

TESIS DOCTORAL

*Inmunoterapia con Interferón alfa como tratamiento
adyuvante de la cirugía en pacientes con melanoma maligno
cutáneo*

José Manuel Paz Carreira

Universidad de La Coruña, 1998

LISTA DE ABREVIATURAS	1
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. Epidemiología del Melanoma Maligno	3
1.2. Etiología.....	5
1.2.1. Factores de riesgo	5
1.3. Cribaje.....	7
1.4. Mecanismos moleculares implicados en la progresión de melanoma	7
1.4.1. Primera fase: inestabilidad genética	8
1.4.2. Segunda fase: proliferación descontrolada	8
1.4.3. Tercera fase: desarrollo de potencial invasivo.....	9
1.4.4. Cuarta fase: desarrollo de potencial metastásico	10
1.5. Inmunidad y melanoma	11
1.5.1. Antígenos asociados al melanoma	13
1.5.2. Modulación de la respuesta inmunológica. Interacciones entre el sistema inmunológico y la célula tumoral	16
1.6. Características clínicas.....	18
1.6.1. Melanoma de Extensión Superficial	21
1.6.2. Melanoma Nodular	21
1.6.3. Melanoma Léntigo Maligno	22
1.6.4. Melanoma Lentiginoso Acral	22
1.6.5. Melanoma extracutáneo	22
1.7. Diagnóstico de extensión. Estadiaje.	23
1.7.1. Niveles de invasión de Clark	23

1.7.2. Grosor tumoral de Breslow	23
1.7.3. Estadíos de la AJCC.....	24
1.7.4. Estadíos de la UICC.....	25
1.8. Factores Pronósticos	25
1.8.1. Melanoma Maligno Localizado: AJCC estadíos I-II.....	26
1.8.2. AJCC estadío III: melanoma metastásico en adenopatías locorregionales..	27
1.9. Tratamiento.....	27
1.9.1. Enfermedad Primaria	28
1.9.1.1. Tratamiento Quirúrgico.....	28
1.9.1.2. Radioterapia	29
1.9.2. Recidiva Local	29
1.9.3. Melanoma metastásico regional.....	29
1.9.4. Melanoma metastásico diseminado (Estadío IV)	30
1.9.4.1. Cirugía.....	30
1.9.4.2. Terapia citostática	30
1.9.4.3. Poliquimioterapia	30
1.9.4.4. Quimioterapia en altas dosis con rescate con médula ósea/progenitores de sangre periférica	30
1.10. Inmunoterapia	31
1.10.1. Terapia sistémica con interferón.....	31
1.10.1.1. Interferón α	31
1.10.1.2. Interferón β	36
1.10.1.3. Interferón γ	36

1.10.1.4. Asociación de varios interferones	38
1.10.2. IFN en combinación con otros agentes biológicos y citostáticos	38
1.10.2.1. IFN con otros agentes biológicos.....	38
1.10.2.2. IFN combinado con agentes citostáticos.....	38
1.10.3. Vacunas de melanoma	40
2. OBJETIVOS	41
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	43
3.1. Criterios de inclusión.....	44
3.2. Motivos de exclusión.....	44
3.3. Tratamiento.....	45
3.4. Seguimiento de los pacientes.....	47
3.5. Variables estudiadas	47
3.6. Análisis estadístico	51
3.6.1. Descripción del método estadístico	51
3.6.1.1. Nivel de significación	51
3.6.1.2. Cálculo actuarial.....	51
3.6.1.3. Comparación de varias distribuciones de supervivencia	51
3.6.1.4. Determinación de los factores pronósticos	52
4. RESULTADOS	53
4.1. Características generales de la población	54
4.1.1. Edad	54
4.1.2. Sexo.....	55

4.1.3. Tipo histológico	56
4.1.4. Localización del primario	57
4.2. Estadiaje.....	58
4.2.1. Grosor de Breslow	58
4.2.2. Índice de Clark.....	59
4.2.3. Clasificación según la AJCC	60
4.2.4. Ulceración del primario	61
4.3. Tratamiento quirúrgico	62
4.3.1 Márgenes de resección.....	62
4.3.2. Cirugía ± Linfadenectomía	63
4.4. Tratamiento con IFN.....	64
4.4.1. Inicio del tratamiento con interferón	64
4.4.2. Toxicidad del tratamiento con IFN y grado de seguimiento del tratamiento	65
4.5. Probabilidad de Supervivencia.	73
4.5.1. Supervivencia Global.....	73
4.5.2. Supervivencia Libre de Enfermedad.....	75
4.6. Determinación de factores de riesgo.....	77
4.6.1. Análisis univariante	77
4.6.1.1. Factores pronósticos para la supervivencia.....	77
4.6.1.2. Factores pronósticos para la supervivencia libre de enfermedad.....	88
4.6.2. Análisis multivariante	97
4.6.2.1. Factores Pronósticos para la Supervivencia.....	97

4.6.2.2. Factores pronostico para la supervivencia libre de enfermedad	98
5. DISCUSIÓN	99
5.1. No se encontraron diferencias en cuanto a SG y SLE entre los 2 regímenes.	99
5.2. La supervivencia libre de enfermedad estimada a 8 años es del 100% en pacientes en estadio I.	102
5.3. No se encontraron diferencias en cuanto a toxicidad entre los 2 regímenes. ...	104
5.4. Identificación de factores de riesgo.	108
5.4.1. Ulceración del primario.	108
5.4.2. Nivel de invasión de Clark.....	108
5.4.3. Grosor de Breslow	109
5.4.4. Estadios según la AJCC.....	110
5.4.5. Edad superior a 50 años.	111
5.4.6. Sexo.....	111
5.4.7. Márgenes de resección.....	112
5.4.8. Duración del tratamiento en meses	112
5.5. Efecto independiente de los factores de riesgo sobre la supervivencia y la supervivencia libre de enfermedad. Análisis multivariante.....	116
5.5.1. Ulceración del primario	116
5.5.2. Índice de Breslow	117
5.5.3. Estadiaje según los criterios de la AJCC	118
5.5.4. Duración del tratamiento en meses	118
5.6. Las características de la población	120
6. RESUMEN Y CONCLUSIONES	122

7. BIBLIOGRAFÍA 124

LISTA DE ABREVIATURAS

ADN	<i>Acido Desoxirribonucleico</i>
AJCC	<i>American Joint Committee on Cancer</i>
APC	<i>Célula presentadora de antígenos</i>
ARN	<i>Acido Ribonucleico</i>
BCG	<i>Bacilo Colmette Guerin</i>
bFGF	<i>Factor básico de crecimiento fibroblástico</i>
CMH	<i>Complejo mayor de histocompatibilidad</i>
DTIC	<i>Dacarbazina</i>
ECOG	<i>Eastern Cooperative Oncology Group (Grupo Cooperativo de Oncología de Este)</i>
EEG	<i>ElectroEncefaloGramma</i>
EORTC	<i>European Organization for Research and Treatment of Cancer (Organización Europea para la Investigación y Tratamiento del Cáncer)</i>
HMB-45	<i>Melanoma Humano Negro- 45</i>
HMWMAA	<i>Antígeno de alto peso molecular asociado a melanoma</i>
IAM	<i>Infarto Agudo de Miocardio</i>
ICAM-I	<i>Molécula-I de adhesión intercelular</i>
IFN	<i>Interferón</i>
IL-2	<i>Interleucina 2</i>
IL-6	<i>Interleucina 6</i>
INT	<i>Intergrupo</i>
LCT	<i>Linfocito T citotóxico</i>
LPS	<i>Lipo-polisacáridos</i>
MAGE-1	<i>Melanoma Antigen Gene Encoding (gen codificante de antígeno de melanoma)</i>
MART-1	<i>Antígeno de melanoma reconocido por los linfocitos T</i>
MES	<i>Melanoma de Extensión Superficial</i>
MLA	<i>Melanoma Lentiginoso Acral</i>
MLM	<i>Melanoma Léntigo Maligno</i>

MM	<i>Melanoma maligno</i>
MMC	<i>Melanoma maligno cutáneo</i>
MN	<i>Melanoma Nodular</i>
NCCTG	<i>National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group (Grupo de Ensayos Clínicos del Instituto Nacional de Canadá)</i>
NK	<i>Asesina/o natural</i>
RT-PCR	<i>PCR de transcriptasa reversa</i>
SG	<i>Supervivencia global</i>
SLE	<i>Supervivencia libre de enfermedad</i>
SMU	<i>Sydney Melanoma Unit (Unidad de Melanoma de Sydney)</i>
TGF-B1	<i>Factor de crecimiento transformador B1</i>
TNF	<i>Factor de necrosis tumoral</i>
TNF- α	<i>Factor de transformación y crecimiento α</i>
UAB	<i>Universidad de Alabama Birmingham</i>
UV	<i>Ultravioleta</i>
UVA	<i>Ultravioleta A</i>
VCM	<i>Vacunas de melanoma</i>
VEGF	<i>Factor de crecimiento vascular endotelial</i>
WHO	<i>World Health Organization (Organización Mundial de la Salud)</i>

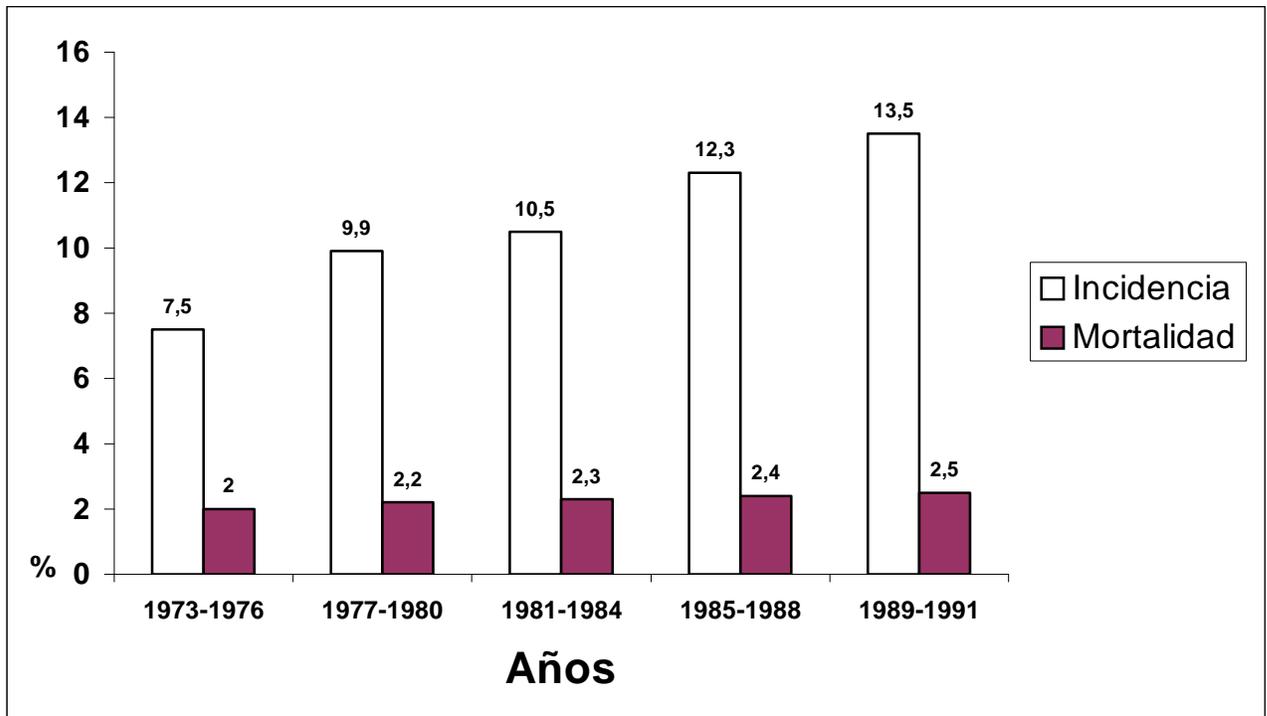
1. INTRODUCCIÓN

1.1. Epidemiología del Melanoma Maligno

La incidencia de melanoma ha aumentado de forma considerable en los últimos 30 años. En el año 1990 se dieron entre 7,38 y 8,34 casos de melanoma por 100.000 habitantes. La incidencia y mortalidad del melanoma en España se infiere de los registros de tumores existentes en algunas comunidades autónomas. En el estudio del *Centro Nacional de Epidemiología* se recogen datos de mortalidad en 52 provincias españolas entre 1978 y 1992. Del total de 4.809 atribuidas a Melanoma Maligno (MM), 2.575 eran hombres y 2.234 mujeres. La edad media era de 60-65 años con un riesgo de muerte del 0,08% en hombres y del 0,05% en mujeres (López-Abente et al, 1996).

En 1995 se diagnosticaron en Estados Unidos 32.100 nuevos casos de MM y se registraron 7.200 muertes producidas por esta enfermedad. En dicho país, donde se conoce en mayor profundidad la extensión de la enfermedad, se prevé que en el año 2000 habrá un melanoma por cada 75 habitantes que tengan una vida media de 80 años, lo que supone una incidencia de 16,6 casos por cada 100.000 habitantes.

Entre las causas de este incremento en la incidencia de MM se encuentran el aumento en la exposición a las radiaciones solares, el incremento en la tasa de radiación ultravioleta B que alcanza la superficie terrestre, un diagnóstico más precoz y, lo más probable, una combinación de todo lo anterior. Como puede observarse en la gráfica 1.1 el aumento en la incidencia no se ha seguido de un aumento proporcional en la tasa de mortalidad, que se incrementa a un ritmo más lento.



Gráfica 1.1. Morbimortalidad del MM en los últimos 20 años.

Entre las causas que han propiciado dicha contención en la mortalidad por MM se implican un diagnóstico más precoz por un mejor conocimiento de la enfermedad y el tratamiento concomitante en fases de extensión superficial donde la tasa de curación es mucho más elevada. Ello ha sido posible gracias a la aplicación de programas de cribaje, especialmente en la denominada población de alto riesgo.

1.2. Etiología

Aunque los factores etiológicos que conducen al desarrollo de melanoma son desconocidos, diversos estudios epidemiológicos han sugerido un factor etiológico, la luz ultravioleta, y dos factores de riesgo, el fenotipo cutáneo y ciertos defectos genéticos. El melanoma es 10 veces más frecuente en personas de raza blanca, lo que implicaría una correlación negativa entre el grado de pigmentación y el desarrollo de melanoma (Crombie, 1979).

1.2.1. Factores de riesgo

El tipo de persona con mayor riesgo de presentar melanoma es una mujer, en la edad media de la vida, que viva próxima al Ecuador, con un fenotipo de piel bajo, con exposiciones agudas e intermitentes a la luz solar desde la infancia con quemaduras, un elevado número de nevus, especialmente congénitos o atípicos y que tenga antecedentes de melanoma.

Edad

La edad avanzada, superior a 50 años, implica peor pronóstico. En personas jóvenes son más frecuentes los melanomas de extensión superficial mientras en ancianos abundan los melanomas nodulares y lentiginosos acrales. En general, los pacientes ancianos presentan lesiones más gruesas.

Sexo

La relación mujer : hombre es de 2:1. Sin embargo, las mujeres que padecen melanoma tienen mayor supervivencia que los hombres con la misma enfermedad.

Localización geográfica

El riesgo es mayor cuanto más próximo al ecuador terrestre, donde la exposición a la radiación solar es mayor. Se ha implicado la luz solar no sólo en la etiología sino también en la progresión del melanoma. La localización más frecuente es, las extremidades inferiores en la mujer y el tronco (la región interescapular) en el hombre.

Tipo de piel

El fenotipo considerado de alto riesgo es el de una persona de piel clara, pelirroja o rubia, con efélides, de ojos azules, que cuando toma el sol se broncea poco o nada y casi siempre se quema. De los seis fenotipos descritos son los tipos I y II, es decir, las personas que no se broncean y se exponen intermitentemente a una intensa radiación solar, los que presentan mayor riesgo de melanoma (Katsambas y Nicoladou, 1996). El melanoma más frecuente en estos individuos es el de extensión superficial.

