”, siendo su ausencia más frecuente que su presencia, con porcentajes similares en ambos grupos por TR y sin obtener diferencias estadísticamente significativas, al igual que ocurrió con nuestras subpoblaciones. No obstante, ante la suposición de que la regresión es un signo de respuesta inmune ante el tumor, este autor utilizó también esta variable para un análisis estratificado basado en su presencia o ausencia: los pacientes sin regresión y TR≤40 presentaban una menor supervivencia, y en el análisis multivariante el TR retenía su significación estadística solo en los casos que no presentaban regresión.

La variable “índice de mitosis”, con reconocidas implicaciones pronósticas<sup>27</sup>, fue estudiada por Fortes et al.<sup>158</sup> y Nelson et al.<sup>161</sup> aunque, como ocurrió en nuestro estudio, casi un tercio de pacientes presentaban ausencia de este dato en el informe anatomopatológico. No obtuvieron tampoco diferencias estadísticamente significativas en la distribución por TR, presentando en el caso de Nelson et al.<sup>161</sup> unos porcentajes similares de población en todos los grupos (índice <1 y ≥1 mitosis/mm<sup>2</sup>). Sin embargo, en nuestra población, el porcentaje de pacientes con índice ≥1 mitosis/mm<sup>2</sup> era, respecto al de <1 mitosis/mm<sup>2</sup>, casi el doble en los TR≤50 y el triple en los TR>50. Fortes et al.<sup>158</sup> mostraron unos porcentajes de población similares pero inversos, la población con <1 mitosis/mm<sup>2</sup> era la más frecuente.

Para la variable “índice de Clark”, Nelson et al.<sup>161</sup> obtuvieron unos porcentajes similares en todas las poblaciones, siendo el nivel más frecuente el IV, seguido en orden del III, II y V, aunque sin ser valores estadísticamente significativos. En nuestra clasificación por TR obtuvimos unos resultados similares.

### 6.2.2. ANÁLISIS DE LA TÉCNICA BSGC

En la realización de los estudios gammagráficos de nuestra población, la migración del radiotrazador en la linfogammagrafía a una sola base fue el hallazgo más frecuente en ambas poblaciones clasificadas por TR, aunque sin obtenerse diferencias estadísticamente significativas. El tipo de migración del radiotrazador no fue estudiado como variable por ninguno de los artículos de referencia, por lo que no pudo ser valorado para su comparación.

Al considerar la media de GC resecaos para su análisis anatomopatológico, al igual que como ocurrió al considerar la población total (descrita en el apartado 6.1.2), obtuvimos una media cercana a 2, similar ambos grupos clasificados por TR. No obstante, Tejera et al.<sup>217</sup> obtuvieron en un estudio con 787 pacientes un valor de 1 en ambas poblaciones clasificadas por TR, aunque sin ser estadísticamente significativo. Esta cifra fue también la más frecuente para Oude et al.<sup>155</sup> considerando solo la población total, aunque en otro estudio de estos mismos autores<sup>202</sup> en el que consideraron solo pacientes EGP, obtuvieron un valor de 2, similar al de nuestra población.

En nuestro estudio, la población con menor TR presentaba mayor porcentaje de GC positivos: 23,7% en TR≤50 versus 19,6% en TR>50, aunque sin asociación estadísticamente significativa, y sin que en el análisis de regresión logística para el estudio de los posibles factores predictores del EG, el TR50 obtuviera significación estadística en el análisis univariante. Estas cifras de EGP se encuentran en el rango de los estudios tomados como referencia<sup>155, 158-162</sup>, con unos valores de entre 13% y 25,8% y sin que el TR resultara predictor del EG para algunos de ellos<sup>155,160,162</sup>. Jaukovic et al.<sup>218</sup> en un estudio de 362 pacientes y con un 18,8% de población EGP, tampoco encontraron asociación entre la positividad del GC y el TR, a pesar de considerar dos valores de TR: 30 y 90 días. Sin embargo, Nelson et al.<sup>161</sup> sí que obtuvieron valores estadísticamente significativos para la asociación entre TR y EG, aunque con resultados opuestos en las dos cohortes de pacientes que estudiaba: en una de las cohortes, el riesgo de ser EGP era menor para los TR≤30, mientras que para la otra, el riesgo era de EGP era mayor para los TR≤30.



Este autor considera que el motivo de estos resultados contradictorios podría ser la menor edad de este último grupo referido de población, confirmando las menores tasas de positividad del GC en los pacientes ancianos y la evidencia que sugiere que la función linfática disminuye con la edad<sup>166</sup>. Esta hipótesis podría ser válida para nuestra población, ya que la población TR $\leq$ 50 era más joven que la población TR $>$ 50.

El escaso número de pacientes EGP en cuyo informe anatomopatológico presentaba el dato de la carga tumoral (22 pacientes, 57,9%,) nos hizo no considerar dicha variable para el análisis de su correlación con el TR. Oude et al.<sup>155</sup> fue el único de los cinco autores que analizó esta variable en relación con el TR, sin encontrar asociación estadísticamente significativa entre dicho intervalo y la carga tumoral. No obstante, este estudio presentaba una distribución de carga tumoral similar en ambas poblaciones en cuanto a porcentajes, mientras que como hemos comentado previamente, en nuestro estudio el porcentaje de pacientes con carga tumoral  $<$ 1 mm era prácticamente el doble que los de carga tumoral  $\geq$ 1 mm. Sin embargo, estos mismos autores en otro análisis con una población más numerosa y también con distribución similar de porcentajes de carga tumoral entre poblaciones, obtuvieron que los pacientes con mayor TR (considerándose en este estudio un TR de 47 días) presentaban mayor carga tumoral en el GC, aunque la población TR $\leq$ 47 presentaba mayor riesgo de ganglios positivos adicionales en la linfadenectomía<sup>202</sup>.

La mediana de ganglios resecaados en la linfadenectomía de los pacientes con GC positivos fue de 12 ganglios para los TR $\leq$ 50 y de 10 para los TR $>$ 50, pero sin presentar asociación estadísticamente significativa. Tejera et al.<sup>217</sup> obtuvieron similares valores en las poblaciones clasificadas por TR (13 ganglios para TR $\leq$ 40, y 15 ganglios para TR $>$ 40), al igual que Oude et al.<sup>202</sup> con una mediana de 14 ganglios al considerar la población total. En otro estudio de estos mismos autores<sup>219</sup> sí que obtuvieron valores estadísticamente significativos al considerar el número de ganglios no centinelas positivos en la linfadenectomía en la clasificación de poblaciones según TR, con una mayor proporción de estos ganglios en la población TR $\leq$ 47; asimismo en el análisis multivariante, estos ganglios positivos permanecieron como factor pronóstico independiente para la mortalidad por causa del melanoma a los cinco años. Los resultados obtenidos Richting et al.<sup>220</sup> en una población de 121 pacientes, sugirieron que el TR tenía un gran impacto en la positividad de los ganglios no centinelas, no siendo así la demora a la linfadenectomía. De esta forma, si el TR era menor de 43 días, la positividad de los ganglios no centinelas ocurría en menos del 9,1%, con TR entre 43 y 69 días era del 16%, y si el TR era mayor de 80 días, todos los

pacientes tenían algún ganglio positivo en la linfadenectomía. No obstante, estos hallazgos deben ser considerados con cautela, ya que la población que presentó metástasis en los ganglios no centinela fue solo del 14,05% (17 pacientes).

En resumen, a pesar de que el número de variables clínico-anatomopatológicas y de la técnica de la BSGC que fueron analizadas en nuestro estudio fue muy superior al de los artículos tomados como referencia<sup>155,158-162</sup>, los resultados que pudieron ser comparados fueron similares en relación a su correlación con el TR, siendo probablemente el más destacado el hecho de que el TR no influye en el EG.

### 6.2.3. PARÁMETROS PRONÓSTICOS

La mediana de seguimiento en nuestra población fue de 43 meses, cercana a los 46 meses de Tejera et al.<sup>159</sup> o los 50 meses de Oude et al.<sup>155</sup>, lo que nos permitiría realizar una comparación fiable en relación a los resultados de evolución de estos grupos poblacionales. No obstante, está muy alejada de la cifra de la mediana de Parret et al.<sup>162</sup> con 140 meses. Al clasificar por TR, obtuvimos diferencias significativas en relación al tiempo de seguimiento, presentando la población con mayor TR un menor tiempo de seguimiento, a pesar de que su mortalidad fue menor.

#### 6.2.3.1. TIEMPO LIBRE DE ENFERMEDAD

Al considerar las poblaciones según el TR no obtuvimos valores estadísticamente significativos para la aparición de ninguna recurrencia, aunque el porcentaje de recurrencias era mayor en la población de menor TR: 15% para TR≤50 versus 10,3% para TR>50. Solo Tejera et al.<sup>159</sup> obtuvieron diferencias estadísticamente significativas, y al igual que en nuestro estudio, la población con menor TR presentaba mayor porcentaje de recurrencias respecto a la de mayor TR (23% versus 16%). Este resultado también se obtuvo en relación a las cifras de mortalidad y, como comentaremos de forma más extensa en el siguiente subapartado, podría estar motivado por la capacidad inmunogénica del melanoma.