Antecedentes familiares

Las formas familiares, aunque raras, están descritas y los miembros de dichas familias constituyen un grupo de riesgo. Entre un 4-10% de los pacientes tienen un familiar de primer grado con melanoma. El síndrome del nevus displásico familiar, heredado de forma autosómica dominante, presenta un elevado riesgo de melanoma.

Radiación solar

La radiación ultravioleta solar es un factor de riesgo para el desarrollo de melanoma. Se ha demostrado un incremento de melanoma y nevus atípicos en zonas fotoexpuestas. También se ha observado que personas que se exponen a lámparas UVA, y que reciben el doble de irradiación UVA que las expuestas a la luz solar en horas de máxima intensidad, desarrollan con mayor frecuencia melanoma léntigo maligno, subtipo que se observa con mayor frecuencia en zonas expuestas a la luz de forma crónica. Presentan mayor riesgo de desarrollar melanoma aquellas personas que antes de los 18 años han padecido tres o más quemaduras solares con ampollas, o que entre los 10-20 años han mantenido reiteradas exposiciones solares durante tres o más años

Nevus

Un número elevado de nevus pigmentocelulares, especialmente si presentan atipias, se correlaciona con un mayor riesgo de presentar melanoma.

1.3. Cribaje

Si en toda neoplasia son fundamentales las campañas de cribaje con objeto de llevar a cabo el diagnóstico en estadios iniciales de la enfermedad, en el caso del melanoma es especialmente relevante dado que se trata de una neoplasia que puede sospecharse con una simple inspección visual, acompañada del conocimiento de una serie de signos sencillos de memorizar. Así, se han llevado a cabo diversas campañas que combinaban la educación tanto de los profesionales de la salud, médicos generales y personal de enfermería, como del público en general. Las estrategias empleadas van desde la inspección visual, hasta el registro fotográfico de lunares en aquellos pacientes considerados de riesgo. La evidencia de la eficacia de estas campañas en el diagnóstico precoz de melanoma se han extraído de dos estudios, realizados en Escocia y en Australia que encontraron que la proporción de tumores finos (menores de 1.5 y 0.75 mm respectivamente) se había incrementado desde el inicio de los programas de educación sanitaria (Balch et al, 1983; MacKie y Hole, 1992).

La mortalidad en melanomas en estadio I-II se ha incrementado desde el 82% que se registraba antes de la década de los 60, hasta un 94% en la década de los 70-80, lo que apunta a que el incremento en el diagnóstico de melanoma fino tiene efecto sobre el aumento en la supervivencia (Balch et al, 1983). Sin embargo, los resultados de otros estudios no fueron tan alentadores y su programa de recuerdo llevado a cabo en 1989 para el cribaje de melanoma en estadios precoces no introdujo cambios significativos (Bulliard et al, 1992).

1.4. Mecanismos moleculares implicados en la progresión de melanoma

El melanoma maligno es un modelo ideal para estudiar el desarrollo y progresión del cáncer. En este complejo proceso juegan un papel fundamental una serie de eventos que tienen lugar en el nivel de la genética molecular, en concreto, la denominada inestabilidad genética y represión o pérdida funcional de genes supresores tumorales implicados en el control del ciclo celular. Se describen cuatro fases que van desde la predisposición para el desarrollo de crecimiento neoplásico “in situ” hasta su diseminación.

1.4.1. Primera fase: inestabilidad genética

El paso crítico en el desarrollo del melanoma parece ser la disrupción de la integridad genética que induce una inestabilidad genética sostenida la cual, al afectar a genes implicados en los procesos de replicación y reparación de ADN, mitosis, regulación del ciclo celular, conduce a una transformación maligna. Las anormalidades genéticas van desde la aneuploidía a reordenamientos y deleciones en pacientes con dotación diploide. Se han descrito diversas alteraciones que afectan a genes situados en los cromosomas 1, 6, 7, 9, 10, 11, y probablemente 22 e Y (Albino et al, 1997).

Un hallazgo reciente es la pérdida consistente del cromosoma Y en el 36-42% de los melanomas, sugiriendo que en dicho cromosoma está presente un gen supresor de tumores (Ozysik et al, 1994).

1.4.2. Segunda fase: proliferación descontrolada

Una etapa previa a la expansión de células con alteraciones genéticas es el desarrollo de una proliferación descontrolada. La transición desde el estado G0 normal del melanocito a la fase G1 y S de una forma descontrolada depende de la evolución de una subpoblación de células que han perdido el control de la transición de la fase G1/S debido, en parte, a defectos en las proteínas reguladoras del ciclo celular o a pérdida de genes reguladores de la senescencia celular. Todo ello puede conducir a un acortamiento de la fase G1 y una entrada inapropiada en la fase S tras una proliferación normal inducida por radiación ultravioleta (Faber, 1995).

La radiación ultravioleta inicia una serie de eventos complejos que resultan en número limitado de divisiones celulares que incrementan la densidad media de melanocitos epidérmicos y aceleran el desarrollo de bronceado protector. La radiación ultravioleta, además, daña el ADN mediante la producción de radicales libres, roturas de cadenas y producción de enlaces químicos entre dos pirimidinas adyacentes. Tras una exposición solar al melanocito se le presentan dos señales contrapuestas: por una parte inhibir la replicación del ADN y reparar el ADN dañado por la radiación UV; por otra, replicar el ADN e iniciar una

división celular transitoria. La coordinación entre estas dos señales puede ser crítica para prevenir la transformación maligna. En los melanocitos normales, una vez la radiación UV establece un daño sostenido sobre el ADN, se bloquea la replicación del ADN y la división celular y se activan los mecanismos de reparación del ADN. Una vez se han reparado los defectos el melanocito puede continuar dividiéndose. Si el daño es demasiado severo, el melanocito inicia el camino de la apoptosis o muerte celular (Rosen et al, 1987).

Más compleja resulta la situación en la cual el melanocito no repara todos los daños causados por la radiación UV, debido a que presenta una mutación que afecta a su eficiencia reparadora o a que se restablece prematuramente la síntesis de ADN en el segmento dañado, con lo que el melanocito progresa hacia la división celular en lugar de hacia la apoptosis. Lo que resulta es un melanocito que porta una lesión genética crítica pero biológicamente inerte que puede hacerse aparente con lesiones subsiguientes adquiridas con reexposiciones a radiación UV o divisiones celulares normales (McMillan, 1992).

1.4.3. Tercera fase: desarrollo de potencial invasivo

En la progresión de la enfermedad las células melanóticas, que inicialmente proliferaron únicamente en la epidermis, desarrollan capacidad invasiva penetrando la dermis subyacente. Se presupone que están implicados los siguientes fenómenos:

1. Disrupción de la arquitectura de los tejidos circundantes así como de sus interacciones, permitiendo la invasión física. Las células del melanoma superan la barrera impuesta por la matriz extracelular mediante la liberación directa, o a través de la estimulación de fibroblastos, de metaloproteasas (colagenasa tipo IV), serinproteasas (activadores del plasminógeno) y proteasas lisosómicas (catepsinas). Asimismo modifican su capacidad de adhesión al tejido adyacente promoviendo cambios conformacionales (colágeno tipo IV, laminina, etc.) en la matriz extracelular, y alterando la expresión y transducción de las integrinas (tanto la interleucina 2 (IL-2) como sus receptores están presentes en determinadas líneas celulares de melanoma), inhibiendo la expresión de molécula-1 de adhesión

intercelular (ICAM-1), glicoproteína que media la adhesión celular. La matriz extracelular, junto con determinados receptores de integrinas, constituye una señal mitogénica para melanomas tanto primarios como metastásicos (Edward, 1995).

2. Capacidad de las células del melanoma para contrarrestar las señales inhibitorias de crecimiento y motilidad provenientes de los tejidos adyacentes, lo que posibilita la invasión bioquímica. Se desconocen los mecanismos mediante los cuales el melanoma invasivo se hace resistente al efecto inhibitorio sobre su crecimiento de sustancias tales como interleukina-6 (IL-6), interleucina 1 α (IL-1 α), interleucina 1 β (IL-1 β), factor de necrosis tumoral α (TNF- α) y factor de transformación y crecimiento β (TGF- β) (Albino et al, 1997).
3. Producción de citocinas y factores de crecimiento autocrinos y paracrinos permitiendo crecimiento y desarrollo patológicos. Mediante la producción de factores de crecimiento y sus receptores, las células del melanoma incrementan su capacidad invasiva y proliferativa. La alteración en la producción y acción tanto de integrinas como de proteínas inhibitorias y factores de crecimiento tiene efectos sobre la transducción de señales a diversos compartimentos celulares mediante la vía de la fosforilación proteica. Estudios recientes ligan defectos en la familia de genes de la tirosina kinasa con la progresión del melanoma debido a una transducción aberrante de señales (Halaban, 1991; Easty et al, 1993).

1.4.4. Cuarta fase: desarrollo de potencial metastásico

Se precisan diversos **pasos críticos** para el desarrollo del potencial metastásico. Entre ellos se encuentran la expresión o disfunción de diversas **vías biológicas** implicadas en la habilidad del tejido tumoral para invadir otros tejidos, sobreviviendo y proliferando en el tejido invadido, migrando en ese tejido, inhibiendo las defensas inmunológicas, desarrollando nuevos canales vasculares, escapando al torrente vascular y reemergiendo y creciendo en un órgano distante.

Se desconocen la naturaleza de las alteraciones moleculares que permiten la adquisición de potencial metastásico por parte del melanoma.

El desarrollo de neovascularización es fundamental para el crecimiento de la masa tumoral así como su comunicación con el torrente vascular. Las células de melanoma son capaces de producir factores angiogénicos tales como el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), TGF- β 1, TNF- α y factor básico de crecimiento fibroblástico (bFGF). Se ha postulado que el acúmulo de células cebadas que se observa en las proximidades de algunos melanomas obedece a la quimiotaxis producida por las células de melanoma. Asimismo dichas células cebadas liberarían factores angiogénicos como el bFGF y la heparina al degranularse contribuyendo a la angiogénesis necesaria para la progresión del tumor (Albino et al, 1997).

1.5. Inmunidad y melanoma

La integridad funcional del sistema inmunológico constituye un mecanismo eficaz para controlar la proliferación y diseminación de neoplasias. En este sentido el melanoma maligno no es una excepción. Este control se fundamenta en el hecho de que las células tumorales expresen antígenos que sean reconocibles por las células del sistema inmune.

Para la presentación de antígenos se necesitan moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH). Los antígenos CMH están codificados en el cromosoma 6 por el locus mayor de histocompatibilidad, una región que codifica los antígenos de clase I (CMH A, B Y C) y los antígenos de clase II. Las células de melanoma expresan ambas clases.

Un aspecto fundamental del reconocimiento del antígeno por las células T cooperadoras y los linfocitos T citotóxicos es que cualquier linfocito reconoce un antígeno peptídico sólo cuando está unido a una forma alélica de una molécula del CMH. A este fenómeno se le llama restricción por el CMH. Las células T están restringidas por su CMH; reconocen y responden sólo a antígenos presentados por una APC (Célula Presentadora de Antígenos), si ésta expresa moléculas del CMH que la célula T reconozca como propias. Los

linfocitos T citotóxicos están restringidos por moléculas de clase I, mientras los linfocitos T4 cooperadores están restringidos por moléculas de clase II (Abbas et al, 1995a).

Los linfocitos B específicos para un antígeno proteico son muy eficaces presentando “in vitro” este antígeno a los linfocitos T cooperadores, y pueden ser APC “in vivo”, sobre todo cuando la concentración de antígeno disponible es baja. (Abbas et al, 1995b).

Los linfocitos T citotóxicos son CD8+ e inducen la apoptosis de la célula tumoral mediante un mecanismo mediado por perforinas. La gran mayoría de LCT requieren activación “in vitro” durante una semana para generar una respuesta efectiva frente a antígenos tumorales. Los linfocitos T cD4+ incrementan la actividad del los LCT así como la función de otras células implicadas en la destrucción tumoral, como los leucocitos polimorfonucleares y las células asesinas naturales (NK). Sin embargo, requieren “una masa crítica” de células T y de células efectoras activadas, para destruir las células cancerosas. Los anticuerpos producidos por los linfocitos B, mediante la opsonización, intervienen en la fagocitosis del sistema reticuloendotelial, así como en la inflamación inducida por complemento y en la lisis celular mediada por anticuerpos. Son el principal mecanismo de eliminación de los patógenos circulantes, y por tanto son ideales para la erradicación de células tumorales circulantes y de micrometástasis. Por consiguiente, para que una vacuna sea eficaz ha de ser capaz de inducir la producción de anticuerpos frente a los antígenos tumorales, a fin de desarrollar una respuesta inmune efectiva que elimine las células tumorales tanto de su localización primitiva como de los sistemas sanguíneo y linfático.

La transformación maligna de los melanocitos puede estar asociada a cambios en la expresión de antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad CMH de clase I. (Ferrone y Marincola, 1995).

Durante la progresión tumoral la expresión de moléculas de clase I se reduce hasta perderse, mientras se observa una intensa expresión “de novo” de moléculas de clase II (Ruiter et al, 1984).

La importancia de este fenómeno reside en que muchos de los antígenos con capacidad inmunógena descritos en el melanoma precisan, para suscitar la respuesta del sistema inmune, la co-presentación con antígenos del sistema CMH de clase I, fundamentalmente CMH-A1 y CMH-A2 con lo que la pérdida de estos últimos permite a determinadas subpoblaciones neoplásicas eludir la respuesta inmune al dificultar el reconocimiento por linfocitos T, aunque se facilite la lisis por células NK (Pandolfi et al, 1991; Maio et al, 1991).

1.5.1. Antígenos asociados al melanoma

Se han publicado diferentes trabajos que demuestran la existencia de diversos antígenos que se asocian de una forma u otra a la progresión del melanoma y pueden ser reconocidos por los linfocitos T y B (Van den Eynde y Brichard, 1995).

El primer antígeno que se identificó en un tumor está codificado por el gen MAGE-1 y se encuentra en un 37% de los melanomas y otros tumores, pero no en tejido normal (Van der Bruggen et al, 1991). Este gen codifica una serie de proteínas que, tras ser presentadas por moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad CMH-A1, son capaces de producir una respuesta de los linfocitos T citotóxicos (Van den Eynde y Brichard, 1995). El MAGE-1 pertenece a una familia de 12 genes, de los cuales el MAGE-3 (que se ha identificado en el 80% de los melanomas, además de en testículo) también codifica una proteína capaz de inducir respuesta de linfocitos T citotóxicos. Se cree que son antígenos del desarrollo reexpresados durante el proceso de oncogénesis. Constituye una buena diana para inmunoterapia en aquellos pacientes portadores del CMH-A1 (Gaugler et al, 1994).

Entre los antígenos de melanoma que muestran restricción, es decir, que han de ser presentados conjuntamente por antígenos CMH de clase I, además de las proteínas sintetizadas por los genes MAGE tenemos:

- La tirosinasa es un enzima clave en la síntesis de melanina y específica de la diferenciación melanocítica. Se ha empleado en la detección de micrometástasis y en el diagnóstico de enfermedad mínima residual mediante la utilización de RT-PCR.

- MART-1 o Antígeno de Melanoma Reconocido por linfocitos T: se encuentra tanto en melanocitos normales como en células de melanoma (Brossart et al, 1993; Brossart et al, 1994). Es reconocido por los linfocitos T previa presentación por macromoléculas CMH-A2 (Kawakami et al, 1994).
- El Pmel17 y gp100 son dos proteínas, casi idénticas, específicas de melanoma y que producen 4 péptidos que, cuando se presentan con antígenos CMH-A2, son reconocidos por LTC. (Kawakami et al, 1995; Robbins et al, 1997)
- El antígeno p97 es una sialoglicoproteína, relacionada estructuralmente con la transferrina, que se expresa en los melanocitos neoplásicos (Chi et al, 1995). Es un excelente marcador de enfermedad mínima residual (Hoon et al, 1995). Un campo prometedor lo constituye el empleo de anticuerpos contra esta proteína con fines terapéuticos en modelos animales.