Al pormenorizar por cada tipo de recurrencia, la satelitosis presentó asociación estadísticamente significativa ( $p=0,044$ ) en su presencia en la población TR≤50. Las metástasis a distancia también fueron la recurrencia más frecuente en las poblaciones de menor TR, en

consonancia con el estudio de Parret et al.<sup>162</sup> que obtuvieron incluso diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,02$ ), hipotetizando que este hecho se producía por tratarse de una población con mayor índice de Breslow y ulceración, que resultaba en una tasa mayor de GC positivos y por tanto de metástasis a distancia, como ocurría en nuestro estudio.

No obtuvimos diferencias significativas en la clasificación por TR al considerar el tiempo que transcurrió hasta la aparición de cualquiera de las recurrencias, no siendo este dato considerado en ninguno de los estudios de referencia.

Como comentamos previamente, en el análisis multivariante de los factores pronósticos para la aparición de recurrencia, se mantuvo la significación estadística para el índice de Breslow y la positividad del EG, ocurriendo este hecho de forma similar en los artículos de Parret et al.<sup>162</sup>, Nelson et al.<sup>161</sup> y Tejera et al.<sup>159</sup>. Estos autores también consideraron las variables “edad” y “ulceración”, y resultaron ser variables predictoras con significación estadística para Nelson et al.<sup>161</sup> y Tejera et al.<sup>159</sup>. El TR tampoco obtuvo significación estadística en ninguno de los estudios como factor predictor.

#### 6.2.3.2. MORTALIDAD

La cifra de mortalidad por causa del melanoma en nuestra población fue del 6,2%, como comentamos previamente, siendo ésta inferior a la de Tejera et al.<sup>159</sup>, que con un 10,5% fue el único de los artículos de referencia que consideró su estudio en el análisis descriptivo, estando esta discordancia en probable relación con nuestra mayor población con melanomas finos (índice de Breslow  $<1$  mm), ya que ambos estudios presentaron un tiempo de seguimiento similar.

En la clasificación por TR, tanto la mortalidad global como la motivada por causa de melanoma fue más frecuente en la población con  $TR \leq 50$ , siendo una diferencia estadísticamente significativa solo en la global ( $p=0,017$ ). El estudio de Tejera et al.<sup>159</sup> fue el único que en el análisis descriptivo por TR consideró la mortalidad por causa del melanoma, presentando también una mayor porcentaje de mortalidad por melanoma en la misma población de menor TR.

Cuando calculamos el tiempo que transcurría a cualquiera de los tipos de mortalidad, no obtuvimos valores estadísticamente significativos en ninguna de relación a la distribución por

TR. Este dato no fue considerado por ninguno de los estudios considerados como referencia<sup>155,158-162</sup>.

En el apartado 6.1.3 comentamos que, en el análisis multivariante de los factores pronósticos para mortalidad en la población total, el índice de Breslow y el EG retenían su significación como valores independientes. Los estudios de referencia<sup>155,158-162</sup> también retenían la significación estadística en estas mismas variables, y excepto Parret et al.<sup>162</sup>, también la ulceración.

Solo Tejera et al.<sup>159</sup> obtuvieron que un  $TR \leq 40$  retenía la significación estadística para la mortalidad por causa del melanoma tras ajustar por las otras variables. Argumenta que una posible explicación de sus hallazgos estaría motivada por la capacidad inmunogénica del melanoma, que es la base de las actuales inmunoterapias<sup>221</sup>. El efecto inmunosupresor del melanoma ha sido bien documentado en los ganglios linfáticos donde diferentes mecanismos afectan la activación de la inmunidad regional<sup>222</sup>. Esta inmunosupresión ocurre incluso en ausencia de afectación del GC<sup>223</sup>, sugiriendo que podría estar parcialmente mediada por la liberación de diferentes citoquinas del tumor primario<sup>224-227</sup>. El microentorno inmunosupresor del GC desaparecería con la escisión del tumor primario, permitiendo la inducción de una respuesta inmune antitumoral específica y eficiente en las siguientes semanas. Por todo ello, Tejera et al.<sup>159</sup> hipotetiza que una resección precoz del GC impediría esta respuesta y sería desfavorable para los pacientes.

### 6.2.3.3. CURVAS DE SUPERVIVENCIA

Considerando la población total, obtuvimos un mayor riesgo para la aparición de recurrencia en los pacientes con  $TR \leq 50$  respecto a los  $TR > 50$ . Si dividíamos la población según el estado ganglionar (positivo [EGP] o negativo [EGN]), y a su vez la clasificábamos según TR, los datos que obteníamos en la población EGP eran similares: los pacientes con  $TR \leq 50$  tenían un mayor riesgo para la aparición de recurrencia respecto a los  $TR > 50$ . En cambio, en los pacientes EGN ocurría lo contrario, existía un mayor riesgo para la aparición de recurrencia en los pacientes con  $TR > 50$ , con valores estadísticamente significativos ( $p=0,048$ ). Estos datos de los pacientes EGN son los únicos que difieren de los de Tejera et al.<sup>159</sup>, ya que en todas las clasificaciones de poblaciones obtenían un mayor riesgo de aparición de recurrencia en los pacientes de menor TR. Parret et al.<sup>162</sup> también mostraron un ligero mayor riesgo de recurrencia

en la población de menor TR al considerar la población total. Nelson et al.<sup>161</sup> y Oude et al.<sup>155</sup> concluyeron que el TR no tenía efecto en el TLE en la clasificación por EG, ni incluso se consideraba la población de forma global, al igual que en el estudio de Carpenter et al.<sup>160</sup> y Gambichler et al.<sup>216</sup>.

Las curvas de supervivencia global y por causa del melanoma eran superponibles y con resultados similares a los del TLE: tanto al considerar la población total como solo la población EGP, los pacientes con  $TR \leq 50$  presentaban mayor riesgo de mortalidad, con valores estadísticamente significativos en la población EGP (en la mortalidad global y por causa del melanoma). De la misma forma, en la población EGN ocurría lo contrario: el mayor riesgo de mortalidad lo presentaban los pacientes  $TR > 50$ . Este resultado obtenido en la población EGN vuelve a ser opuesto al obtenido por Tejera et al.<sup>159</sup>, y al igual que ocurría con el TLE, Parret et al.<sup>162</sup> también mostraron un ligero mayor riesgo de muerte por melanoma en la población total con  $TR \leq 40$ . Sin embargo, para Nelson et al.<sup>161</sup> y Oude et al.<sup>155</sup> el TR no tenía efecto en la mortalidad por melanoma al subdividirse por EG, pero tampoco al considerar la población total, como ocurrió para Carpenter et al.<sup>160</sup> y Gambichler et al.<sup>216</sup>.

A modo de resumen, al igual que ocurrió con los escasos artículos que estudiaron la influencia del TR, nuestros resultados fueron dispares en cuanto a la relación con distintas variables pronósticas, hecho que apoyaría la sospecha de que un determinado intervalo entre el diagnóstico del melanoma y la realización de la BSGC no tendría un impacto adverso en los pacientes.



## **7. CONCLUSIONES**





- Las características clínico-anatomopatológicas de los melanomas y los resultados en relación a la técnica de la biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC) de nuestro estudio se encontraron en el rango de lo recogido en la literatura.
- El índice de Breslow y la ulceración fueron factores predictores independientes de la positividad del ganglio centinela.
- La población con estado ganglionar positivo presentó cifras significativamente mayores de recurrencia y mortalidad que la población con estado ganglionar negativo.
- Un intervalo mayor de 50 días desde el diagnóstico del melanoma a la realización de la BSGC no se asoció de forma significativa al estado ganglionar del ganglio centinela.
- La supervivencia libre de enfermedad, global o por causa del melanoma no se ve influenciada por un tiempo de demora de 50 días desde el diagnóstico del melanoma a la realización de la BSGC, a menos que se considere el estado ganglionar.



## **8. BIBLIOGRAFÍA**



1. Tuong W, Cheng LS, Armstrong AW. Melanoma: Epidemiology, diagnosis, treatment, and outcomes. *Dermatol Clin* 2012; 30(1):113-24, ix.
2. Miller AJ, Mihm MC. Melanoma. *N Engl J Med* 2006; 355(1):51–65.
3. Arnold M, Holterhues C, Hollestein LM, Coebergh JWW, Nijsten T, Pukkala E et al. Trends in incidence and predictions of cutaneous melanoma across Europe up to 2015. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2014; 28(9):1170–8.
4. Little EG, Eide MJ. Update on the current state of melanoma incidence. *Dermatol Clin* 2012; 30(3):355–61.
5. MacKie RM, Hauschild A, Eggermont AMM. Epidemiology of invasive cutaneous melanoma. *Ann Oncol* 2009; 20 Suppl 6:vi1-7.
6. Nikolaou V, Stratigos AJ. Emerging trends in the epidemiology of melanoma. *Br J Dermatol* 2014; 170(1):11–9.
7. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM), ed. Las cifras del cáncer en España 2018. Madrid; 2018.
8. Avilés JA, Lázaro P. Predisposición genética en el melanoma cutáneo. *Actas Dermosifiliogr* 2006; 97(4):229–40.
9. Aoude LG, Gartside M, Johansson P, Palmer JM, Symmons J, Martin NG et al. Prevalence of germline BAP1, CDKN2A, and CDK4 mutations in an australian population-based sample of cutaneous melanoma cases. *Twin Res Hum Genet* 2015; 18(2):126–33.
10. Rodríguez R, Parra A, González S, Molgó M, Droppelmann N, Acevedo F et al. Entendiendo las terapias actuales en melanoma metastásico. *Rev Med Chil* 2016; 144(11):1448–58.
11. Swick JM, Maize JC. Molecular biology of melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2012; 67(5):1049–54.
12. 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(1):45–60.
13. Olsen CM, Carroll HJ, Whiteman DC. Estimating the attributable fraction for melanoma: A meta-analysis of pigmentary characteristics and freckling. *Int J Cancer* 2010; 127(10):2430–45.
14. Azoury SC, Lange JR. Epidemiology, risk factors, prevention, and early detection of melanoma. *Surg Clin North Am* 2014; 94(5):945-62, vii.
15. Kanavy HE, Gerstenblith MR. Ultraviolet radiation and melanoma. *Semin Cutan Med Surg* 2011; 30(4):222–8.
16. Green AC, Williams GM, Logan V, Strutton GM. Reduced melanoma after regular sunscreen use: Randomized trial follow-up. *J Clin Oncol* 2011; 29(3):257–63.
17. Wehner MR, Chren MM, Nameth D, Choudhry A, Gaskins M, Nead KT et al. International prevalence of indoor tanning: A systematic review and meta-analysis. *JAMA Dermatol* 2014; 150(4):390–400.

18. Friedman RJ, Rigel DS. The clinical features of malignant melanoma. *Dermatol Clin* 1985; 3(2):271–83.
19. Abbasi NR, Shaw HM, Rigel DS, Friedman RJ, McCarthy WH, Osman I et al. Early diagnosis of cutaneous melanoma: Revisiting the ABCD criteria. *JAMA* 2004; 292(22):2771–6.
20. Bafounta ML, Beauchet A, Aegerter P, Saiag P. Is dermoscopy (epiluminescence microscopy) useful for the diagnosis of melanoma? *Arch Dermatol* 2001; 137(10):1343–50.
21. 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(3):705–27.
22. Clark WH, Elder DE, van Horn M. The biologic forms of malignant melanoma. *Hum Pathol* 1986; 17(5):443–50.
23. Hurt MA. Types of melanoma? *J Am Acad Dermatol* 2008; 58(6):1059–60.
24. Sánchez Yus E, Herrera M, Simón RS, Requena L. Pero...hubo alguna vez una clasificación de Clark de los melanomas? *Actas Dermosifiliogr* 2010; 101(1):19–30.
25. Tejera-Vaquerizo A, Solis-Garcia E, Rios-Martin JJ, Moreno-Ramirez D. Primary cutaneous melanoma: Prognostic factors not included in the classification of the American Joint Committee on Cancer. *Actas Dermosifiliogr* 2011; 102(4):255–63.
26. Breslow A. Thickness, cross-sectional areas and depth of invasion in the prognosis of cutaneous melanoma. *Ann Surg* 1970; 172(5):902–8.
27. Amin MB, Edge SB, Greene FL, editors. *AJCC cancer staging manual*. 8th ed. Chicago, IL: Springer; 2017.
28. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A, editors. *AJCC cancer staging handbook*. 7th ed. New York, NY: Springer; 2010.
29. Thompson JF, Soong SJ, Balch CM, Gershenwald JE, Ding S, Coit DG et al. Prognostic significance of mitotic rate in localized primary cutaneous melanoma: An analysis of patients in the multi-institutional American Joint Committee on Cancer melanoma staging database. *J Clin Oncol* 2011; 29(16):2199–205.
30. Mandalà M, Galli F, Cattaneo L, Merelli B, Rulli E, Ribero S et al. Mitotic rate correlates with sentinel lymph node status and outcome in cutaneous melanoma greater than 1 millimeter in thickness: A multi-institutional study of 1524 cases. *J Am Acad Dermatol* 2017; 76(2):264–273.e2.
31. Greene FL, Page DL, Fleming ID, Fritz AG, Balch CM, Haller DG et al, editors. *AJCC cancer staging manual*. 6th ed. New York, NY: Springer; 2002.
32. Barnhill RL, Fine JA, Roush GC, Berwick M. Predicting five-year outcome for patients with cutaneous melanoma in a population-based study. *Cancer* 1996; 78(3):427–32.
33. Requena C, Botella-Estrada R, Traves V, Nagore E, Almenar S, Guillén C. Regresión en el melanoma: Problemas en su definición e implicación pronóstica. *Actas Dermosifiliogr* 2009; 100(9):759–66.
34. Burton AL, Gilbert J, Farmer RW, Stromberg AJ, Hagendoorn L, Ross MI et al. Regression does not predict nodal metastasis or survival in patients with cutaneous melanoma. *Am Surg* 2011; 77(8):1009–13.

35. Clark WH, Elder DE, Guerry D, Braitman LE, Trock BJ, Schultz D et al. Model predicting survival in stage I melanoma based on tumor progression. *J Natl Cancer Inst* 1989; 81(24):1893–904.
36. Azimi F, Scolyer RA, Rumcheva P, Moncrieff M, Murali R, McCarthy SW et al. Tumor-infiltrating lymphocyte grade is an independent predictor of sentinel lymph node status and survival in patients with cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 2012; 30(21):2678–83.
37. Fu Q, Chen N, Ge C, Li R, Li Z, Zeng B et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in melanoma: A systematic review and meta-analysis. *Oncoimmunology* 2019; 8(7):1593806.
38. Day CL, Harrist TJ, Gorstein F, Sober AJ, Lew RA, Friedman RJ et al. Malignant melanoma. Prognostic significance of "microscopic satellites" in the reticular dermis and subcutaneous fat. *Ann Surg* 1981; 194(1):108–12.
39. Gershenwald JE, Scolyer RA, Hess KR, Sondak VK, Long GV, Ross MI et al. Melanoma staging: Evidence-based changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin* 2017; 67(6):472–92.
40. Kashani-Sabet M, Sagebiel RW, Ferreira CM, Nosrati M, Miller JR. Vascular involvement in the prognosis of primary cutaneous melanoma. *Arch Dermatol* 2001; 137(9):1169–73.
41. Xu X, Chen L, Guerry D, Dawson PR, Hwang WT, VanBelle P et al. Lymphatic invasion is independently prognostic of metastasis in primary cutaneous melanoma. *Clin Cancer Res* 2012; 18(1):229–37.
42. Baer SC, Schultz D, Synnestvedt M, Elder DE. Desmoplasia and neurotropism. Prognostic variables in patients with stage I melanoma. *Cancer* 1995; 76(11):2242–7.
43. Quinn MJ, Crotty KA, Thompson JF, Coates AS, O'Brien CJ, McCarthy WH. Desmoplastic and desmoplastic neurotropic melanoma: Experience with 280 patients. *Cancer* 1998; 83(6):1128–35.
44. Bevona C, Goggins W, Quinn T, Fullerton J, Tsao H. Cutaneous melanomas associated with nevi. *Arch Dermatol* 2003; 139(12):1620–4.
45. Drunkenmölle E, Marsch WC, Lübke D, Helmbold P. Paratumoral epidermal hyperplasia: A novel prognostic factor in thick primary melanoma of the skin? *Am J Dermatopathol* 2005; 27(6):482–8.
46. Kaddu S, Smolle J, Zenahlik P, Hofmann-Wellenhof R, Kerl H. Melanoma with benign melanocytic naevus components: Reappraisal of clinicopathological features and prognosis. *Melanoma Res* 2002; 12(3):271–8.
47. Rowe SP, Lubber B, Makell M, Brothers P, Santmyer J, Schollenberger MD et al. From validity to clinical utility: The influence of circulating tumor DNA on melanoma patient management in a real-world setting. *Mol Oncol* 2018; 12(10):1661–72.
48. Wang L, Rao M, Fang Y, Hameed M, Viale A, Busam K et al. A genome-wide high-resolution array-CGH analysis of cutaneous melanoma and comparison of array-CGH to FISH in diagnostic evaluation. *J Mol Diagn* 2013; 15(5):581–91.
49. Gerami P, Zembowicz A. Update on fluorescence in situ hybridization in melanoma: State of the art. *Arch Pathol Lab Med* 2011; 135(7):830–7.