Se han descrito modelos murinos en los que la radiación ultravioleta producía un antígeno con restricción para antígenos CMH de clase II, esto es, que era reconocido directamente por linfocitos T4 (Monach et al, 1995).

Entre otros antígenos identificados en células de melanoma se encuentran:

- Antígeno de alto peso molecular: (HMWMAA), glicoproteína implicada en el desarrollo de metástasis. Sus niveles séricos se relacionan con la capacidad de producir metástasis hepáticas y la intensidad de su expresión confiere un peor pronóstico (Kageshita et al, 1995).
- Proteína s-100: proteína citoplasmática acídica que es altamente característica de tumores derivados de la cresta neural, incluido el melanoma, aunque puede encontrarse también en tejidos sanos (Gaynor et al, 1980).
- Melanoma Humano Negro (HMB-45): se trata de un anticuerpo organela-específico (parece que reacciona con una proteína de la matriz de los melanosomas) muy sensible y específico para la identificación de melanomas. La gran mayoría de los melanomas presentan inmunorreactividad para este anticuerpo,

así como melanocitos reactivos o proliferantes, pero no en melanocitos adultos en reposo (Miller et al, 1980).

- MUC 18: miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas que, si bien es característico de músculo liso y endotelio, puede encontrarse en melanomas donde se asocia a estadios localmente avanzados y metástasis.
- Los gangliósidos son derivados del ácido neuramínico que contienen glicoesfingolípidos. Su epitopo inmunogénico es la porción de carbohidrato. Se sobreexpresan en tejidos de origen neuroectodérmico, especialmente en tumores como melanoma y otros (sarcomas, astrocitomas y neuroblastomas). Desde el inicio de los ensayos con vacunas hasta la actualidad se han incrementado sustancialmente la inmunogenicidad de los gangliósidos, a la par que se han desarrollado las vacunas.
- Los gangliósidos GM2 y GD2 se han mostrado como eficazmente inmunogénicos, induciendo anticuerpos IgM citotóxicos en la mayoría de los pacientes, al emplearse conjuntamente con el gangliósido KLH y el adyuvante inmunológico QS-21. La inmunogenicidad de otros gangliósidos expresados en melanoma como el 9-0-acetil GD3 y el GD3 lactona está siendo objeto de estudio. Estos anticuerpos inducen citotoxicidad mediada por complemento en aquellas células de melanoma expresando GM2, bien sea de forma natural o mediante la utilización de adyuvantes como el QS-21 o el BCG, en la gran mayoría de los pacientes lo que se ha asociado con un incremento significativo tanto en la supervivencia libre de enfermedad como en la supervivencia global (Ritter et al, 1990).

Otros antígenos inmunogénicos y por tanto susceptibles de ser utilizados como diana en terapia génica son el Sialyl Lewis^x y el Sialyl Lewis^a, ligandos de la molécula de adhesión celular denominada selectina E endotelial. Están implicados en la extravasación de neutrófilos y células de carcinoma, pero también se han encontrado en melanomas. Son antígenos de diferenciación de melanoma e inmunogénicos en pacientes tratados con vacunas de melanoma (VCM) (Ravindranath et al, 1997).

1.5.2. Modulación de la respuesta inmunológica. Interacciones entre el sistema inmunológico y la célula tumoral

Como hemos visto, las células de melanoma expresan diversos antígenos de superficie, algunos de ellos asociados a su transformación maligna, que pueden ser reconocidos por los linfocitos T y B. No se ha llegado a explicar convenientemente por qué, entonces, no se genera una adecuada respuesta inmune que impida el desarrollo de la enfermedad. Es sabido que la activación de la respuesta de la inmunidad celular precisa, además de la interacción del antígeno, en este caso tumoral, con el receptor clonotípico en la superficie del linfocito T, de la presentación de antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I (CMH) en lo que se denomina restricción CMH. Pero como se ha visto, no es suficiente con la rama celular de la inmunidad para controlar el desarrollo del tumor; se precisa concomitantemente la producción de anticuerpos específicos que sean capaces de reconocer y marcar las células tumorales cuando están presentes en escasa cuantía. Este complejo sistema de interacciones se complica con la presencia de citocinas, adhesinas y moléculas de adherencia, cuya producción ha de estar perfectamente orquestada para impedir la tolerancia del sistema inmunológico y evitar la progresión del tumor. Como es sabido, uno de los mecanismos de diseminación tumoral es, precisamente, la producción de sustancias que de forma autocrina y paracrina inhiben la acción del sistema inmunológico.

Que el sistema inmunológico es capaz de reconocer y responder (si bien no de forma efectiva) viene demostrado, además de por el desarrollo de modelos con linfocitos T citotóxicos específicos y de anticuerpos anti-antígenos de melanoma, por el hecho de que en las proximidades del melanoma que en ese momento expresa antígenos de progresión tumoral, se demuestra infiltración por linfocitos T, B y células NK.

Se ha demostrado la existencia de linfocitos T y B específicos de tumor, con secreción aumentada de citocinas implicadas en la regulación de la respuesta linfocitaria. Los linfocitos B producen anticuerpos específicos frente a antígenos tumorales. Los linfocitos T reaccionan contra diversos antígenos de diferenciación de melanoma (como demuestran hallazgos previos

de anticuerpos contra la proteína melanocítica gp75^{TRP1} en pacientes con MM), y también se han demostrado células NK con capacidad lítica frente a células de melanoma.

Con todo este armamento dispuesto ¿cómo es posible que el tumor crezca no sólo en su localización original sino que sea capaz de diseminarse y desarrollarse en órganos distantes?

La evidencia de que algunos pacientes con melanoma presentan deficiencias funcionales en algunas subpoblaciones linfocitarias con deficiente producción de interleucina 2, interferón α y γ , implicadas en la activación de linfocitos T citotóxicos y células NK, apunta hacia inmunodeficiencia relativa asociada al melanoma que no podría impedir el desarrollo y progresión de la enfermedad. Apoyan esta hipótesis hallazgos como el incremento en la producción de sustancias supresoras y defectos en la capacidad citolítica de LCT y células NK.

Además de la modulación de moléculas CMH, se han implicado otros dos mecanismos en el escape inmune (Runger et al, 1994):

1. Inhibición de la interacción de las células T citotóxicas con las células del melanoma mediante la inducción de moléculas solubles de adhesión (ICAM-1).
2. Inducción y mantenimiento de anergia clonal en las células T específicas para el tumor.

Esta hipótesis se ve reforzada con los resultados obtenidos con fármacos que potencian la capacidad de respuesta del sistema inmune del huésped frente al melanoma. El interferón alfa incrementa la capacidad de reconocer células tumorales de un anticuerpo monoclonal antimelanoma (Murray et al, 1990). El interferón γ o el factor de necrosis tumoral (TNF) producidos por los linfocitos T inducen la expresión de CMH de clase II, lo que implicaría una relación entre el grado de infiltración linfocitaria y la expresión de CMH-II por las células del melanoma.

1.6. Características clínicas

Aunque puede presentar diversas manifestaciones, la característica definitoria del melanoma es su carácter cambiante. Síntomas como prurito o dolor, sin historia previa de trauma, en una lesión pigmentada nos hacen sospechar la presencia de un melanoma maligno cutáneo. Los signos característicos del melanoma se pueden relacionar, como regla nemotécnica, con las cuatro primeras letras del alfabeto (A, B, C, D):

Asimetría.

Bordes irregulares.

Color variable.

Diámetro superior a 6 mm.

Algunos autores añaden a las anteriores las tres letras siguientes:

Elevaciones en su superficie.

Familiar, por la asociación con otros nevus en su periferia.

Grosor irregular en la superficie del nevus.

La presencia de varios de estos signos harán sospechar la naturaleza neoplásica de un nevus, posibilitando la identificación de los marcadores y precursores de melanoma. En general se acepta que si una lesión precursora o marcadora de melanoma aumenta de tamaño, se oscurece, cambia de forma, se ulcera, pica o sangra en un período de 3-8 meses debe sospecharse malignización. Si los cambios se producen en pocos días la etiología más probable es la inflamatoria (ej.: foliculitis subnévica secundaria a maniobras depilatorias) y si lo hace en el curso de varios años presumiblemente no será neoplásica.

La gran mayoría de los melanomas cutáneos siguen dos patrones o fases de desarrollo:

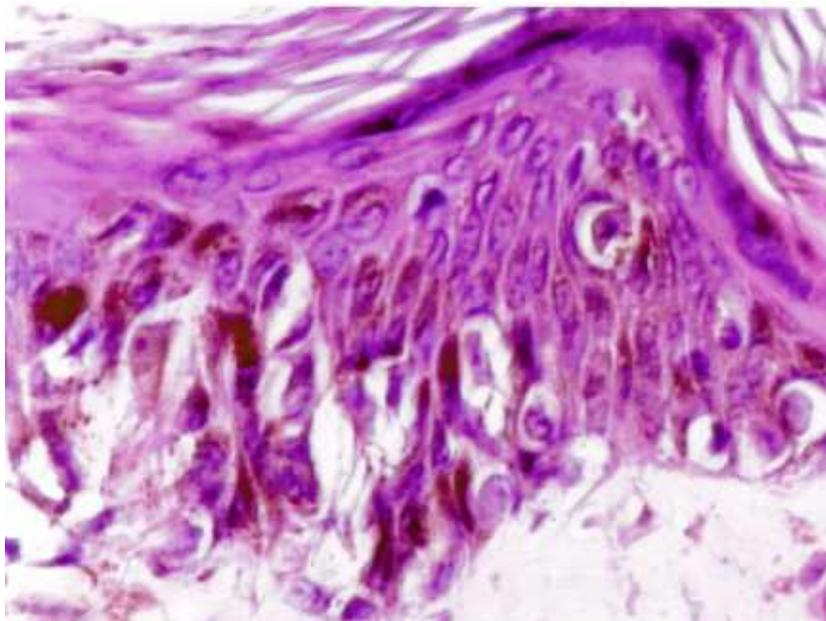
1) Un patrón bifásico, compuesto de:

- Una fase de crecimiento horizontal o radial durante la cual se produce una acumulación lenta de células atípicas en la epidermis que progresivamente

adquieren la capacidad de atravesar la membrana basal e invadir la dermis papilar. Clínicamente son lesiones maculares que clásicamente se han tratado con extirpación simple. Histológicamente se observa una proliferación de melanocitos atípicos en la unión dermoepidérmica, con extensión hacia el estrato córneo y ocasionalmente se observan nidos en la dermis papilar (foto 1).

- Una fase de crecimiento vertical durante la cual las células adquieren la capacidad de proliferar fuera de su microambiente natural, la epidermis, pudiendo crecer en la dermis u otras localizaciones. Clínicamente pueden adquirir un aspecto máculopapular. Desde el punto de vista histológico, se evidencian nidos de melanocitos atípicos en epidermis y dermis.

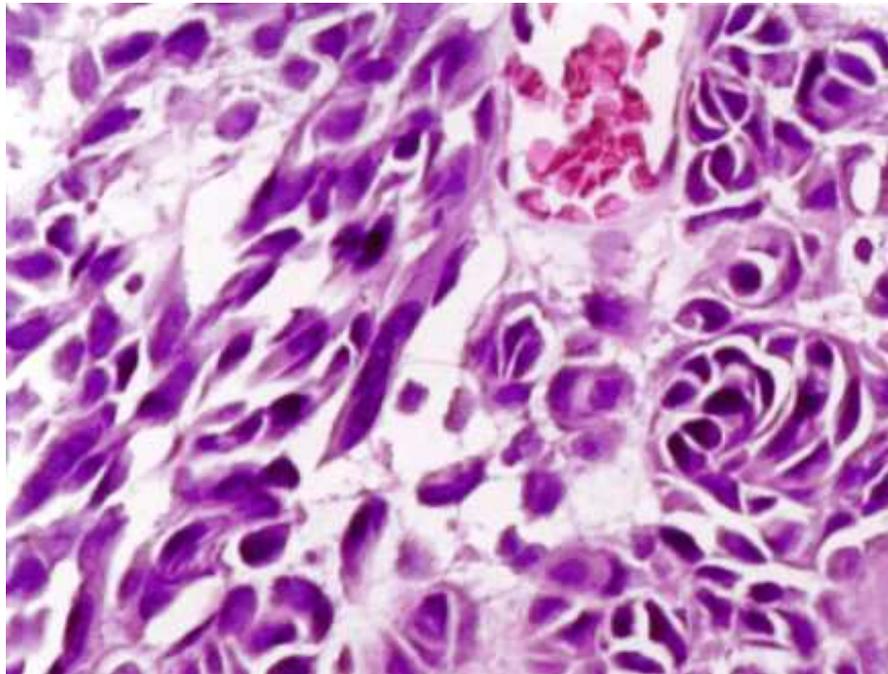
Foto1. Melanoma de extensión superficial (pagetoide) Clark I. HE. 400X.



En esta fotografía se observan melanocitos tumorales en la basal del epitelio epidérmico e infiltrando sus estratos medios sin que se evidencie infiltración de la dermis.

2) Un patrón monofásico donde puede no evidenciarse la fase de crecimiento radial (foto 2).

Foto 2. Melanoma de extensión superficial Clark IV. HE. 400X.



En esta fotografía se observa una infiltración masiva de la dermis por melanocitos tumorales que presentan muy escasa cantidad de melanina. Entre las células tumorales se observan vasos capilares.

Atendiendo a su patrón de crecimiento los melanomas cutáneos malignos se dividen en cuatro categorías clínicas distintas (Clark et al, 1984):

- Melanoma de Extensión Superficial.
- Melanoma Nodular.
- Melanoma Léntigo Maligno.
- Melanoma Lentiginoso Acral.

1.6.1. Melanoma de Extensión Superficial

Representa la forma más frecuente, de un 40-70% de todos los melanomas. Se origina en un 50% de los casos sobre un nevus preexistente, que presenta una historia de 1-5 años de evolución con cambios en su aspecto que se hacen más evidentes en los meses previos al diagnóstico. Se presenta con mayor frecuencia en la 4ª-5ª década de la vida, y sus localizaciones más habituales son las extremidades inferiores en las mujeres y la región interescapular en hombres. La lesión presenta bordes irregulares, con escotaduras, y una pigmentación variable con zonas de color marrón, negro, azul y rojo. En su progresión, la lesión desarrolla escotaduras en sus bordes debido a extensiones y regresiones del tumor.

1.6.2. Melanoma Nodular

Es el segundo tipo más frecuente, 15-30% de los melanomas, y el más agresivo, con mayor tendencia a metastatizar. No presenta fase de crecimiento radial evidente, apareciendo sobre piel normal, excepto una minoría de los casos que deriva de un nevus nevocelular. Se localiza más frecuentemente en la cabeza, el cuello y la espalda de varones de 50-60 años. La lesión típica, de coloración negro azulado, hemisférica y uniforme, a menudo se confunde con un hemangioma o flictena hemorrágica. Menos del 5% de los casos presentan lesiones amelanóticas.

1.6.3. Melanoma Léntigo Maligno

Constituyen entre el 4-10 % de todos los melanomas. La lesión precursora, o léntigo maligno, puede estar presente durante 5-15 años antes de desarrollar invasión profunda. Se localiza en las zonas fotoexpuestas, más frecuentemente, cara de personas mayores de 70 años. Es más frecuente en mujeres y suele tener gran extensión, con un tamaño medio en torno a los 3 cm. Típicamente constituyen lesiones hiperpigmentadas, con distintas tonalidades de marrón, y conforme crecen los bordes se hacen geográficos, con áreas más oscuras alternando con zonas de regresión.