50. Martin RCG, Scoggins CR, Ross MI, Reintgen DS, Noyes RD, Edwards MJ et al. Is incisional biopsy of melanoma harmful? *Am J Surg* 2005; 190(6):913–7.
51. Tadiparthi S, Panchani S, Iqbal A. Biopsy for malignant melanoma-are we following the guidelines? *Ann R Coll Surg Engl* 2008; 90(4):322–5.
52. Tran KT, Wright NA, Cockerell CJ. Biopsy of the pigmented lesion--when and how. *J Am Acad Dermatol* 2008; 59(5):852–71.
53. National Comprehensive Cancer Network (NCCN Guidelines®) Melanoma (version 3.2020). Accessed June 3, 2020. Available from: URL: [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/cutaneous\\_melanoma\\_blocks.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/cutaneous_melanoma_blocks.pdf).
54. Morton DL, Thompson JF, Cochran AJ, Mozzillo N, Nieweg OE, Roses DF et al. Final trial report of sentinel-node biopsy versus nodal observation in melanoma. *N Engl J Med* 2014; 370(7):599–609.
55. Gimbel MI, Delman KA, Zager JS. Therapy for unresectable recurrent and in-transit extremity melanoma. *Cancer Control* 2008; 15(3):225–32.
56. Hayes AJ, Clark MA, Harries M, Thomas JM. Management of in-transit metastases from cutaneous malignant melanoma. *Br J Surg* 2004; 91(6):673–82.
57. Berrocal A, Arance A, Castellon VE, La Cruz L de, Espinosa E, Cao MG et al. SEOM clinical guideline for the management of malignant melanoma (2017). *Clin Transl Oncol* 2018; 20(1):69–74.
58. Guadagnolo BA, Zagars GK. Adjuvant radiation therapy for high-risk nodal metastases from cutaneous melanoma. *Lancet Oncol* 2009; 10(4):409–16.
59. Luke JJ, Flaherty KT, Ribas A, Long GV. Targeted agents and immunotherapies: Optimizing outcomes in melanoma. *Nat Rev Clin Oncol* 2017; 14(8):463–82.
60. Daud A, Gill J, Kamra S, Chen L, Ahuja A. Indirect treatment comparison of dabrafenib plus trametinib versus vemurafenib plus cobimetinib in previously untreated metastatic melanoma patients. *J Hematol Oncol* 2017; 10(1):3.
61. Wong ANM, McArthur GA, Hofman MS, Hicks RJ. The advantages and challenges of using FDG PET/CT for response assessment in melanoma in the era of targeted agents and immunotherapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2017; 44(Suppl 1):67–77.
62. Bayan CY, Lopez AT, Gartrell RD, Komatsubara KM, Bogardus M, Rao N et al. The role of oncolytic viruses in the treatment of melanoma. *Curr Oncol Rep* 2018; 20(10):80.
63. O'Donoghue C, Doepker MP, Zager JS. Talimogene laherparepvec: Overview, combination therapy and current practices. *Melanoma Manag* 2016; 3(4):267–72.
64. Corrie P, Hategan M, Fife K, Parkinson C. Management of melanoma. *Br Med Bull* 2014; 111(1):149–62.
65. Garbe C, Amaral T, Peris K, Hauschild A, Arenberger P, Bastholt L et al. European consensus-based interdisciplinary guideline for melanoma. Part 2: Treatment-Update 2019. *Eur J Cancer* 2020; 126:159–77.



66. Yang GB, Barnholtz-Sloan JS, Chen Y, Bordeaux JS. Risk and survival of cutaneous melanoma diagnosed subsequent to a previous cancer. *Arch Dermatol* 2011; 147(12):1395–402.
67. Youlden DR, Youl PH, Soyer HP, Aitken JF, Baade PD. Distribution of subsequent primary invasive melanomas following a first primary invasive or in situ melanoma Queensland, Australia, 1982-2010. *JAMA Dermatol* 2014; 150(5):526–34.
68. Leiter U, Buettner PG, Eigentler TK, Forschner A, Meier F, Garbe C. Is detection of melanoma metastasis during surveillance in an early phase of development associated with a survival benefit? *Melanoma Res* 2010; 20(3):240–6.
69. Xing Y, Bronstein Y, Ross MI, Askew RL, Lee JE, Gershenwald JE et al. Contemporary diagnostic imaging modalities for the staging and surveillance of melanoma patients: A meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2011; 103(2):129–42.
70. Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FK et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992; 127(4):392–9.
71. Alex JC, Krag DN. Gamma-probe guided localization of lymph nodes. *Surg Oncol* 1993; 2(3):137–43.
72. Glass EC, Essner R, Morton DL. Kinetics of three lymphoscintigraphic agents in patients with cutaneous melanoma. *J Nucl Med* 1998; 39(7):1185–90.
73. Wallace AM, Hoh CK, Ellner SJ, Darrah DD, Schulteis G, Vera DR. Lymphoseek: A molecular imaging agent for melanoma sentinel lymph node mapping. *Ann Surg Oncol* 2007; 14(2):913–21.
74. Vidal-Sicart S, Vera DR, Valdés RA. Nueva generación de radiotrazadores para la biopsia del ganglio centinela: ¿qué es necesario para establecer nuevos paradigmas de imagen? *Rev Esp Med Nucl Imagen Mol* 2018; 37(6):373–9.
75. Surasi DS, O'Malley J, Bhambhani P. <sup>99m</sup>Tc-Tilmanocept: A novel molecular agent for lymphatic mapping and sentinel lymph node localization. *J Nucl Med Technol* 2015; 43(2):87–91.
76. Brouwer OR, Buckle T, Vermeeren L, Klop WMC, Balm AJM, van der Poel HG et al. Comparing the hybrid fluorescent-radioactive tracer indocyanine green-<sup>99m</sup>Tc-nanocolloid with <sup>99m</sup>Tc-nanocolloid for sentinel node identification: A validation study using lymphoscintigraphy and SPECT/CT. *J Nucl Med* 2012; 53(7):1034–40.
77. Stoffels I, Dissemond J, Poppel T, Schadendorf D, Klode J. Intraoperative fluorescence imaging for sentinel lymph node detection: Prospective clinical trial to compare the usefulness of indocyanine green vs technetium Tc 99m for identification of sentinel lymph nodes. *JAMA Surg* 2015; 150(7):617–23.
78. Frontado LM, Brouwer OR, van den Berg NS, Mathéron HM, Vidal-Sicart S, van Leeuwen FWB et al. Added value of the hybrid tracer indocyanine green-<sup>99m</sup>Tc-nanocolloid for sentinel node biopsy in a series of patients with different lymphatic drainage patterns. *Rev Esp Med Nucl Imagen Mol* 2013; 32(4):227–33.
79. van den Berg NS, Buckle T, Kleinjan GI, Klop WM, Horenblas S, van der Poel HG et al. Hybrid tracers for sentinel node biopsy. *Q J Nucl Med Mol Imaging* 2014; 58(2):193–206.

80. KleinJan GH, van Werkhoven E, van den Berg NS, Karakullukcu MB, Zijlmans HJMAA, van der Hage JA et al. The best of both worlds: A hybrid approach for optimal pre- and intraoperative identification of sentinel lymph nodes. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2018; 45(11):1915–25.
81. Fernández A, Vidal-Sicart S. El ganglio centinela. Concepto y aplicaciones clínicas en neoplasias de mama y melanoma. *Rev Esp Med Nucl* 2000; 19(5):371–87.
82. Rettenbacher L, Koller J, Kassmann H, Holzmannhofer J, Rettenbacher T, Galvan G. Reproducibility of lymphoscintigraphy in cutaneous melanoma: can we accurately detect the sentinel lymph node by expanding the tracer injection distance from the tumor site? *J Nucl Med* 2001; 42(3):424–9.
83. Bluemel C, Herrmann K, Giammarile F, Nieweg OE, Dubreuil J, Testori A et al. EANM practice guidelines for lymphoscintigraphy and sentinel lymph node biopsy in melanoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2015; 42(11):1750–66.
84. Chakera AH, Hesse B, Burak Z, Ballinger JR, Britten A, Caraco C et al. EANM-EORTC general recommendations for sentinel node diagnostics in melanoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009; 36(10):1713–42.
85. Vidal M, Vidal-Sicart S, Torrents A, Perissinotti A, Navales I, Paredes P et al. Accuracy and reproducibility of lymphoscintigraphy for sentinel node detection in patients with cutaneous melanoma. *J Nucl Med* 2012; 53(8):1193–9.
86. Moncayo VM, Aarsvold JN, Alazraki NP. Lymphoscintigraphy and sentinel nodes. *J Nucl Med* 2015; 56(6):901–7.
87. Vidal-Sicart S, Vilalta A, Alonso MI. Sentinel node in melanoma and breast cancer. Current considerations. *Rev Esp Med Nucl Imagen Mol* 2015; 34(1):30–44.
88. Vidal-Sicart S, Brouwer OR, Valdes-Olmos RA. Evaluation of the sentinel lymph node combining SPECT/CT with the planar image and its importance for the surgical act. *Rev Esp Med Nucl* 2011; 30(5):331–7.
89. Schuitevoerder D, Grinlington L, Stevens J, Nance R, Fortino J, Vetto JT. Nonvisualized sentinel lymph nodes on lymphoscintigraphy in melanoma: Predictive factors and surgical outcomes. *Nucl Med Commun* 2017; 38(5):383–7.
90. Soran A, Falk J, Bonaventura M, Keenan D, Ahrendt G, Johnson R. Does failure to visualize a sentinel node on preoperative lymphoscintigraphy predict a greater likelihood of axillary lymph node positivity? *J Am Coll Surg* 2007; 205(1):66–71.
91. Birdwell RL, Smith KL, Betts BJ, Ikeda DM, Strauss HW, Jeffrey SS. Breast cancer: Variables affecting sentinel lymph node visualization at preoperative lymphoscintigraphy. *Radiology* 2001; 220(1):47–53.
92. Conway WC, Faries MB, Nicholl MB, Terando AM, Glass EC, Sim M et al. Age-related lymphatic dysfunction in melanoma patients. *Ann Surg Oncol* 2009; 16(6):1548–52.
93. Vaz SC, Silva Â, Sousa R, Ferreira TC, Esteves S, Carvalho IP et al. Breast cancer lymphoscintigraphy: Factors associated with sentinel lymph node non visualization. *Rev Esp Med Nucl Imagen Mol* 2015; 34(6):345–9.

94. Pavri SN, Gary C, Martinez RS, Kim S, Han D, Ariyan S et al. Nonvisualization of sentinel lymph nodes by lymphoscintigraphy in primary cutaneous melanoma: Incidence, risk factors, and a review of management options. *Plast Reconstr Surg* 2018; 142(4):527e-534e.
95. Mariani G, Giuliano AE, Strauss HW, editors. *Radioguided surgery: A comprehensive team approach*. New York, NY: Springer; 2008.
96. Vidal-Sicart S, Seva A, Campos F, Sánchez N, Alonso I, Pahisa J et al. Clinical use of an opto-nuclear probe for hybrid sentinel node biopsy guidance: First results. *Int J Comput Assist Radiol Surg* 2019; 14(2):409–16.
97. Borbon-Arce M, Brouwer OR, van den Berg NS, Matheron H, Klop WM, Balm AJ et al. An innovative multimodality approach for sentinel node mapping and biopsy in head and neck malignancies. *Rev Esp Med Nucl Imagen Mol* 2014; 33(5):274–9.
98. Vidal-Sicart S, Paredes P, Zanon G, Pahisa J, Martinez-Roman S, Caparros X et al. Added value of intraoperative real-time imaging in searches for difficult-to-locate sentinel nodes. *J Nucl Med* 2010; 51(8):1219–25.
99. Vermeeren L, Klop WM, van den Brekel, M. W., Balm AJ, Nieweg OE, Valdes Olmos RA. Sentinel node detection in head and neck malignancies: Innovations in radioguided surgery. *J Oncol Prac* 2009; 2009:681746.
100. Rieger A, Saeckl J, Belloni B, Hein R, Okur A, Scheidhauer K et al. First experiences with navigated radio-guided surgery using freehand SPECT. *Case Rep Oncol* 2011; 4(2):420–5.
101. Mihaljevic AL, Rieger A, Belloni B, Hein R, Okur A, Scheidhauer K et al. Transferring innovative freehand SPECT to the operating room: first experiences with sentinel lymph node biopsy in malignant melanoma. *Eur J Surg Oncol* 2014; 40(1):42–8.
102. Sulzbacher L, Klinger M, Scheurecker C, Wacha M, Shamiyeh A, Malek M et al. Clinical usefulness of a novel freehand 3D imaging device for radio-guided intraoperative sentinel lymph node detection in malignant melanoma. *Clin Nucl Med* 2015; 40(9):e436-40.
103. Bluemel C, Schnelzer A, Okur A, Ehlerding A, Paepke S, Scheidhauer K et al. Freehand SPECT for image-guided sentinel lymph node biopsy in breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2013; 40(11):1656–61.
104. Casans-Tormo I, Prado-Wohlwend S, Diaz-Exposito R, Cassinello-Fernandez N, Ortega-Serrano J. Initial experience in intraoperative radiolocalization of the parathyroid adenoma with freehand SPECT and comparative assessment with portable gamma-camera. *Rev Esp Med Nucl Imagen Mol* 2015; 34(2):116–9.
105. McMasters KM, Reintgen DS, Ross MI, Wong SL, Gershenwald JE, Krag DN et al. Sentinel lymph node biopsy for melanoma: How many radioactive nodes should be removed? *Ann Surg Oncol* 2001; 8(3):192–7.
106. Manca G, Romanini A, Pellegrino D, Borso E, Rondini M, Orlandini C et al. Optimal detection of sentinel lymph node metastases by intraoperative radioactive threshold and molecular analysis in patients with melanoma. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* 2008; 49(11):1769–75.
107. Danino AM, Kadlub N, Dalac S, Boichot C, Malka G. Reducing the number of sentinel nodes removed in melanoma patients: A prospective study. *Indian J Cancer* 2006; 43(3):132–5.

108. Abou-Nukta F, Ariyan S. Sentinel lymph node biopsies in melanoma: how many nodes do we really need? *Ann Plast Surg* 2008; 60(4):416–9.
109. Porter GA, Ross MI, Berman RS, Sumner WE, Lee JE, Mansfield PF et al. How many lymph nodes are enough during sentinel lymphadenectomy for primary melanoma? *Surgery* 2000; 128(2):306–11.
110. Sociedad Española de Anatomía Patológica, International Academy of Pathology (SEAP-IAP), ed. Libro blanco de la anatomía patológica en España, 2017: Recomendaciones de los clubes para el diagnóstico anatomopatológico. 5ª ed. Vitoria-Gasteiz; 2017.
111. Tanis PJ, Boom RP, Koops HS, Faneyte IF, Peterse JL, Nieweg OE et al. Frozen section investigation of the sentinel node in malignant melanoma and breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2001; 8(3):222–6.
112. Cook MG, Green MA, Anderson B, Eggermont AMM, Ruiter DJ, Spatz A et al. The development of optimal pathological assessment of sentinel lymph nodes for melanoma. *J Pathol* 2003; 200(3):314–9.
113. Scolyer RA, Murali R, Satzger I, Thompson JF. The detection and significance of melanoma micrometastases in sentinel nodes. *Surg Oncol* 2008; 17(3):165–74.
114. Carlson JA, Ross JS, Slominski A, Linette G, Mysliborski J, Hill J et al. Molecular diagnostics in melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2005; 52(5):743-75.
115. Karimipour DJ, Lowe L, Su L, Hamilton T, Sondak V, Johnson TM et al. Standard immunostains for melanoma in sentinel lymph node specimens: Which ones are most useful? *J Am Acad Dermatol* 2004; 50(5):759–64.
116. van Akkooi ACJ, Wilt JH de, Verhoef C, Schmitz PI, van Geel AN, Eggermont AM et al. Clinical relevance of melanoma micrometastases (<0.1 mm) in sentinel nodes: Are these nodes to be considered negative? *Ann Oncol* 2006; 17(10):1578–85.
117. Mocellin S, Hoon DS, Pilati P, Rossi CR, Nitti D. Sentinel lymph node molecular ultrastaging in patients with melanoma: A systematic review and meta-analysis of prognosis. *J Clin Oncol* 2007; 25(12):1588–95.
118. Shao M-M, Chan SK, Yu AMC, Lam CCF, Tsang JYS, Lui PCW et al. Keratin expression in breast cancers. *Virchows Arch* 2012; 461(3):313–22.
119. Sera T, Mohos G, Papos M, Osvay M, Varga J, Lazar M et al. Sentinel node detection in malignant melanoma patients: Radiation safety considerations. *Dermatol Surg* 2003; 29(2):141–5.
120. Povoski SP, Neff RL, Mojzisek CM, O'Malley DM, Hinkle GH, Hall NC et al. A comprehensive overview of radioguided surgery using gamma detection probe technology. *World J Surg Oncol* 2009; 7:11.
121. Giammarile F, Alazraki N, Aarsvold JN, Audisio RA, Glass E, Grant SF et al. The EANM and SNMMI practice guideline for lymphoscintigraphy and sentinel node localization in breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2013; 40(12):1932–47.