1.6.4. Melanoma Lentiginoso Acral

Si bien no son frecuentes entre los pacientes de raza caucásica (2-8%), representan el 35-60% de los melanomas en los pacientes de raza negra, portorriqueños y orientales. Se localizan más frecuentemente en las plantas de los pies, aunque también pueden verse en las palmas de las manos, muñecas y tobillos. La lesión, que tiene un diámetro medio de 3 cm, se inicia como una mancha de color marrón o negruzco irregularmente distribuido, de bordes geográficos. Con el tiempo puede ulcerarse y adquirir un aspecto polipoide. Afecta a pacientes en la década de los 60 y presenta un curso mucho más agresivo que el melanoma léntigo maligno, con mayor tendencia a metastatizar. La localización subungueal, que en un 75% de los casos afecta al dedo gordo del pie, puede confundirse con hematomas subungueales, onicomycosis o traumatismos.

1.6.5. Melanoma extracutáneo

Melanoma de mucosas.

La mayoría se desarrollan en la cavidad nasal (55% de los de mucosas), aunque también pueden encontrarse en vulva, vagina, canal anal, uretra femenina y esófago. Se localizan en la unión mucocutánea y hasta un 30% son amelanóticos. Tienen peor pronóstico que los cutáneos (Ross et al, 1992).

Melanoma ocular

Es el tumor primario maligno intraocular más frecuente en la raza caucásiana. La mayoría se localizan en la región uveal y tienen una incidencia elevada de metástasis.

1.7. Diagnóstico de extensión. Estadiaje.

1.7.1. Niveles de invasión de Clark

El sistema de estadiaje de Clark divide al tumor en cinco estadios o niveles de invasión según la penetración microscópica del tumor en la dermis y tejido celular subcutáneo. A medida que el tumor invade la dermis disminuye la supervivencia y se incrementa el riesgo de desarrollar metástasis ganglionares. En la tabla 1.1. siguiente se correlacionan el nivel de invasión tumoral con la supervivencia a 5 y 10 años y el riesgo de desarrollar metástasis ganglionares:

Tabla 1.1. Relación entre el nivel de Clark, supervivencia y riesgo de metástasis ganglionares.

Nivel	Invasión	Supervivencia		Ganglios afectados
		5 años	10 años	
I	tumor intraepidérmico.	>95%	-	-
II	infiltra parcialmente la dermis papilar.	95%	91%	5%
III	infiltra la unión dermis papilar-reticular.	81%	73%	
IV	infiltra la dermis reticular.	68%	57%	25%
V	infiltra el tejido celular subcutáneo.	47%	37%	75%

1.7.2. Grosor tumoral de Breslow

El espesor de un melanoma, medido desde el estrato granuloso al punto más profundo de penetración celular es, según algunos autores, el factor que mejor se correlaciona con la

infiltración linfática regional, la presencia de metástasis y la supervivencia. Además, su medida es más objetiva que los niveles de Clark. En situaciones de atrofia cutánea, sin embargo, un Breslow bajo no predice adecuadamente el riesgo de diseminación tumoral.

Tabla 1.2. Relación entre espesor de Breslow, supervivencia a 5 años y riesgo de desarrollar metástasis

Espesor (mm)	Supervivencia (%)	% N+ a 3 años	Metástasis 5 años
<0,76	98	2	3
0,76-1,5	85	25	8
1,51-4	64	57	15
>4	41	62	72

1.7.3. Estadíos de la AJCC

El AJCC (American Joint Committee on Cancer), atendiendo a los resultados obtenidos en el tratamiento de melanoma en un período superior a 10 años, desarrolló un sistema de estadiaje basado en la clasificación TNM, que tiene en cuenta la extensión del tumor primario, la afectación ganglionar y la presencia de metástasis a distancia (Beahrs y Myers, 1983). A diferencia de otras clasificaciones clínicas, como la de la UICC, divide los melanomas localizados en dos grupos atendiendo al grosor microscópico. Así, se consideran en otro grupo los melanomas localizados de “alto riesgo”, esto es, con grosor >1,5 mm. Desde un punto de vista anatomopatológico, considera tanto el tamaño de la lesión como el nivel de invasión. A pesar de las críticas recibidas recientemente sigue siendo un sistema de referencia para establecer grupos pronósticos con implicaciones terapéuticas (Buzaid et al, 1997).

Tabla 1.3. Relación entre la clasificación AJCC, supervivencia a 5 años y correlación con el índice de Breslow y el nivel de invasión de Clark.

Estadio AJCC	TNM	Frecuencia	Supervivencia 5 años	Grosor(Breslow)	Invasión (Clark)
IA	T1, N0, MO	47%	75-89%	0-0.75	II
IB	T2, N0, MO			0.76-1.49	III
IIA	T3, N0, MO	38%	50-70%	1.5-3.99	IV
IIB	T4, N0, MO			>4	V
IIIA	T, N1, M0	13%	<10-40%		
IIIB	T, N2, M0				
IV	T, N, M1	2%	<3%		

Correlación entre Estadios de la AJCC, extensión TNM, frecuencia, supervivencia a 5 años, nivel de invasión de Clark y grosor de Breslow Relación entre clasificación AJCC, frecuencia y supervivencia a 5 años y correlación con grosor de la lesión y el nivel de invasión (adaptado de Balch et al, 1992a).

1.7.4. Estadios de la UICC

Es la más simple y considera solamente tres grupos o estadios: tumor localizado (I); afectación ganglionar (II) y enfermedad metastásica (III).

1.8. Factores Pronósticos

A fin de evaluar los resultados de las distintas modalidades de tratamiento del melanoma maligno es importante identificar aquellas variables que puedan influir en los resultados categorizando grupos de riesgo. Ello es fundamental para el correcto análisis uni y multivariante. En uno de los estudios más exhaustivos publicados hasta la fecha en el que se revisan las características de más de 8.500 melanomas tratados en Universidad de Alabama y en la Unidad de Melanoma de la Universidad de Sydney en el período comprendido entre 1965 y 1980 se establecen una serie de factores pronósticos tanto para melanomas localizados como para melanomas con metástasis adenopáticas (Balch et al, 1992a).

1.8.1. Melanoma Maligno Localizado: AJCC estadíos I-II

Grosor del tumor. Es el factor pronóstico más relevante. Define de forma cuantitativa distintos subgrupos con diferencias estadísticamente significativas en cuanto a supervivencia.

Nivel de invasión. El nivel de invasión adquiere valor pronóstico negativo en el análisis univariante.

Ulceración. La presencia de ulceración tanto micro como macroscópica confiere un peor pronóstico, que no desaparece tras corrección por grosor tumoral, en cuanto a supervivencia, derivado posiblemente de la ruptura de la barrera epidérmica y diseminación vertical precoz. Pacientes con MM y estadíos I-II ulcerado presentan una supervivencia a 10 años del 50%, lo que difiere de forma estadísticamente significativa del 79% de la supervivencia observado en aquellos pacientes sin ulceración.

Edad. La supervivencia en menores de 50 años es de un 46% frente a un 35% en mayores de 50 años. Hay que considerar, sin embargo, que en el grupo de mayor edad el grosor medio de los melanomas es superior.

Sexo. Las mujeres, con un menor porcentaje de tumores ulcerados y mayor frecuencia de localizaciones de mejor pronóstico, tienen mayor supervivencia que los hombres.

Localización del primario. Presentan mejor pronóstico los melanomas localizados en miembros superiores, seguidos de los melanomas en miembros inferiores, cabeza y cuello y tronco, con una supervivencias a 5 años del 60%, 58%, 52% y 42%, respectivamente

Análisis Multivariante. Mediante la utilización de técnicas de análisis multivariante diversos estudios han establecido que el grosor tumoral es el factor pronóstico más relevante (Day et al, 1981). Otros factores con importancia pronóstica son presencia de ulceración (Clark et al, 1989; Schuchter et al, 1996; Drzewiecki y Andersen, 1982), localización del primario en MM subungueales (Brown y Zitelli, 1995), sexo con peor pronóstico para el masculino (Drzewiecki y Andersen, 1982; Van der Esch et al, 1981), raza de color (Reintgen et al, 1982), edad mayor de 40 años (Austin et al, 1994), nivel de invasión (Eldh et al, 1978) y tiempo transcurrido desde el diagnóstico al tratamiento definitivo (Drzewiecki y Andersen,

1982). El embarazo no confiere un peor pronóstico de forma estadísticamente significativa. Sin embargo, las mujeres embarazadas sí presentan mayor incidencia de enfermedad metastásica (Wong et al, 1989; Slingluff et al, 1990).

1.8.2. AJCC estadio III: melanoma metastásico en adenopatías locorreionales

En diversos análisis multivariantes la presencia de adenopatías metastásicas es el factor más importante para la predicción de recidiva y supervivencia. De hecho la presencia de adenopatías metastásicas disminuye la supervivencia a 5 años en un 40% aproximadamente. En la base de datos de la UAB y SMU se encontró una correlación inversa entre el número de adenopatías metastásicas y la supervivencia. En ese estudio establecen tres grupos con distinto pronóstico: pacientes con una sola adenopatía metastásica y una supervivencia del 40% a 3 años, pacientes con 2 a 4 adenopatías y una supervivencia del 26% en el mismo período, y pacientes con más de 4 adenopatías y una supervivencia del 15% ($P < 0.001$) (Balch et al, 1992a).

Mediante estudios como la identificación de la adenopatía centinela se ha pretendido mejorar el estadiaje del melanoma metastásico (Morton et al, 1992). Otros métodos como la RT-PCR, que permite la detección de marcadores de melanoma (tirosinasa, MAGE-3, Muc-18, p17), se han aplicado para la detección de micrometástasis de melanoma tanto en ganglio como en sangre periférica (Wang et al, 1994; Hoon et al, 1995).

1.9. Tratamiento

El objetivo principal que persigue el tratamiento del cáncer es el de la eliminación total del tumor. La cirugía continúa siendo un elemento básico tanto para la extirpación del tumor primario, como para el diagnóstico de la extensión del mismo. También han sido los agentes citostáticos y la radioterapia las armas más eficaces para combatir el cáncer en los últimos 20 años. Frente a estas terapéuticas que persiguen la eliminación física del tumor, últimamente se están descubriendo fármacos que pueden reconducir biológicamente la enfermedad o la

respuesta inmunitaria del organismo y que pueden ser importantes en el manejo de la enfermedad mínima residual.

1.9.1. Enfermedad Primaria

1.9.1.1. Tratamiento Quirúrgico

El tratamiento estándar del melanoma primario continúa siendo la intervención quirúrgica mediante la cual se extirpa completamente la lesión con unos márgenes que varían según el grosor del tumor. Generalmente, y basándose en estudios retrospectivos publicados, se acepta que en tumores finos (Breslow < 1 mm) es suficiente con 1 cm de margen; en tumores intermedios (Breslow 1,1-4) se recomiendan 2 cm, y en tumores con Breslow > 4 mm deben dejarse 3 cm (Balch, 1987). En cuanto a la profundidad, las recomendaciones van desde una capa fina de tejido celular subcutáneo hasta la fascia muscular.

El papel de la linfadenectomía electiva es controvertido. El grupo de pacientes con melanomas intermedios, con un grosor comprendido entre 1-4 mm, presenta un riesgo elevado de metástasis ocultas locorregionales en el momento del diagnóstico aunque la probabilidad de que desarrollen metástasis a distancia es baja, por lo que se beneficiarían de la linfadenectomía electiva (Milton et al, 1982; McCarthy et al, 1985). Otros estudios, no obstante, no demuestran un beneficio claro para esta modalidad de tratamiento (Balm et al, 1994). Se confía en que estudios prospectivos en curso auspiciados por la Organización Mundial de la Salud e Intergrupo de Ensayo Quirúrgico del Melanoma, resuelvan este dilema. Otras aproximaciones, como la identificación de neoplasia centinela, aunque cada vez más extendidas, todavía precisan estudios prospectivos.

1.9.1.2. Radioterapia

El papel de la radioterapia como tratamiento de primera línea se ve prácticamente limitado a pacientes con Melanoma Léntigo Maligno en los cuales la cirugía dejaría cicatrices desfigurantes (Drake et al, 1993).

1.9.2. Recidiva Local

El tratamiento de elección para la recidiva local solitaria es la cirugía, especialmente cuando el intervalo libre de enfermedad es prolongado (Allen y Epstein, 1992). En aquellos casos que presentan múltiples recidivas locales, recidivas locales de alto riesgo (Breslow>4mm), o metástasis en tránsito (las localizadas entre el tumor primario y el grupo adenopático más próximo), se utilizan:

- Radioterapia a altas dosis.
- Amputación (sólo aplicable a tumores de extremidades).
- Perfusión hipertérmica aislada de la extremidad. Consiste en el calentamiento de la extremidad afectada e infusión local de altas dosis de quimioterapia. Se ha utilizado como agente citostático con resultados esperanzadores (Ross, 1994). Con la adición de otros agentes como TNF e interferón se han obtenido resultados dispares (Lienard et al, 1992; Lejeune et al, 1994).

1.9.3. Melanoma metastásico regional

El tratamiento de elección de melanomas metastásicos confinados a una región adenopática locorregional es la linfadenectomía regional (Drake et al, 1993). El tratamiento adyuvante con radioterapia ha mostrado resultados prometedores (Ang et al, 1990; Strom y Ross, 1993)

1.9.4. Melanoma metastásico diseminado (Estadio IV)

Los pacientes con metástasis viscerales tienen mal pronóstico a corto plazo, con una mediana de supervivencia en torno a los 6-12 meses (Lee et al, 1995). La inmensa mayoría mueren con enfermedad multisistémica, a causa de insuficiencia respiratoria o infiltración del SNC (Amer et al, 1979).

1.9.4.1. Cirugía

El papel de la cirugía se ve limitado al rápido alivio de los síntomas en determinadas circunstancias. Es el tratamiento de elección en pacientes con metástasis limitadas a un solo órgano. También muestra utilidad para disminuir la masa tumoral previo a la administración de otras formas de terapia sistémica (Allen y Epstein, 1992).

1.9.4.2. Terapia citostática

La dacarbazina (DTIC): sigue siendo el agente más efectivo hasta la fecha, con una tasa de respuesta en torno al 20% y muy buena tolerancia (Comis, 1976). Otros agentes como las nitrosueras, el plactaxel, el cisplatino, el carboplatino o los alcaloides de la vinca, han demostrado una eficacia superior a la Dacarbazina y sí se han acompañado, generalmente, de una toxicidad superior (Ramírez et al, 1972; Einzig et al, 1991; Wiernik y Einzig, 1993).

1.9.4.3. Poliquimioterapia

En un intento por mejorar los resultados de la monoterapia, especialmente del DTIC, se han ensayado diversidad de combinaciones con y sin DTIC. Se han comunicado de forma aislada hasta un 40% de respuestas logradas, sin embargo, a costa de incrementar la toxicidad y de no demostrar un aumento significativo en la supervivencia con respecto a la monoterapia (Shelley et al, 1985; Legha et al, 1988; Reginald, 1995).

1.9.4.4. Quimioterapia en altas dosis con rescate con médula ósea/progenitores de sangre periférica

La intensificación de dosis, auspiciada por la curva de respuesta lineal-logarítmica obtenida con los agentes alquilantes, condujo a diversidad de ensayos empleando pautas tanto

de mono como de poliquimioterapia (Meisenberg, 1996). A pesar de obtener una respuesta global del 53%, era excepcional observar remisiones completas sostenidas o largos supervivientes. En ausencia de estudios prospectivos y randomizados, este tratamiento debe considerarse de investigación y su aplicación reservarse a la consolidación de la remisión completa obtenida con dosis estándares de quimioterapia.

1.10. Inmunoterapia

1.10.1. Terapia sistémica con interferón

Los interferones son proteínas o glicoproteínas producidas por células humanas o animales en respuesta a determinados estímulos, incluida la exposición a virus. Son citocinas, es decir, mediadores solubles de naturaleza polipeptídica que comunican entre sí a las células del sistema inmunitario. Se reconocen tres tipos de interferón inmunológicamente distintos: interferón α , interferón β e interferón γ .

1.10.1.1. Interferón α

Pertenece a los interferones de tipo I o interferón clásico, descubiertos por Isaac y Lindermann en 1957, en sobrenadantes de cultivos de la membrana corioalantoidea de pollo expuestos al virus de la influenza inactivado por calor. Entre otros nombres es conocido como interferón leucocitario o linfoblastoide. En la actualidad se conocen hasta 8 especies distintas codificadas en 26 loci mapeados en el cromosoma 9. Lo producen los linfocitos T, B y macrófagos en respuesta a agentes inductores de muy diversa naturaleza como virus, bacterias intracelulares, protozoos, rickettsias, productos microbianos, y una serie de inductores provenientes de líneas de células tumorales (melanoma, carcinoma colorrectal, rabdomyosarcoma y carcinoma cervical), las cuales podían inducir la producción de IFN tras 24 horas de co-cultivo con linfocitos humanos alogénicos (Abbas et al, 1995a). También se secreta interferón α en el curso de la respuesta inmune a antígenos. En este caso, las células T activadas por el antígeno estimulan la producción de IFN por parte de los monocitos. Puede

obtenerse tanto de leucocitos como mediante técnicas con ADN recombinante, esta última la más importante con fines industriales/terapéuticos.

Tiene cuatro funciones biológicas principales:

1. **Inmunomodulación:** modulan la expresión de moléculas CMH de clase I e inhiben profundamente las de clase II. Mediante este mecanismo se estimula la fase efectora de la respuesta inmunitaria mediada por células, aumentando la eficacia de la lisis mediada por linfocitos T citotóxicos. Al mismo tiempo puede inhibirse la fase de reconocimiento de la respuesta inmune al evitar la activación de los linfocitos T colaboradores restringidos por la clase II del CMH. También incrementan el potencial lítico de las células NK.
2. **Inhibición de la proliferación celular:** mediante la producción de enzimas que evitan la síntesis de aminoácidos esenciales como el triptófano, parece ser capaz de inhibir la replicación de ADN y de alterar la expresión de determinados genes, prolongando el ciclo celular.
3. **Inducción de diferenciación en células tumorales,** ralentizando la división celular y en ocasiones induciendo apoptosis (Castello et al, 1992).
4. **Inhibición de la replicación viral:** estimula la producción celular de determinadas enzimas que interfieren con la replicación de ADN o ARN viral. Es una acción paracrina, ya que las células infectadas por virus secretan el IF para proteger a las células vecinas todavía no infectadas. (Abbas et al, 1995b).

La utilización de técnicas de ADN recombinante ha permitido la obtención de grandes cantidades de IFN purificado que se han utilizado en diversidad de ensayos clínicos, tanto como terapia sistémica como tratamiento adyuvante de la cirugía.

En monoterapia el IFN α 2a muestra la misma eficacia que aquellos agentes considerados como más activos en el tratamiento del melanoma metastásico. De revisiones

publicadas recientemente pueden extraerse las siguientes conclusiones (Agarwala y Kirkwood, 1994):

- En 11 ensayos que agruparon a un total de 295 pacientes tratados con IFN α 2a y α 2b se obtuvieron un 16,2% de respuestas mayores, un 6,1% de respuestas completas mantenidas y un 10,1% de respuestas parciales. La respuesta global en pacientes tratados con IFN α 2b fue de un 22%, un tercio de los cuales mantuvieron la respuesta.
- El tiempo medio para alcanzar una respuesta completa fue de 3 meses. Aunque la mayoría de los pacientes respondieron después del primer mes de terapia, alguno lo hizo después del sexto mes.
- Hay una serie de factores pronósticos y clínicos que pueden predecir la respuesta al tratamiento con IFN α , de tal forma que los pacientes con poca masa tumoral y metástasis en piel, tejidos blandos o pulmón, presentan una mejor respuesta.
- Se han comunicado respuestas prolongadas, superiores a 7 años. Aún así la respuesta media con IFN α es de 4 meses.
- Tanto la dosis como la vía de administración parecen importantes. Se ha administrado por vía intravenosa, intramuscular y subcutánea. Independientemente de la vía de administración se han obtenido buenos resultados con dosis entre 10 MU/día y 50 MU/m² a días alternos. Cuando se modificó la frecuencia o duración del tratamiento (IFN α 2a 5 días a la semana durante 14 días o IFN α 2b 5 días a la semana durante 21 días) se obtuvieron peores resultados.

Los resultados obtenidos con el tratamiento con interferón α en pacientes con enfermedad avanzada constituyeron una razón de peso para ensayar este fármaco como tratamiento adyuvante. No se ha establecido ni la dosis ni el esquema terapéutico idóneo, lo que explica la diversidad de pautas descritas en los ensayos publicados o en marcha y que se

resumen en la siguiente tabla 1.4. (en cada estudio se incluyó un brazo con tratamiento únicamente quirúrgico).

Tabla 1.4. Estudios Randomizados de IFN como tratamiento adyuvante de melanomas de alto riesgo

Grupo/autor	Estadio	Tratamiento	nº pacientes	Resultados
WHO #16/ Cascinelli	Cualquier T, N+	IFN α 3 MU trisemanal sc, 3 años	444	SLE (-) SG (-)
NCCTG#83-7052/ Creagan	>1,69 mm o cualquier T, N+	IFN α 20 MU/m ² trisemanal im, 12 semanas	262	SLE (-) SG (-)
ECOG#1684/ Kirkwood	T ₄ o cualquier T, N+	IFN α 20 MU/m ² /d iv 1 mes, seguida de 10 MU/m ² trisemanal sc 48 semanas	287	SLE (+) P=0.0023 SG (+) P=0.0237
Grob et. Al	T ₃₋₄ , N0	IFN α 3 MU trisemanal sc, 18 meses	493	SLE (+) P=0.01 SG (-)
ECOG#1690/ INT#2055/ Kirkwood	T ₄ o cualquier T, N+	IFN α como en ECOG#1684 vs IFN α 3 MU trisemanal sc, 2 años	642	Cerrado enero 1995
EORTC#18871/ Kleeberg	>3mm o cualquier T, N+	IFN α 1MU/d sc 1 año vs IFN γ 0.2 mg/d sc 1 años vs Iscador	830	Cerrado 1996
EORTC#18952/ Eggermont	T ₄ o cualquier T, N+	IFN α 10 MU/d 5 días/semana sc 4 semanas, seguido por 10 MU trisemanal sc 1 año vs IFN α 5 MU trisemanal sc 2 años		Abierto
Austria, Pehamberger	T ₃₋₄ , N0	IFN α 3 MU/d sc 3 semanas seguida de 3 MU sc trisemanal 12 meses		Cerrado

Abreviaturas: WHO= World Health Organization (Organización Mundial de la Salud); NCCTG= National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group (Grupo de Ensayos Clínicos Canadiense del Instituto Nacional de Cáncer); ECOG= Eastern Cooperative Oncology Group (Grupo Cooperativo de Cáncer del Este); INT= Intergroup; EORTC= European Organization for Research and Treatment of Cancer (Organización Europea para la Investigación y Tratamiento del Cáncer); d= día; iv= intravenoso; im= intramuscular; sc= subcutáneo; SLE= Supervivencia Libre de Enfermedad; SG= Supervivencia Global.

En el estudio de la OMS (WHO#16) que empleaba dosis bajas de IFN α , 3 MU trisemanales durante tres años, no se encontró beneficio alguno en pacientes con melanoma y

adenopatías positivas (Cascinelli et al, 1994). Los resultados parciales publicados previamente, tras 19 meses de seguimiento, sugerían que el IFN beneficiaría a los varones mayores de 50 años y a las mujeres menores de 51. Este beneficio, sin embargo, se perdió al aumentar el seguimiento.

El ensayo ECOG#1684 aportó los primeros resultados positivos en el tratamiento del melanoma de alto riesgo con IFN α como terapia adyuvante. 287 pacientes fueron randomizados entre recibir altas dosis de IFN α , 20MU/m²/día 4 semanas seguidas de 10 MU/m² 3 veces por semana durante 48 semanas, frente a observación. En todos los pacientes se llevó a cabo linfadenectomía electiva. Tras un seguimiento medio de 7 años se evidenció un incremento tanto en la supervivencia libre de enfermedad, de 0.98 a 1.72 años (p=0.0023), como en la supervivencia global, 2.78 vs 3.82 años, en el grupo tratado con interferón. La supervivencia libre de enfermedad a 5 años fue del 37% frente a 26%, y la supervivencia global, también a 5 años, fue del 46% frente al 37%. La mayoría de los pacientes experimentaron toxicidad severa que supuso el retraso o atenuación de la dosis en un 37% de los pacientes durante el primer mes, y de un 36% en las 48 semanas restantes (Kirkwood et al, 1996).

El estudio del ECOG#1690/INT#2055 compara los dos regímenes anteriores, esto es, las dosis altas del ECOG#1684 vs 3 MU trisemanales del WHO#16 vs observación. El estudio, que incluye a 642 pacientes, se cerró en 1995 y los resultados todavía no han sido publicados.

El grupo francés emplea en pacientes con melanoma de grosor >1.5 mm y sin afectación ganglionar, IFN α a dosis de 3 MU 3 veces por semana durante 18 meses, sin tratamiento de inducción, con un incremento estadísticamente significativo en la supervivencia libre de enfermedad (Grob et al, 1996).

En el estudio de la NCCTG#83-7052 se investigó la eficacia de un curso corto de IFN α de 20 MU/m² trisemanal durante 12 semanas en pacientes con melanomas con un grosor mayor de 1,69 mm o adenopatías regionales completamente resecaadas. No se

obtuvieron diferencias significativas ni en supervivencia libre de enfermedad ni en supervivencia global. Cuando se efectuó el análisis del subgrupo de pacientes con adenopatías positivas se incrementó de forma significativa la supervivencia libre de enfermedad, de 10.8 a 17 meses (Creagan et al, 1995).

Los resultados de los estudios de la EORTC#18952, que compara 10MU vs 5MU trisemanales administrados durante 1 años, el EORTC# 18871 que compara IFN α vs IFN γ vs Iscador, y el estudio austríaco que emplea dosis bajas de IFN α durante 1 año, aún no han sido publicados.

1.10.1.2. Interferón β

Sintetizado por los fibroblastos, también puede obtenerse por ADN recombinante. Aunque el interferón α y el β se parecen poco ultraestructuralmente, se unen a los mismos receptores de superficie y parecen inducir similares respuestas celulares (Knight y Fahey, 1982). Su administración sistémica, sin embargo, se acompañó de una respuesta terapéutica sensiblemente inferior a la del IFN α . La tasa de respuestas parciales alcanza el 9%, porcentaje similar al de pacientes con enfermedad estable (Abdi et al, 1988). Se han evidenciado respuestas superiores con la administración intralesional (Nakayama et al, 1994).

1.10.1.3. Interferón γ

También denominado interferón tipo II o inmunitario. Lo producen los linfocitos T4 cooperadores, casi todos los linfocitos T8 y las células NK. Su transcripción, que se inicia directamente por el antígeno, está aumentada por la IL-2 y la IL-12. Como los anteriores la tecnología de ADN recombinante es la principal fuente de producción para la terapéutica. Sus principales propiedades biológicas son:

1. Posee un efecto antiproliferativo sobre líneas celulares T y diferenciador sobre queratinocitos.

2. Regula la expresión del receptor de alta afinidad Fc γ de tipo I en células mononucleares y plaquetas lo que conlleva el potenciar la adhesión de leucocitos que expresen integrinas LFA-1.
3. Incrementa la expresión de moléculas de complejo CMH de clase II y en algunos casos también de clase I. De este modo amplifica la respuesta inmunitaria promoviendo la activación de los linfocitos T4 cooperadores restringidas por la clase II.
4. Promueve la diferenciación de linfocitos T y B. Promueve la diferenciación de linfocitos T CD4⁺ nativos al subgrupo TH1 inhibiendo la proliferación de las células TH2. Sobre las células B activa el reordenamiento a diversos subtipos de IgG inhibiendo el de otros (Abbas et al, 1995b).
5. Activa los fagocitos mononucleares que, de esta manera, adquieren una mayor capacidad fagocítica. Sinérgicamente con los LPS y el TNF posibilita a los macrófagos para lisar células tumorales.
6. Activa los neutrófilos estimulando la producción de radicales tóxicos para los microorganismos.
7. Estimula la capacidad citolítica de las células NK.
8. Es un activador de las células endoteliales, promoviendo la adhesión de linfocitos T4 y los cambios necesarios para facilitar su extravasación.

Desgraciadamente, la lista de los beneficios terapéuticos obtenidos con IFN- γ proveniente de tecnología con ADN recombinante se resume, en pacientes con melanoma maligno, con una palabra: indefinido. De los 201 pacientes incluidos en 11 estudios con IFN- γ solamente un 5% mostraron respuestas parciales y un 2% remisiones completas (Kirkwood et al, 1990; Cohen, 1992; Kirkwood 1992; Lienard et al, 1992; Kopp et al, 1993; Mackensen et al, 1994). Tampoco el estudio del South-Western Oncology Group (Grupo de Oncología del Suroeste), en el cual 284 pacientes con melanomas >1.5 mm y/o afectación ganglionar fueron randomizados para recibir, después del tratamiento quirúrgico, IFN γ a dosis de 0.2 mg/día

subcutáneas durante 1 año frente a observación, evidenció un beneficio del IFN γ ni en supervivencia global ni en supervivencia libre de enfermedad (Meyskens et al, 1984).

1.10.1.4. Asociación de varios interferones.

Se han utilizado combinaciones de IFN γ con IFN α o IFN β en pacientes con enfermedad diseminada con pobres resultados: la combinación IFN γ + IFN α produjo respuesta sólo en el 2.9% de los pacientes, y la combinación IFN γ + IFN β en un 2.4%.

1.10.2. IFN en combinación con otros agentes biológicos y citostáticos

1.10.2.1. IFN con otros agentes biológicos

Se ha combinado con TNF e IL-2 también en pacientes con enfermedad diseminada. Los resultados no han sido muy alentadores. Las respuestas entre los 315 pacientes enrolados en 10 ensayos terapéuticos con IFN α e IL-2 van desde el 0 al 41%, con una mediana de supervivencia de 10.6 meses (Whitehead et al, 1993; Kruit et al, 1996). La asociación de IFN γ y TNF se acompañó de una elevada toxicidad sin un claro beneficio (Taguchi et al, 1988).

1.10.2.2. IFN combinado con agentes citostáticos

Se han ensayado diversidad de agentes terapéuticos en combinación con IFN en un intento de mejorar la tasa de respuestas en pacientes con enfermedad diseminada.

Los resultados obtenidos en varios ensayos en fase II, demostrando una mejora en la tasa de respuestas y en la supervivencia global con la combinación de IFN α y DTIC, no han podido ser confirmados por estudios en fase III (Falkson et al, 1991; Falkson et al, 1996).

La combinación de IFN α con poliquimioterapia, resumida en la tabla 1.5., ha obtenido la mayor tasa de respuestas en melanoma metastásicos, con respuestas de hasta un 70% y una mediana de supervivencia superior a un año.