122. Gannon CJ, Rousseau DL, Ross MI, Johnson MM, Lee JE, Mansfield PF et al. Accuracy of lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy after previous wide local excision in patients with primary melanoma. *Cancer* 2006; 107(11):2647–52.
123. Moody JA, Ali RF, Carbone AC, Singh S, Hardwicke JT. Complications of sentinel lymph node biopsy for melanoma - A systematic review of the literature. *Eur J Surg Oncol* 2017; 43(2):270–7.
124. Moody JA, Botham SJ, Dahill KE, Wallace DL, Hardwicke JT. Complications following completion lymphadenectomy versus therapeutic lymphadenectomy for melanoma - A systematic review of the literature. *Eur J Surg Oncol* 2017; 43(9):1760–7.
125. Liu L-C, Parrett BM, Jenkins T, Lee W, Morita E, Treseler P et al. Selective sentinel lymph node dissection for melanoma: Importance of harvesting nodes with lower radioactive counts without the need for blue dye. *Ann Surg Oncol* 2011; 18(10):2919–24.
126. Kretschmer L, Bertsch HP, Zapf A, Mitteldorf C, Satzger I, Thoms KM et al. Nodal basin recurrence after sentinel lymph node biopsy for melanoma: a retrospective multicenter study in 2653 patients. *Medicine (Baltimore)* 2015; 94(36):e1433.
127. Scoggins CR, Martin RCG, Ross MI, Edwards MJ, Reintgen DS, Urist MM et al. Factors associated with false-negative sentinel lymph node biopsy in melanoma patients. *Ann Surg Oncol* 2010; 17(3):709–17.
128. Lee DY, Huynh KT, Teng A, Lau BJ, Vitug S, Lee J-H et al. Predictors and survival impact of false-negative sentinel nodes in melanoma. *Ann Surg Oncol* 2016; 23(3):1012–8.
129. Morton DL, Cochran AJ, Thompson JF, Elashoff R, Essner R, Glass EC et al. Sentinel node biopsy for early-stage melanoma: Accuracy and morbidity in MSLT-I, an international multicenter trial. *Ann Surg* 2005; 242(3):302–11.
130. van der Ploeg APT, van Akkooi, Alexander C. J., Verhoef C, Eggermont AMM. Completion lymph node dissection after a positive sentinel node: No longer a must? *Curr Opin Oncol* 2013; 25(2):152–9.
131. Geimer T, Sattler EC, Flaig MJ, Ruzicka T, Berking C, Schmid-Wendtner MH et al. The impact of sentinel node dissection on disease-free and overall tumour-specific survival in melanoma patients: A single centre group-matched analysis of 1192 patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2017; 31(4):629–35.
132. Santos-Juanes J, Fernández-Vega I, Galache-Osuna C, Coto-Segura P, Martínez-Cambor P. Sentinel lymph node biopsy plus wide local excision vs. wide location excision alone for primary cutaneous melanoma: A systematic review and meta-analysis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2017; 31(2):241–6.
133. Tejera-Vaquero A, Barrera-Vigo MV, Fernández-Canedo I, Blázquez-Sánchez N, Mendiola-Fernández M, Fernández-Orland A et al. Longitudinal study of different metastatic patterns in the progression of cutaneous melanoma. *Actas Dermosifiliogr* 2007; 98(8):531–8.
134. Zagarella S, Lee S, Heenan P. Sentinel lymph node biopsy status is not the most powerful predictor of prognosis in cutaneous melanoma. *Australas J Dermatol* 2017; 58(4):256–8.
135. van Akkooi ACJ, Nowecki ZI, Voit C, Schafer-Hesterberg G, Michej W, Wilt JH de et al. Sentinel node tumor burden according to the Rotterdam criteria is the most important

prognostic factor for survival in melanoma patients: A multicenter study in 388 patients with positive sentinel nodes. *Ann Surg* 2008; 248(6):949–55.

136. Faries MB, Thompson JF, Cochran AJ, Andtbacka RH, Mozzillo N, Zager JS et al. Completion dissection or observation for sentinel-node metastasis in melanoma. *N Eng J Med* 2017; 376(23):2211–22.

137. Leiter U, Stadler R, Mauch C, Hohenberger W, Brockmeyer N, Berking C et al. Final analysis of DeCOG-SLT trial: No survival benefit for complete lymph node dissection in patients with melanoma with positive sentinel node. *J Clin Oncol* 2019; 37:3000–8.

138. Gyorki DE, Barbour A, Hanikeri M, Mar V, Sandhu S, Thompson JF. When is a sentinel node biopsy indicated for patients with primary melanoma? An update of the "Australian guidelines for the management of cutaneous melanoma". *Australas J Dermatol* 2017; 58(4):274–7.

139. Wong SL, Faries MB, Kennedy EB, Agarwala SS, Akhurst TJ, Ariyan C et al. Sentinel lymph node biopsy and management of regional lymph nodes in melanoma: American Society of Clinical Oncology and Society of Surgical Oncology clinical practice guideline update. *Ann Surg Oncol* 2018; 25(2):356–77.

140. Weber J, Mandala M, Del Vecchio M, Gogas HJ, Arance AM, Cowey CL et al. Adjuvant nivolumab versus ipilimumab in resected stage III or IV melanoma. *N Engl J Med* 2017; 377(19):1824–35.

141. Eggermont AMM, Blank CU, Mandala M, Long GV, Atkinson V, Dalle S et al. Adjuvant pembrolizumab versus placebo in resected stage III melanoma. *N Engl J Med* 2018; 378(19):1789–801.

142. Eggermont AMM, Dummer R. The 2017 complete overhaul of adjuvant therapies for high-risk melanoma and its consequences for staging and management of melanoma patients. *Eur J Cancer* 2017; 86:101–5.

143. Kibrite A, Milot H, Douville P, Gagne EJ, Labonte S, Friede J et al. Predictive factors for sentinel lymph nodes and non-sentinel lymph nodes metastatic involvement: a database study of 1,041 melanoma patients. *Am J Surg* 2016; 211(1):89–94.

144. Rossi CR, Mocellin S, Campana LG, Borgognoni L, Sestini S, Giudice G et al. Prediction of non-sentinel node status in patients with melanoma and positive sentinel node biopsy: An Italian Melanoma Intergroup (IMI) Study. *Ann Surg Oncol* 2018; 25(1):271–9.

145. Bertolli E, Franke V, Calsavara VF, Macedo MP de, Pinto CAL, van Houdt WJ et al. Validation of a nomogram for non-sentinel node positivity in melanoma patients, and its clinical implications: A Brazilian-Dutch study. *Ann Surg Oncol* 2019; 26(2):395–405.

146. Vidal-Sicart S, Pons F, Fuertes S, Vilalta A, Rull R, Puig S et al. Is the identification of in-transit sentinel lymph nodes in malignant melanoma patients really necessary? *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2004; 31(7):945–9.

147. Chakera AH, Hansen LB, Lock-Andersen J, Drzewiecki KT, Hesse B. In-transit sentinel nodes must be found: Implication from a 10-year follow-up study in melanoma. *Melanoma Res* 2008; 18(5):359–64.

148. Brandão PHDM, Bertolli E, Doria-Filho E, Santos Filho IDAO, Macedo MP de, Pinto CAL et al. In transit sentinel node drainage as a prognostic factor for patients with cutaneous melanoma. *J Surg Oncol* 2018; 117(5):864–7.
149. Nacchiero E, Vestita M, Robusto F, Maruccia M, Annoscia P, Giudice G. Surgical management of tumor-positive interval node in melanoma patients: An observational study. *Medicine (Baltimore)* 2018; 97(18):e0584.
150. Cordeiro E, Gervais M-K, Shah PS, Look Hong NJ, Wright FC. Sentinel lymph node biopsy in thin cutaneous melanoma: A systematic review and meta-analysis. *Ann Surg Oncol* 2016; 23(13):4178–88.
151. Isaksson K, Nielsen K, Mikiver R, Nieweg OE, Scolyer RA, Thompson JF et al. Sentinel lymph node biopsy in patients with thin melanomas: Frequency and predictors of metastasis based on analysis of two large international cohorts. *J Surg Oncol* 2018; 118(4):599–605.
152. Rondelli F, Vedovati MC, Becattini C, Tomassini GM, Messina S, Noya G et al. Prognostic role of sentinel node biopsy in patients with thick melanoma: A meta-analysis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2012; 26(5):560–5.
153. Boada A, Tejera-Vaquerizo A, Ribero S, Puig S, Moreno-Ramírez D, Descalzo-Gallego MA et al. Sentinel lymph node biopsy versus observation in thick melanoma: A multicenter propensity score matching study. *Int J Cancer* 2018; 142(3):641–8.
154. Bello DM, Han G, Jackson L, Bulloch K, Ariyan S, Narayan D et al. The prognostic significance of sentinel lymph node status for patients with thick melanoma. *Ann Surg Oncol* 2016; 23(Suppl 5):938–45.
155. Oude Ophuis CMC, van Akkooi ACJ, Rutkowski P, Voit CA, Stepniak J, Erler NS et al. Effects of time interval between primary melanoma excision and sentinel node biopsy on positivity rate and survival. *Eur J Cancer* 2016; 67:164–73.
156. Piñero A, Giménez J, Merck B, Vázquez C. Reunión de Consenso sobre la biopsia selectiva del ganglio centinela en el cáncer de mama. *Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria. Rev Esp Med Nucl* 2007; 26(3):176–80.
157. Sabaté-Llobera A, Notta PC, Benítez-Segura A, López-Ojeda A, Pernas-Simon S, Boya-Román MP et al. Biopsia selectiva del ganglio centinela en pacientes con cáncer de mama y biopsia escisional previa: ¿cambia la fiabilidad de la técnica según el tiempo transcurrido desde la cirugía? *Rev Esp Med Nucl Imagen Mol* 2015; 34(1):9–12.
158. Fortes C, Mastroeni S, Caggiati A, Passarelli F, Zappalà A, Capuano M et al. The effect of time to sentinel lymph node biopsy on cutaneous melanoma survival. *Am J Surg* 2016; 212(5):935–40.
159. Tejera-Vaquerizo A, Nagore E, Puig S, Robert C, Saiag P, Martin-Cuevas P et al. Effect of time to sentinel-node biopsy on the prognosis of cutaneous melanoma. *Eur J Cancer* 2015; 51(13):1780–93.
160. Carpenter S, Pockaj B, Dueck A, Gray R, Kurtz D, Sekulic A et al. Factors influencing time between biopsy and definitive surgery for malignant melanoma: Do they impact clinical outcome? *Am J Surg* 2008; 196(6):834-42; discussion 842-3.