Tabla 1.5. Estudios con interferón combinado con poliquimioterapia

Autor	Esquema	Pacientes (n)	RR % (IC 95%)	Superv (meses)
Mulder et al 1994	DTIC 750 mg/m ² iv día 1 5-FU 1000 mg/m ² iv día 14 IFN α 9 MU/d sc cada 4 semanas	26	38% (20-59%)	12
Khayat et al 1993.	CDDP 100mg/m ² iv día 1 IFN α 9 MU sc trisemanal IL-2 18 MIU/m ² /d días 3-6, 17-21 Cada 4 semanas	39	54% (38-69%)	11
Buzaid, Legha 1994	CDDP 20 mg/m ² iv días 2-5 VBL 1.6 mg/m ² iv días 1-5 DTIC 800 mg/m ² día 1 IFN_ 5 MU/m ² /d im días 6-10, 17-21 Il-2 9 MIU/m ² /d iv días 6-10, 17-21 Cada 3 semanas	30	73% (54-88%)	12
Richards et al 1992.	CDDP 25 mg/m ² días 1-3, 22-25 BCNU 150 mg/m ² día 1 DTIC 220 mg/m ² días 1-3, 22-25 Tam 10 mg/po dos veces al día, días 1-42 IFN_6 MU/m ² /sc días 4-8, 17-21 Il-2 3.9 MIU/m ² días 4-8, 17-21	42	57% (41-72%)	11.5
Pyrhönen et al 1992	BLM 15 mg/iv días 2+5 VCR 1 mg/m ² iv días 1+4 CCNU 80 mg po día 1 DTIC 200 mg/m ² días 1-5 Cada 4 semanas IFN α 3 MU/sc/d día 8-42 Luego 6 MU/sc trisemanalmente	45	62% (46-76%)	-
Punt et al 1997.	BLM 15 mg/iv días 2+5 VCR 1 mg/m ² iv días 1+4 CCNU 80 mg po día 1 DTIC 200 mg/m ² días 1-5 Cada 4 semanas IFN α 3 MU/sc/d día 8-42 Luego 6 MU/sc trisemanalmente	42	27% (14-43%)	5
Proebstle et al 1996.	DTIC 250 mg/m ² iv días 1-13 CDDP 30 mg/m ² iv días 1-3 IFN α 10 MU/m ² /sc días 1-5 Il-2 18 MIU/m ² durante 6,12,24 horas Luego 13.5 MIU/m ² durante 72 horas	212	24% (8-47%)	-

1.10.3. Vacunas de melanoma

La utilización de vacunas antimelanoma persigue el objetivo de inducir o aumentar la respuesta antimelanoma del paciente. Se han utilizado diversos tipos de vacunas: con células de melanoma (irradiadas o no), con antígenos definidos como gangliósidos o glicoproteínas, con anticuerpos antiidiotipo y, últimamente, vacunas con células de melanoma modificadas genéticamente, o vacunas con antígenos peptídicos que son reconocidos por los linfocitos T (Vadhan-Raj et al, 1988; Roth y Cristiano, 1997; Mastrangelo et al, 1996).

Las vacunas de melanoma se han mostrado efectivas en el tratamiento de la enfermedad diseminada, con una tasa de respuestas que va desde el 5 al 42% (Rosenberg et al, 1998). Un campo donde podría ser interesante la aportación futura de las vacunas de melanoma es en el tratamiento complementario de enfermos de alto riesgo tras la cirugía, cuando la carga tumoral es mínima.

Entre las líneas de terapéutica más prometedoras se encuentra la terapia génica. Consiste en la transferencia de material genético al interior de las células patológicas con objeto de reemplazar los genes supresores perdidos, inactivar los oncogenes mediante tecnología “antisentido”, inducir modificaciones en la célula neoplásica que la haga sensible a drogas poco tóxicas para el resto del organismo, o introducir genes que codifiquen las moléculas coestimuladoras incrementando la inmunogenicidad de las células tumorales (Rosenberg et al, 1998).

2. OBJETIVOS

La experiencia internacional derivada de diferentes ensayos clínicos publicados en la literatura oncológica, empleando interferón α recombinante en pacientes con enfermedad avanzada, nos indujeron a iniciar en el año 1987 un programa terapéutico con este fármaco como adyuvante a la cirugía (Flodgren, 1983; Creagan 1984a; Creagan 1984b; Krown, 1984; Hersey, 1985; Creagan, 1985).

La terapia adyuvante era aplicada precozmente después de la cirugía. De esta forma la potenciación de la respuesta antigénica, que se le supone al interferón α recombinante, podría iniciar una respuesta inmune que fuese suficiente para erradicar aquellas células que restasen después de la cirugía.

Los objetivos que se han perseguido son:

- 1) Determinar las características de la población con Melanoma Maligno Cutáneo en el ámbito del Complejo Hospitalario Juan Canalejo de La Coruña.
- 2) Evaluar la eficacia del interferón $\alpha 2b$ recombinante como terapia adyuvante de la cirugía en términos de supervivencia libre de enfermedad (SLE) y supervivencia global (SG).
- 3) Comparar dos regímenes de tratamiento con IFN $\alpha 2b$ con distintas dosis, 5 MU y 10 MU, pero con el mismo esquema de inducción y mantenimiento.
- 4) Establecer la toxicidad en relación con la dosis de inducción, dosis de mantenimiento, frecuencia y severidad de los efectos secundarios.
- 5) Evaluar el grado de seguimiento de los pacientes durante los 2 años de tratamiento.
- 6) Determinar, mediante análisis univariante qué factores de riesgo influyen en la supervivencia del MMC tratado con cirugía e IFN adyuvante.

- 7) Cuantificar, mediante análisis multivariante, la relación entre la supervivencia y los factores de riesgo.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Se han estudiado los pacientes con diagnóstico histológico de Melanoma Maligno Cutáneo (MMC) durante el período comprendido entre 1986 y 1997 en el Hospital Juan Canalejo de La Coruña en los que se ha empleado interferón alfa 2b como tratamiento adyuvante a la cirugía.

Los pacientes eran remitidos tanto de los Servicios Médico-Quirúrgicos del Complejo Hospitalario Juan Canalejo (Cirugía General, Cirugía Plástica, Dermatología) como de otros Hospitales de la Comunidad Autónoma (Hospital Arquitecto Marcide de Ferrol).

Una vez establecido el diagnóstico y el tratamiento quirúrgico, se procedía a la ampliación de los márgenes quirúrgicos, según el protocolo de tratamiento de MMC establecido en nuestro Hospital y que, en general, se ajustaba a las recomendaciones de la Conferencia de Consenso auspiciada por el Instituto Nacional de la Salud Norteamericano.

La linfadenectomía se realizó a criterio del Servicio de referencia y, en general, tuvo en cuenta la sospecha clínica de afectación metastásica locorregional y antecedentes de riesgo (neoplasias previas, antecedentes familiares).

Para el estadiaje clínico se utilizó el informe anatomopatológico que consignaba el nivel de invasión de Clark, el índice de Breslow y la afectación adenopática en caso de linfadenectomía, así como el re-estadiaje llevado a cabo posteriormente en el Servicio de Oncología y que incluía: historia clínica y exploración física completa, hemograma (cuantificando subpoblaciones linfocitarias cuando la técnica estaba disponible) y bioquímica completas, pruebas de imagen (TAC, ecografía y/o gammagrafía con radioisótopos).

3.1. Criterios de inclusión

Ser mayor de 18 años.

Tener un diagnóstico de melanoma maligno cutáneo o con afectación adenopática locorregional completamente resecada. Solamente se incluyeron al principio del estudio un paciente con melanoma coroideo, un paciente con melanoma de la unión mucocutánea en labio inferior y un paciente con melanoma maligno cutáneo. Este último se etiquetó de metastásico por las características anatomopatológicas, aunque en el estudio diagnóstico de extensión no se halló el primario.

Estado General entre 0 y 2 en la escala ECOG.

No padecer patología que contraindicase el uso de tratamiento adyuvante con interferón.

3.2. Motivos de exclusión

Melanoma diseminado.

Pacientes con metástasis intracerebrales o carcinomatosis meníngea con alteración psiquiátrica que pudiera comprometer el cumplimiento del protocolo.

Presencia de otras enfermedades concomitantes graves (hepatopatía crónica en actividad, bilirrubina o transaminasas > 1.5 de su valor normal), insuficiencia renal (creatinina > 2 mg/dl), insuficiencia cardíaca congestiva no controlada, infarto de miocardio, etc.

Pacientes con otra neoplasia concurrente, excepto basalioma cutáneo y carcinoma cervical in situ.

Mujeres embarazadas o en período de lactancia.

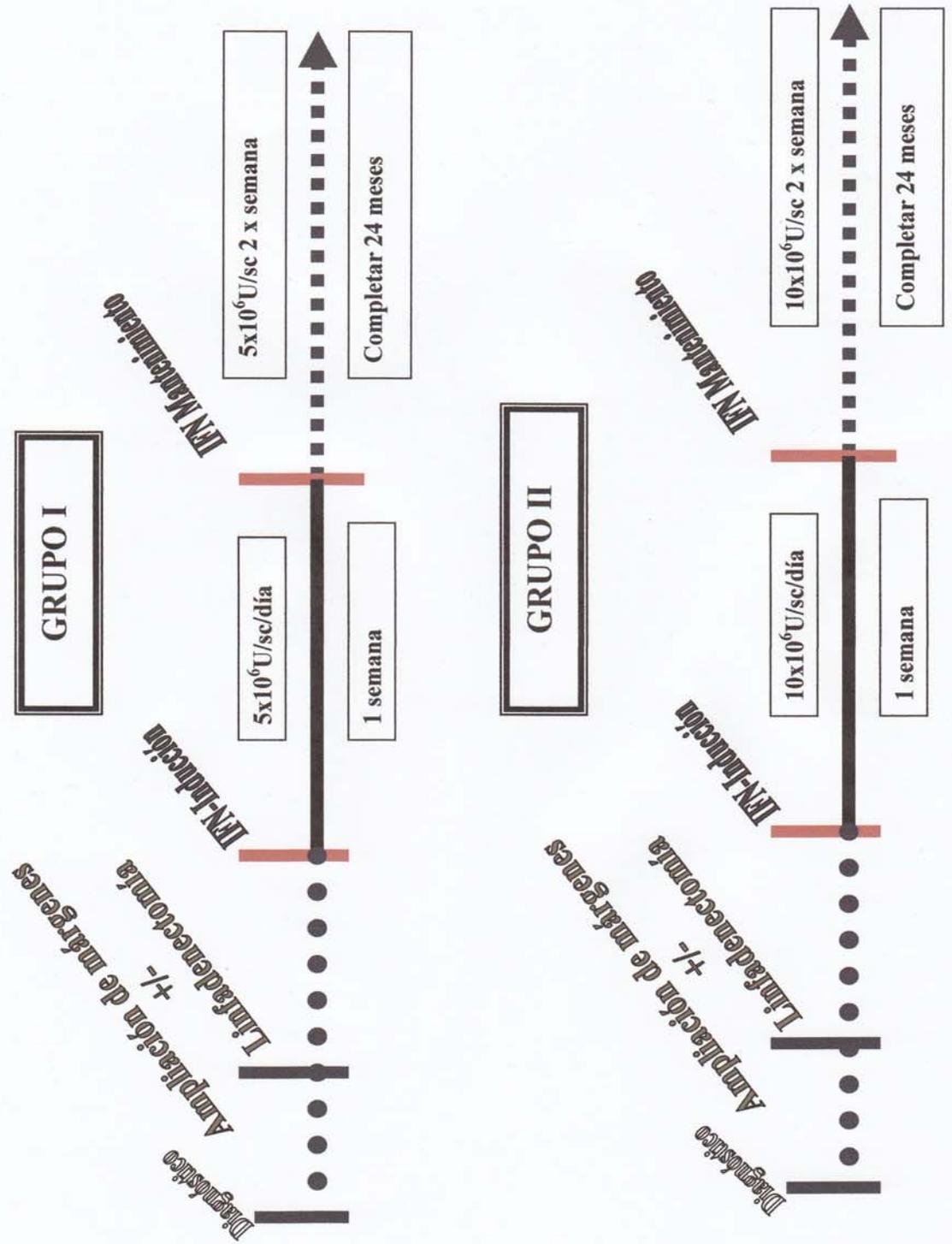
3.3. Tratamiento

El esquema utilizado incluía una fase de inducción con interferón $\alpha 2a$ administrado de forma subcutánea todos los días durante 1 semana. Posteriormente los pacientes recibían tratamiento de mantenimiento con la misma dosis de IFN $\alpha 2b$ (Intron A) administrada 2 veces por semana durante 2 años.

El estudio se dividió en 2 períodos de cinco años de duración cada uno:

- Durante los primeros 5 años todos los pacientes recibieron 10 MU/sc/día durante 1 semana, seguidas de 10 MU 2 veces por semana durante 2 años, excepto los 3 primeros pacientes que, por motivos administrativos, recibieron 5 MU y que para el estudio, fueron incluidos en el segundo grupo.
- Durante los últimos 5 años todo los pacientes recibieron 5 MU/sc/día durante 1 semana, seguidas de 5 MU 2 veces por semana durante 2 años.

Los dos esquemas terapéuticos se representan gráficamente según se expresa en la siguiente página.



3.4. Seguimiento de los pacientes

Se realizaron controles mensuales o bimestrales durante el tratamiento y, posteriormente, semestrales o anuales. En dichos exámenes, además de anamnesis y exploración física completa, se incluía estudio analítico con hemograma y bioquímica para control de toxicidad, así como estudio radiológico y/o gammagráfico para despistaje de recidiva metastásica. Se realizó asimismo, en aquellos casos en los que la técnica se encontraba disponible, control de inmunidad celular en forma de cuantificación de subpoblaciones linfocitarias.

En aquellos pacientes con toxicidad persistente (según criterios de la OMS) o intolerancia al tratamiento se suspendió el interferón, consignándose en el estudio tanto la causa de abandono como el tiempo total de tratamiento.

Se establece el intervalo libre de enfermedad como el período comprendido desde el momento del diagnóstico hasta la fecha en que se comprueba recidiva local o metástasis a distancia. Para la supervivencia global se considera desde el momento del diagnóstico hasta el último día de seguimiento.

3.5. Variables estudiadas

Para la codificación y el registro de las variables se utilizó la base de datos DBASE V para Windows de BORLAND INC. Se estudiaron las siguientes variables (entre paréntesis figura la denominación de la variable):

- Edad (CODEDAD). Se agruparon los pacientes en grupos de edad con intervalos de 10 años, codificándolos como marca de clase del intervalo. Como variable edad50 se reagruparon según fuesen mayores o menores de 50 años.
- Sexo (SEXO).
- Diagnóstico Histológico (CODEDX). Se consideraron los siguientes diagnósticos: Melanoma de Extensión Superficial; Melanoma Léntigo Maligno; Melanoma Nodular; Melanoma Lentiginoso Acral y Otros. Este último grupo

incluía: MM Coroideo, MM de la unión mucocutánea y MM metastásico en piel con primario desconocido.

- Localización del primario (LOCPRIM). Se definieron los siguientes subgrupos: ocular; cabeza y cuello; tronco; extremidades superiores; extremidades inferiores; subungueales; anogenitales y otros. En este último grupo se incluyeron 1 paciente con MM metastásico en piel, de primario desconocido, y 2 pacientes con melanomas en glúteos. En el curso del análisis se reagruparon las variables en una variable denominada LOCRES (para aumentar el número de pacientes por grupo y, consecuentemente, la potencia del análisis estadístico) que contenía los siguientes grupos: 1= ocular + cabeza/cuello; 2= Tronco + anogenital + glúteo; 3= miembro superior + miembro inferior + subungueal; 4= desconocido.
- Nivel de invasión de Clark. Como NCLARK se consignaron los niveles de invasión de Clark del II al V y como CODCLARK se reagruparon en 1= incluía MM que invadían hasta la zona de unión de la dermis papilar con la dermis reticular, niveles II-III que equivalen al inicio de la fase de crecimiento vertical; 2= niveles III y IV de Clark, con invasión franca de la dermis reticular y tejido celular subcutáneo.
- Grosor en mm según Índice Breslow. Como IBRESLOW se establecieron los siguientes grupos: 1= <0.75 mm; 2= $\geq 0,75$ y $<1,5$; 3= $\geq 1,5$ y <3 ; 4= ≥ 3 y <4 ; 5= ≥ 4 mm. Estos grupos se reagruparon como CODREBRES en: MM finos 1= $< 1,5$ mm.; intermedios 2= $\geq 1,5$ mm y < 4 mm; y gruesos 3= >4 mm.
- Clasificación según la AJCC. En CLASAJCC se consignaron por separado los estadíos IA, IB, IIA y IIB, además de los estadíos III y IV. En CODEAJCC se consideraron sólo los estadíos I, II, III y IV.
- La presencia de ulceración, tanto macro como microscópica, se recoge en la variable ULCERA: 1= ulcerado; 2= no ulcerado; 3= no valorable.

- Tratamiento quirúrgico (TTOINI). En donde 1 equivale a tratamiento quirúrgico(=1) y 2 a cirugía con linfadenectomía.
- Márgenes establecidos desde el límite de la lesión hasta el límite de la pieza resecada, en cm (MARGQUIR): 1= <1 cm; 2= ≥1 y <2 cm; 3= >2 cm y 4= no valorable.
- Ampliación de márgenes quirúrgicos (AMPMARGE). Se consideró por separado el hecho de que se procediese o no a la ampliación de los márgenes de resección de la cirugía inicial.
- Tiempo transcurrido en días desde el tratamiento quirúrgico hasta el inicio del tratamiento con IFN (DIASINI). Se agruparon en intervalos de menos de 30 días (=1); de 30 a 40 días (=2); y más de 40 días (=3).
- Dosis de IFN α 2b recibida (DOSIS), ya fuese 5 o 10, correspondientes a 5×10^6 y 10×10^6 respectivamente.
- Duración tratamiento en meses (MESTTO).
- Porcentaje, sobre el total de la esperada, de dosis recibida. Se establecieron 4 grupos: 1 cuando han recibido menos del 25%; 2 entre el 25 y el 50% de la dosis; 3 entre el 50 y el 75%; 4 cuando han recibido más del 75% de la dosis esperada.
- Toxicidad IFN. Para evaluar la toxicidad del tratamiento con INF α se utilizaron los grados de toxicidad de la OMS, codificándolos como variables clínicas y de laboratorio según las siguientes equivalencias: 0= grado 0; 1= grado 1; 2= grado 2; 3= grado 3; 4 = grado 4. Se registró la toxicidad cada 3 meses durante el primer año y semestralmente el segundo año. En cada registro se ha considerado la máxima toxicidad observada en ese período de tiempo (o intervalo). Tanto las variables como los grados de toxicidad se muestran a continuación en la tabla 3.1.

Tabla 3.1. Grados de toxicidad (escala de la OMS)

	GRADO 0	GRADO 1	GRADO 2	GRADO 3	GRADO 4
FIEBRE MEDICAMENTOSA	no	< 38	38 - 40	> 40	fiebre e hipotenso
SINDROME FLULIKE	no	Leve	moderado	intenso	intratable
Escalofríos	no	Leve	moderado	intenso	intratable
Astenia	no	Leve	moderado	intenso	intratable
Anorexia	no	Leve	moderado	intenso	intratable
Sudoración	no	Leve	moderado	intenso	intratable
Artromialgias	no	Leve	moderado	intenso	intratable
NEUROTOXICIDAD					
Estado de conciencia	alerta	letargo pasajero	somnolencia < 50% de horas vigilia	somnolencia > 50 de horas vigilia	coma
Cefalea	no	Leve	moderada	intensa	intratable
ALOPECIA	no	perdida mínima	placas de alopecia moderada	alopecia completa pero reversible	alop. irreversible
HEMATOLOGIA					
Hemoglobina (g/100 ml)	> 11,0	9,5 -10,9	8,0 - 9,4	6,5 - 7,9	<6,5
Leucocitos (1000/cc)	> 4,0	3,0 - 3,9	2,0 - 2,9	1,0 - 1,9	<1,0
Granulocitos (1000/cc)	>2,0	1.5-1.9	1,0-1,4	0,5-0,9	<0,5
Plaquetas (1000/cc)	>100	75 – 99	50 - 74	25 - 49	<25,0
TOXICIDAD HEPATICA					
SGOT (UI/L)	< 1,25 *N	1,26 - 2,5 *N	2,6 - 5,0 *N	5,1 -10,0 *N	>10,0*N
SGPT (UI/L)	< 1,25 *N	1,26 - 2,5 *N	2,6 - 5,0 *N	5,1 -10,0 *N	>10,0*N
GGT (UI/L)	< 1,25 *N	1,26 - 2,5 *N	2,6 - 5,0 *N	5,1 -10,0 *N	>10,0*N
Fosfatasa Alcalina (UI/L)	< 1,25 *N	1,26 - 2,5 *N	2,6 - 5,0 *N	5,1 -10,0 *N	>10,0*N
RENAL, VESICAL					
BUN o Urea (md/dL)	<1,2-5*N	1,26-2,5 *N	2,6-5,0*N	5,1-,10,0*N	>10,0*N
Creatinina (md/dL)	<1,2-5*N	1,26-2,5 *N	2,6-5,0*N	5,1-,10,0*N	>10,0*N

Situación en el momento de último seguimiento (SITACTUA): 1= vivo y sano; 2= vivo con metástasis; 3= muerto; 4= pérdida de seguimiento.

3.6. Análisis estadístico

Una vez confeccionada la base de datos, éstos se importaron desde el paquete estadístico SPSS versión 6.1.3 para Windows 95, con el que se procedió al análisis de los mismos.

3.6.1. Descripción del método estadístico

Para todas las variables en estudio se realizó una estadística descriptiva, comparando a continuación las diferencias entre los dos grupos de dosis de IFN mediante la Chi-cuadrado o método de la probabilidad exacta de Fisher si las frecuencias esperadas eran menores de 5 y si se trataba de variables codificadas (cualitativas). Se utilizó la t de Student si se trataba de variables cuantitativas que se distribuían según la distribución normal y si las varianzas de los dos grupos en comparación eran homogéneas (Test de Levene).

3.6.1.1. Nivel de significación

El nivel de significación elegido para considerar que el resultado de una prueba estadística era estadísticamente significativo fue de $\alpha=0,05$ en el caso de los análisis univariantes (cálculo actuarial, t de Student, Chi-cuadrado, etc.) y de $\alpha=0,1$ para los análisis multivariantes (regresiones múltiples - test de Cox).

3.6.1.2. Cálculo actuarial

Se ha aplicado la técnica de Kaplan-Meier para estimar la probabilidad de supervivencia y de duración de respuesta de los pacientes en estudio aún cuando estén todavía vivos y su seguimiento sea incompleto.

3.6.1.3. Comparación de varias distribuciones de supervivencia

Para la comparación de varias distribuciones de supervivencia, se ha empleado la técnica de "Log-rank". Este método fue diseñado para detectar una diferencia entre curvas cuya mortalidad en un grupo fuera consistentemente mayor que la correspondiente al segundo

grupo, siendo la relación entre las mortalidades constantes en el tiempo. La información que suministra es el resultado de la comparación entre dos o más curvas, considerando cada una de ellas en toda su extensión. Es el método más sensible de los desarrollados hasta la actualidad pues, al contrario que otras pruebas, detecta cualquier diferencia entre las distribuciones de supervivencia por pequeña que ésta sea.

3.6.1.4. Determinación de los factores pronósticos

Existe una variedad de técnicas estadísticas que analizan la influencia de una serie de variables sobre el tiempo de supervivencia, etc. Estas variables "explicativas", a menudo denominadas "factores pronóstico" o "covariables" representan diferencias entre los pacientes en estudio (edad, estado, etc.) o constituyen un juego de una o más variables "indicadoras" de las diferencias entre dos grupos de tratamiento. Las covariables también pueden describir cambios en el estado pronóstico de un paciente como una función de tiempo.

Generalmente la técnica más utilizada es el "modelo de regresión de riesgo proporcional de Cox". Uno de los objetivos de este modelo consiste en cuantificar la relación entre supervivencia y las variables explicativas. Para relacionar el efecto de cada covariable con la función de supervivencia, la prueba estima un juego de coeficientes de regresión. Para estimar los coeficientes de regresión y el orden de importancia de las variables, se ha empleado un procedimiento paso a paso, de forma que las variables independientes van entrando en la ecuación de regresión de una en una hasta que ésta es satisfactoria. El orden de inserción se ha determinado en este estudio mediante el método de máxima-verosimilitud (log-likelihood), que cuantifica la importancia de cada variable todavía no introducida en el modelo o ecuación de regresión. Por este procedimiento, la primera variable seleccionada es la más importante en predecir la supervivencia, la segunda es la segunda más importante, etc. De esta forma, el proceso suministra una selección y ordenamiento sucesivos de las variables independientes según su importancia relativa.

4. RESULTADOS

De los sesenta y seis pacientes recogidos, cuatro no fueron considerados para el estudio. De éstos, dos pacientes abandonaron el programa voluntariamente, sin que constase en la historia clínica toxicidad u otro motivo de índole médica a los que pudiese atribuirse el abandono, y los otros dos no cumplían los criterios de estadiaje, al tratarse de melanomas avanzados.

Un total de 62 pacientes, en los que se dispuso de suficiente información concerniente a evolución y toxicidad del tratamiento, fueron incluidos en el estudio. Treinta y cinco pacientes, el 66% del total, recibieron 5 MU, mientras que otros veintisiete pacientes, el 44%, recibieron 10 MU. Los dos grupos están compensados en la distribución de pacientes con respecto a edad, diagnóstico histológico, localización del tumor primario, presencia o ausencia de ulceración en la lesión primaria, tratamiento quirúrgico (con ampliación de márgenes o no), márgenes de resección, realización de linfadenectomía, tiempo medio desde la cirugía al inicio del tratamiento adyuvante con IFN, duración del tratamiento con IFN, porcentaje de abandonos, causas de abandono y porcentaje de tratamiento adyuvante recibido. Hay un mayor porcentaje de mujeres en el grupo de 10 MU, 78% con respecto al grupo de 5 MU 57%, diferencia que, sin embargo, no alcanza significación estadística. Toda esta información está glosada en las tablas 4.1. y 4.2. representadas gráficamente en las páginas siguientes.

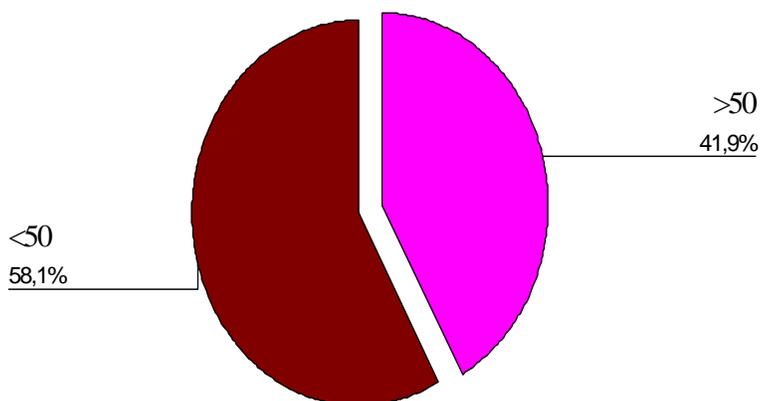
En el momento en que se realiza este análisis los pacientes han sido monitorizados entre 8,5 y 116,3 meses, con una mediana de seguimiento de 40,3 meses. Al ser el grupo de 5 MU el que inició el tratamiento más tardíamente, el seguimiento es más corto, con una mediana de 28,5 meses. En el grupo de 10 MU la mediana de seguimiento es de 72,5 meses. Se ha actualizado el seguimiento de los pacientes que a finales del 97 estaban en tratamiento o lo habían finalizado en el último trimestre de ese año.

4.1. Características generales de la población

4.1.1. Edad

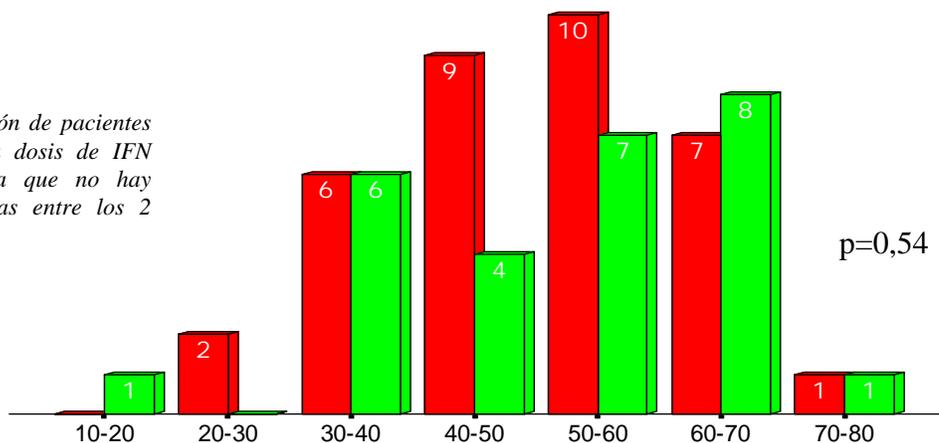
La edad media de los pacientes, en el momento del diagnóstico, era de 51,2 ($\pm 1,7$) años, con una mediana de 54 años. El paciente más joven tenía 19 años y el de más edad 76. Treinta y seis pacientes (58%) tenían más de 50 años en el momento del diagnóstico frente a 26 (42%) que no alcanzaban los 50 años. El porcentaje de pacientes mayores de 50 años y la distribución de los pacientes por decenios en cada grupo de dosis están representados en las gráficas 4.1. y 4.2.

Gráfica 4.1. Proporción de pacientes que en el momento del diagnóstico tienen más de 50 años



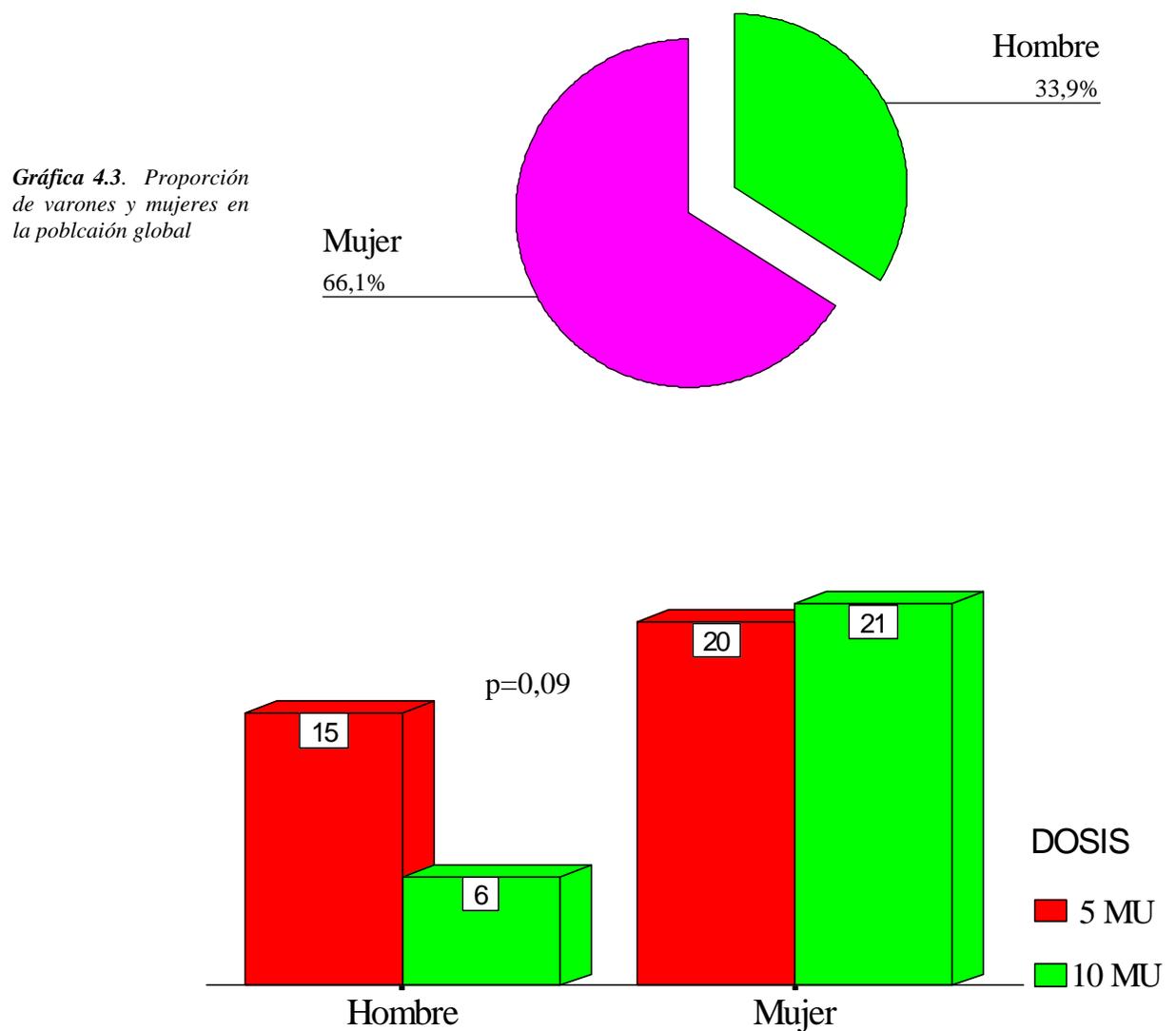
Gráfica 4.2. Distribución de pacientes por decenios según la dosis de IFN recibido. La p ilustra que no hay diferencias significativas entre los 2 grupos.