161. Nelson DW, Stern S, Elashoff DE, Elashoff R, Thompson JF, Mozzillo N et al. Impact of time between diagnosis and SLNB on outcomes in cutaneous melanoma. *J Am Coll Surg* 2017; 225(2):302–11.
162. Parrett BM, Accortt NA, Li R, Dosanjh AS, Thummala S, Kullar R et al. The effect of delay time between primary melanoma biopsy and sentinel lymph node dissection on sentinel node status, recurrence, and survival. *Melanoma Res* 2012; 22(5):386–91.
163. Ortín-Pérez J, Vidal-Sicart S, Doménech B, Rubí S, Lafuente S, Pons F. Ganglios centinela “en tránsito” en el melanoma maligno. ¿Cuál es su importancia? *Rev Esp Med Nucl* 2008; 27(6):424–9.
164. Mazumdar M, Glassman JR. Categorizing a prognostic variable: Review of methods, code for easy implementation and applications to decision-making about cancer treatments. *Stat Med* 2000; 19(1):113–32.
165. Valsecchi ME, Silbermins D, Rosa N de, Wong SL, Lyman GH. Lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy in patients with melanoma: a meta-analysis. *J Clin Oncol* 2011; 29(11):1479–87.
166. Balch CM, Thompson JF, Gershenwald JE, Soong S-J, Ding S, McMasters KM et al. Age as a predictor of sentinel node metastasis among patients with localized melanoma: An inverse correlation of melanoma mortality and incidence of sentinel node metastasis among young and old patients. *Ann Surg Oncol* 2014; 21(4):1075–81.
167. Sinnamon AJ, Neuwirth MG, Yalamanchi P, Gimotty P, Elder DE, Xu X et al. Association between patient age and lymph node positivity in thin melanoma. *JAMA Dermatol* 2017; 153(9):866–73.
168. Chao C, Martin RCG, Ross MI, Reintgen DS, Edwards MJ, Noyes RD et al. Correlation between prognostic factors and increasing age in melanoma. *Ann Surg Oncol* 2004; 11(3):259–64.
169. Page AJ, Li A, Hestley A, Murray D, Carlson GW, Delman KA. Increasing age is associated with worse prognostic factors and increased distant recurrences despite fewer sentinel lymph node positives in melanoma. *Int J Surg Oncol* 2012; 1:456–87.
170. Cavanaugh-Hussey MW, Mu EW, Kang S, Balch CM, Wang T. Older age is associated with a higher incidence of melanoma death but a lower incidence of sentinel lymph node metastasis in the SEER Databases (2003–2011). *Ann Surg Oncol* 2015; 22(7):2120–6.
171. Balch CM. Decreased survival rates of older-aged patients with melanoma: biological differences or undertreatment? *Ann Surg Oncol* 2015; 22(7):2101–3.
172. Rios L, Nagore E, Lopez JL, Redondo P, Marti RM, Fernandez-de-Misa R et al. Melanoma characteristics at diagnosis from the Spanish National Cutaneous Melanoma Registry: 15 years of experience. *Actas Dermosifiliogr* 2013; 104(9):789–99.
173. Koskivuo I, Vihinen P, Mäki M, Talve L, Vahlberg T, Suominen E. Improved survival in male melanoma patients in the era of sentinel node biopsy. *Scand J Surg* 2017; 106(1):80–6.
174. McMasters KM, Noyes RD, Reintgen DS, Goydos JS, Beitsch PD, Davidson BS et al. Lessons learned from the Sunbelt Melanoma Trial. *J Surg Oncol* 2004; 86(4):212–23.



175. Scoggins CR, Ross MI, Reintgen DS, Noyes RD, Goydos JS, Beitsch PD et al. Gender-related differences in outcome for melanoma patients. *Ann Surg* 2006; 243(5):693-8.
176. Callender GG, Egger ME, Burton AL, Scoggins CR, Ross MI, Stromberg AJ et al. Prognostic implications of anatomic location of primary cutaneous melanoma of 1 mm or thicker. *Am J Surg* 2011; 202(6):659-64.
177. Federico AC, Chagpar AB, Ross MI, Martin RCG, Noyes RD, Goydos JS et al. Effect of multiple-nodal basin drainage on cutaneous melanoma. *Arch Surg* 2008; 143(7):632-7.
178. Fadaki N, Li R, Parrett B, Sanders G, Thummala S, Martineau L et al. Is head and neck melanoma different from trunk and extremity melanomas with respect to sentinel lymph node status and clinical outcome? *Ann Surg Oncol* 2013; 20(9):3089-97.
179. Sociedad Española de Anatomía Patológica, International Academy of Pathology (SEAP-IAP), ed. Libro blanco de la anatomía patológica en España, 2015: Recomendaciones del Club de Dermatopatología de la SEAP. 4ª ed. Vitoria-Gasteiz; 2015.
180. Coit DG, Thompson JA, Albertini MR, Barker C, Carson WE, Contreras C et al. Cutaneous Melanoma, Version 2.2019, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2019; 17(4):367-402.
181. Tejera-Vaquerizo A, Martín-Cuevas P, Gallego E, Herrera-Acosta E, Traves V, Herrera-Ceballos E et al. Predictors of sentinel lymph node status in cutaneous melanoma: A classification and regression tree analysis. *Actas Dermosifiliogr* 2015; 106(3):208-18.
182. Chang JM, Kosiorek HE, Dueck AC, Leong SPL, Vetto JT, White RL et al. Stratifying SLN incidence in intermediate thickness melanoma patients. *Am J Surg* 2018; 215(4):699-706.
183. Paek SC, Griffith KA, Johnson TM, Sondak VK, Wong SL, Chang AE et al. The impact of factors beyond Breslow depth on predicting sentinel lymph node positivity in melanoma. *Cancer* 2007; 109(1):100-8.
184. McMasters KM, Wong SL, Edwards MJ, Ross MI, Chao C, Noyes RD et al. Factors that predict the presence of sentinel lymph node metastasis in patients with melanoma. *Surgery* 2001; 130(2):151-6.
185. White RL, Ayers GD, Stell VH, Ding S, Gershenwald JE, Salo JC et al. Factors predictive of the status of sentinel lymph nodes in melanoma patients from a large multicenter database. *Ann Surg Oncol* 2011; 18(13):3593-600.
186. Sondak VK, Taylor JMG, Sabel MS, Wang Y, Lowe L, Grover AC et al. Mitotic rate and younger age are predictors of sentinel lymph node positivity: Lessons learned from the generation of a probabilistic model. *Ann Surg Oncol* 2004; 11(3):247-58.
187. Mandalà M, Imberti GL, Piazzalunga D, Belfiglio M, Labianca R, Barberis M et al. Clinical and histopathological risk factors to predict sentinel lymph node positivity, disease-free and overall survival in clinical stages I-II AJCC skin melanoma: Outcome analysis from a single-institution prospectively collected database. *Eur J Cancer* 2009; 45(14):2537-45.
188. Tejera-Vaquerizo A, Pérez-Cabello G, Marínez-Leborans L, Gallego E, Oliver-Martínez V, Martín-Cuevas P et al. Is mitotic rate still useful in the management of patients with thin melanoma? *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2017; 31(12):2025-9.

189. Moy AP, Mochel MC, Muzikansky A, Duncan LM, Kraft S. Lymphatic invasion predicts sentinel lymph node metastasis and adverse outcome in primary cutaneous melanoma. *J Cutan Pathol* 2017; 44(9):734–9.
190. Bartlett EK, Peters MG, Blair A, Etherington MS, Elder DE, Xu XG et al. Identification of patients with intermediate thickness melanoma at low risk for sentinel lymph node positivity. *Ann Surg Oncol* 2016; 23(1):250–6.
191. Leong SPL, Morita ET, Südmeyer M, Chang J, Shen D, Achtem TA et al. Heterogeneous patterns of lymphatic drainage to sentinel lymph nodes by primary melanoma from different anatomic sites. *Clin Nucl Med* 2005; 30(3):150–8.
192. Jimenez RE, Panageas K, Busam KJ, Brady MS. Prognostic implications of multiple lymphatic basin drainage in patients with truncal melanoma. *J Clin Oncol* 2005; 23(3):518–24.
193. Piñero A, Torre C de, Martínez-Escribano J, Campillo J, Canteras M, Nicolás F. Multiple lymphatic basin drainage from cutaneous melanoma as a prognostic factor. *World J Surg* 2012; 36(3):579–85.
194. Navalkisoor S, Bailey PS, Quigley AM, Hall M, Buscombe JR. Sentinel node studies in truncal melanoma: does an increased number of draining basins correlate with an increased risk of lymph metastasis? *Cancer Imaging* 2012; 12:279–82.
195. Dale PS, Foshag LJ, Wanek LA, Morton DL. Metastasis of primary melanoma to two separate lymph node basins: Prognostic significance. *Ann Surg Oncol* 1997; 4(1):13–8.
196. Porter GA, Ross MI, Berman RS, Lee JE, Mansfield PF, Gershenwald JE. Significance of multiple nodal basin drainage in truncal melanoma patients undergoing sentinel lymph node biopsy. *Ann Surg Oncol* 2000; 7(4):256–61.
197. Zager JS, Puleo CA, Sondak VK. What is the significance of the in transit or interval sentinel node in melanoma? *Ann Surg Oncol* 2011; 18(12):3232–4.
198. Verwer N, Scolyer RA, Uren RF, Winstanley J, Brown PT, Wilt JHW de et al. Treatment and prognostic significance of positive interval sentinel nodes in patients with primary cutaneous melanoma. *Ann Surg Oncol* 2011; 18(12):3292–9.
199. Stewart LE, Tyler DS, Vollmer RT. The importance of total number of sentinel lymph nodes in patients with stage N0 cutaneous melanoma. *Am J Clin Pathol* 2005; 124(1):77–82.
200. Gonzalez A. Sentinel lymph node biopsy: Past and present implications for the management of cutaneous melanoma with nodal metastasis. *Am J Clin Dermatol* 2018; 19(Suppl 1):24–30.
201. Rossi CR, Mozzillo N, Maurichi A, Pasquali S, Quaglino P, Borgognoni L et al. The number of excised lymph nodes is associated with survival of melanoma patients with lymph node metastasis. *Ann Oncol* 2014; 25(1):240–6.
202. Oude Ophuis CMC, van Akkooi ACJ, Rutkowski P, Powell WEM, Robert C, Testori A et al. Timing of completion lymphadenectomy after positive sentinel node biopsy in patients with melanoma. *Br J Surg* 2017; 104(6):726–33.
203. Leiter U, Stadler R, Mauch C, Hohenberger W, Brockmeyer N, Berking C et al. Complete lymph node dissection versus no dissection in patients with sentinel lymph node biopsy positive

melanoma (DeCOG-SLT): A multicentre, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2016; 17(6):757–67.

204. Leung AM, Morton DL, Ozao-Choy J, Hari DM, Shin-Sim M, Difronzo AL et al. Staging of regional lymph nodes in melanoma: A case for including nonsentinel lymph node positivity in the American Joint Committee on Cancer staging system. *JAMA Surg* 2013; 148(9):879–84.

205. Chao C, Wong SL, Ross MI, Reintgen DS, Noyes RD, Cerrito PB et al. Patterns of early recurrence after sentinel lymph node biopsy for melanoma. *Am J Surg* 2002; 184(6):520–4.

206. Manca G, Rubello D, Romanini A, Mariani G. False-negative sentinel lymph node biopsy in melanoma patients. *Nucl Med Commun* 2014; 35(10):989–94.

207. Sondak VK, Zager JS. Who is to blame for false-negative sentinel node biopsies in melanoma? *Ann Surg Oncol* 2010; 17(3):670–3.

208. Jones EL, Jones TS, Pearlman NW, Gao D, Stovall R, Gajdos C et al. Long-term follow-up and survival of patients following a recurrence of melanoma after a negative sentinel lymph node biopsy result. *JAMA Surg* 2013; 148(5):456–61.

209. Sinnamon AJ, Neuwirth MG, Bartlett EK, Zaheer S, Etherington MS, Xu X et al. Predictors of false negative sentinel lymph node biopsy in trunk and extremity melanoma. *J Surg Oncol* 2017; 116(7):848–55.

210. Calomarde-Rees L, García-Calatayud R, Requena Caballero C, Manrique-Silva E, Traves V, García-Casado Z et al. Risk factors for lymphatic and hematogenous dissemination in patients with stages I to II cutaneous melanoma. *JAMA Dermatol* 2019; 155(6):679–87.

211. Lyth J, Falk M, Maroti M, Eriksson H, Ingvar C. Prognostic risk factors of first recurrence in patients with primary stages I-II cutaneous malignant melanoma - from the population-based Swedish melanoma register. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2017; 31(9):1468–74.

212. Satzger I, Meier A, Hoy L, Völker B, Kapp A, Hauschild A et al. Sentinel node dissection delays recurrence and prolongs melanoma-related survival: An analysis of 673 patients from a single center with long-term follow-up. *Ann Surg Oncol* 2011; 18(2):514–20.

213. Freeman SR, Gibbs BB, Brodland DG, Zitelli JA. Prognostic value of sentinel lymph node biopsy compared with that of Breslow thickness: Implications for informed consent in patients with invasive melanoma. *Dermatol Surg* 2013; 39(12):1800–12.

214. van Akkooi ACJ, Wilt JHW de, Verhoef C, Graveland WJ, van Geel AN, Kliffen M et al. High positive sentinel node identification rate by EORTC melanoma group protocol. Prognostic indicators of metastatic patterns after sentinel node biopsy in melanoma. *Eur J Cancer* 2006; 42(3):372–80.

215. Crawford AB, Nessim C, Weaver J, van Walraven C. Wait times for melanoma surgery: Is there an association with overall survival? *Ann Surg Oncol* 2018; 25(1):265–70.

216. Gambichler T, Bünnemann H, Scheel CH, Bechara FG, Stücker M, Stockfleth E et al. Does very early timing of lymph node surgery after resection of the primary tumour improve the clinical outcome of patients with melanoma? *Clin Exp Dermatol* 2020. Available from: URL: <https://doi.org/10.1111/ced.14291>.

217. Tejera-Vaquerizo A, Descalzo-Gallego MA, Traves V, Requena C, Bolumar I, Pla A et al. The intriguing effect of delay time to sentinel lymph node biopsy on survival: A propensity score matching study on a cohort of melanoma patients. *Eur J Dermatol* 2017; 27(5):487–95.
218. Jaukovic L, Rajović M, Kandolf Sekulovic L, Radulovic M, Stepic N, Mijuskovic Z et al. Time to procedure, nuclear imaging and clinicopathological characteristics as predictive factors for sentinel lymph node metastasis in cutaneous melanoma: A single-center analysis. *Ann Plast Surg* 2018; 81(1):80–6.
219. Oude Ophuis CMC, Verhoef C, Rutkowski P, Powell BWEM, van der Hage JA, van Leeuwen PAM et al. The interval between primary melanoma excision and sentinel node biopsy is not associated with survival in sentinel node positive patients - An EORTC Melanoma Group study. *Eur J Surg Oncol* 2016; 42(12):1906–13.
220. Richtig G, Richtig E, Neiss AN, Quehenberger F, Gmainer DG, Kamolz LP et al. Does the time interval between sentinel lymph node biopsy and completion lymph node dissection affect outcome in malignant melanoma? A retrospective cohort study. *Int J Surg* 2020; 75:160–4.
221. Robert C, Thomas L, Bondarenko I, O'Day S, Weber J, Garbe C et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2011; 364(26):2517–26.
222. Hoon DS, Bowker RJ, Cochran AJ. Suppressor cell activity in melanoma-draining lymph nodes. *Cancer Res* 1987; 47(6):1529–33.
223. Ryan M, Crow J, Kahmke R, Fisher SR, Su Z, Lee WT. FoxP3 and indoleamine 2,3-dioxygenase immunoreactivity in sentinel nodes from melanoma patients. *Am J Otolaryngol* 2014; 35(6):689–94.
224. Botella-Estrada R, Dasí F, Ramos D, Nagore E, Herrero MJ, Giménez J et al. Cytokine expression and dendritic cell density in melanoma sentinel nodes. *Melanoma Research* 2005; 15(2):99–106.
225. Leong SPL, Peng M, Zhou Y-M, Vaquerano JE, Chang JWC. Cytokine profiles of sentinel lymph nodes draining the primary melanoma. *Ann Surg Oncol* 2002; 9(1):82–7.
226. Lee JH, Torisu-Itakara H, Cochran AJ, Kadison A, Huynh Y, Morton DL et al. Quantitative analysis of melanoma-induced cytokine-mediated immunosuppression in melanoma sentinel nodes. *Clin Cancer Res* 2005; 11(1):107–12.
227. Soudja SM, Henri S, Mello M, Chasson L, Mas A, Wehbe M et al. Disrupted lymph node and splenic stroma in mice with induced inflammatory melanomas is associated with impaired recruitment of T and dendritic cells. *PLoS one* 2011; 6(7):e22639.