■ = 5 MU
■ = 10 MU



4.1.2. Sexo

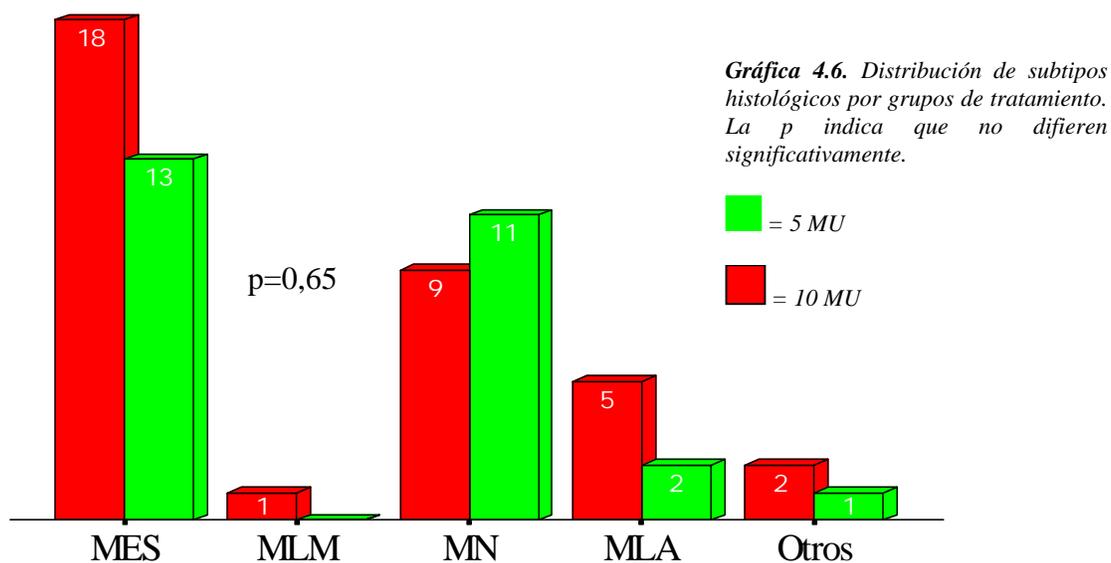
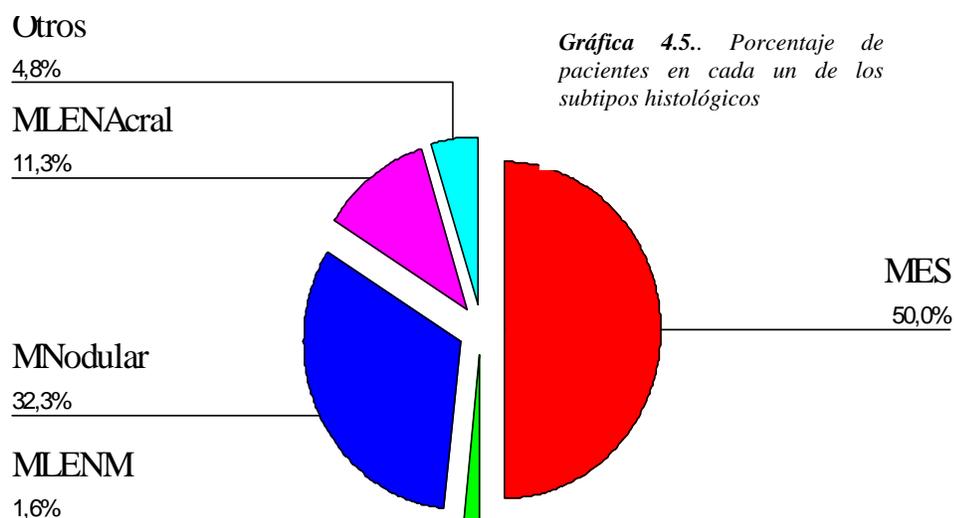
Cuarenta y una son mujeres (66%) frente a 21 varones (34%), con una relación mujer:hombre de 2:1. Como se ha comentado con anterioridad es mayor el número de mujeres en el grupo que recibe 10 MU de IFN, pero la diferencia entre ambos grupos, como se ilustra en la gráfica 4.4. no es estadísticamente significativa.



Gráfica 4.4. Número de pacientes, por sexos, en cada grupo de tratamiento.

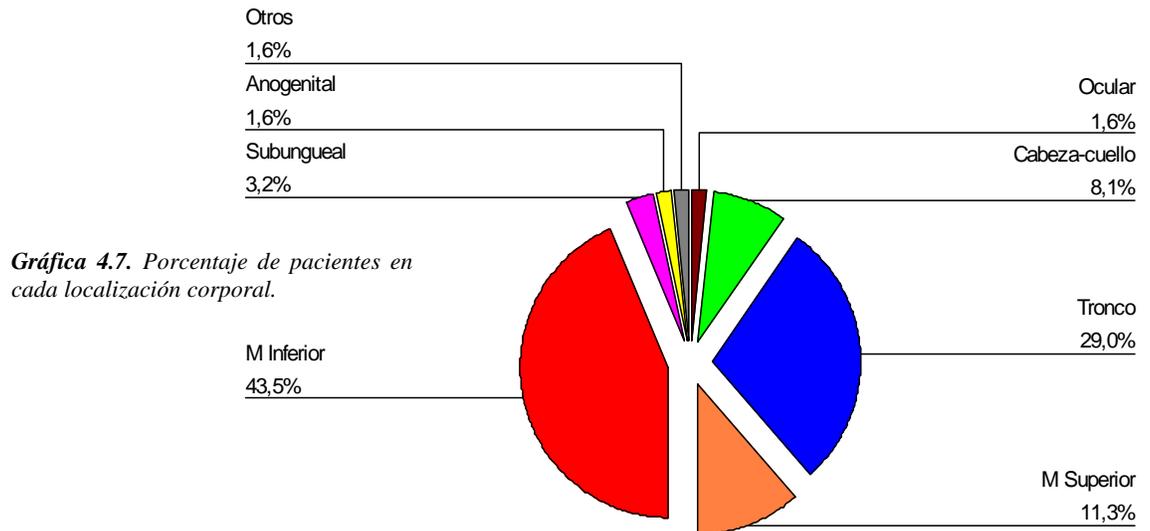
4.1.3. Tipo histológico

El tipo histológico más frecuente es el Melanoma de Extensión Superficial con 31 pacientes, seguido de Melanoma Nodular con 20 pacientes. Otros tipos presentes son el Melanoma Lentiginoso Acral con 7 pacientes; Melanoma de la Unión Dermodepidérmica, Melanoma Coroideo y Melanoma Metastásico en piel de primario desconocido, con 1 paciente cada uno.

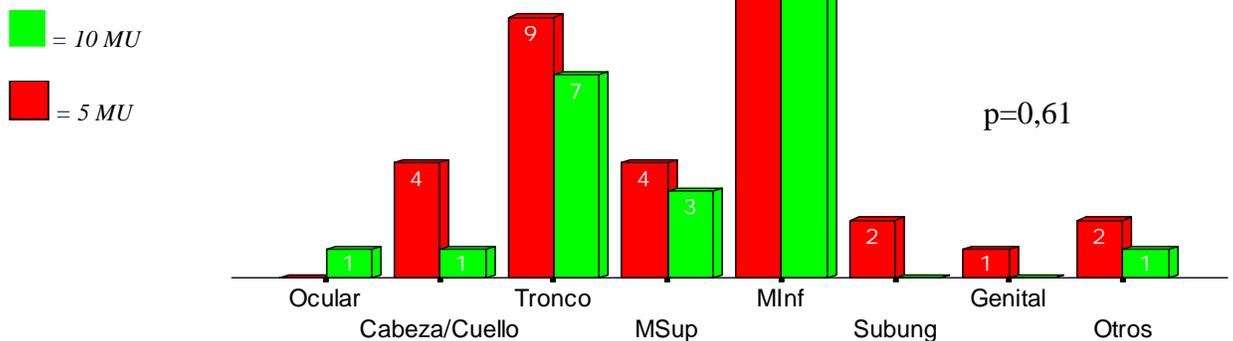


4.1.4. Localización del primario

La localización más frecuente es en miembro inferior con 27 pacientes que, sumados a 2 pacientes con melanoma subungueal, ambos en el primer dedo del pie, contabilizan 29 casos que suponen el 46,7% de los estudiados. Otras localizaciones incluyen el tronco, con 18 pacientes; las extremidades superiores, con 7 pacientes; la cabeza y el cuello, con 5 pacientes; la región intraocular, con 1, la región anogenital (escroto) con 1 y un paciente con melanoma metastásico en piel.



Gráfica 4.8. Número de pacientes que presentan el melanoma primario en las localizaciones descritas en ordenadas según la dosis de IFN.

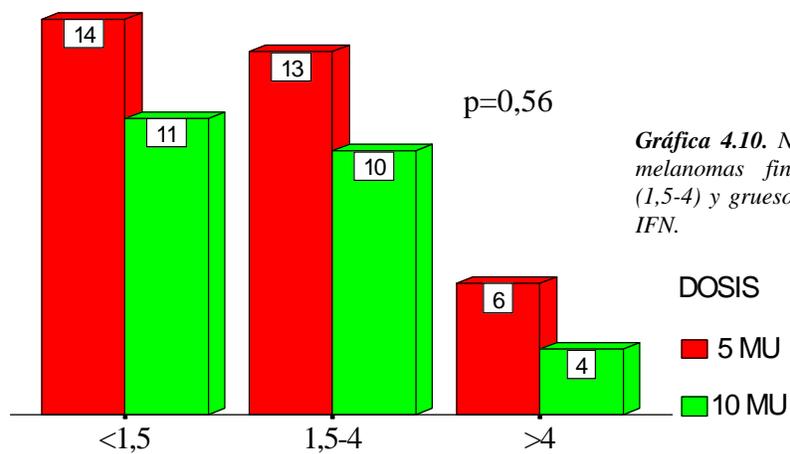
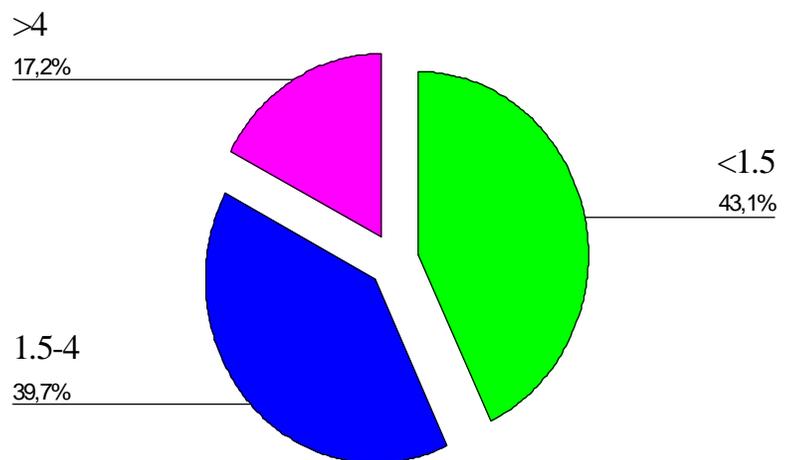


4.2. Estadiaje

4.2.1. Grosor de Breslow

De los 58 pacientes en los que se dispone de la medida del grosor de Breslow, la gran mayoría tienen melanomas finos (25) o de grosor intermedio (23). Únicamente en 10 pacientes el melanoma mide más de 4 mm según la escala de Breslow.

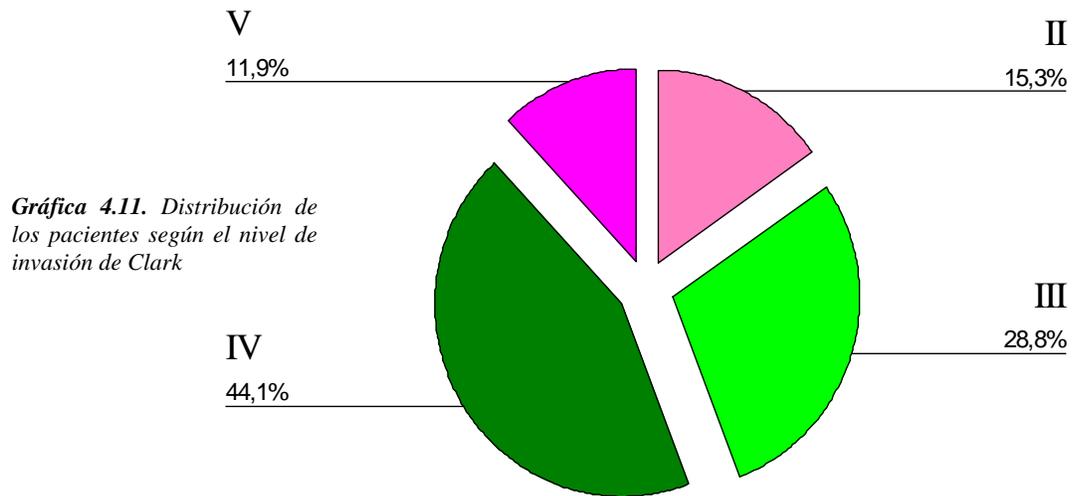
Gráfica 4.9. Distribución porcentual de los pacientes según el espesor de la lesión por el índice de Breslow.



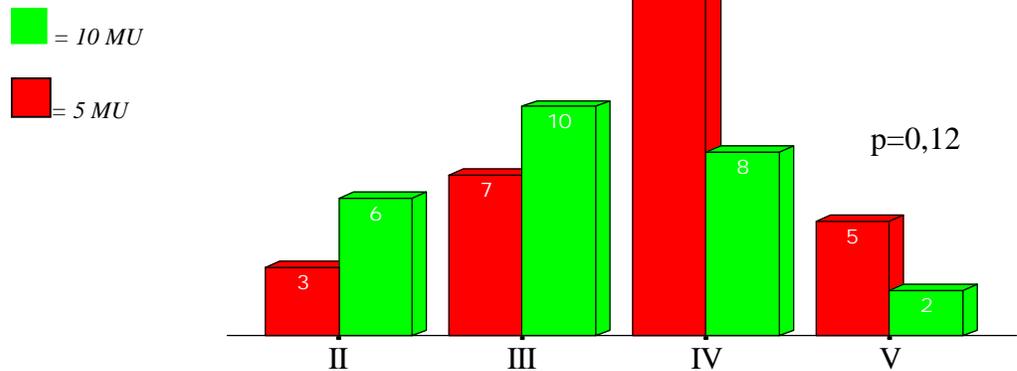
Gráfica 4.10. Número de pacientes con melanomas finos (<1,5), intermedios (1,5-4) y gruesos (>4) según la dosis de IFN.

4.2.2. Índice de Clark

Predominan los pacientes con un nivel de invasión profundo, así el grupo más numeroso es el que presenta infiltración de la dermis papilar (Clark IV), con 26 pacientes. En las gráficas que siguen (4.11. y 4.12.) se muestra la distribución por grupos de Clark y dosis.

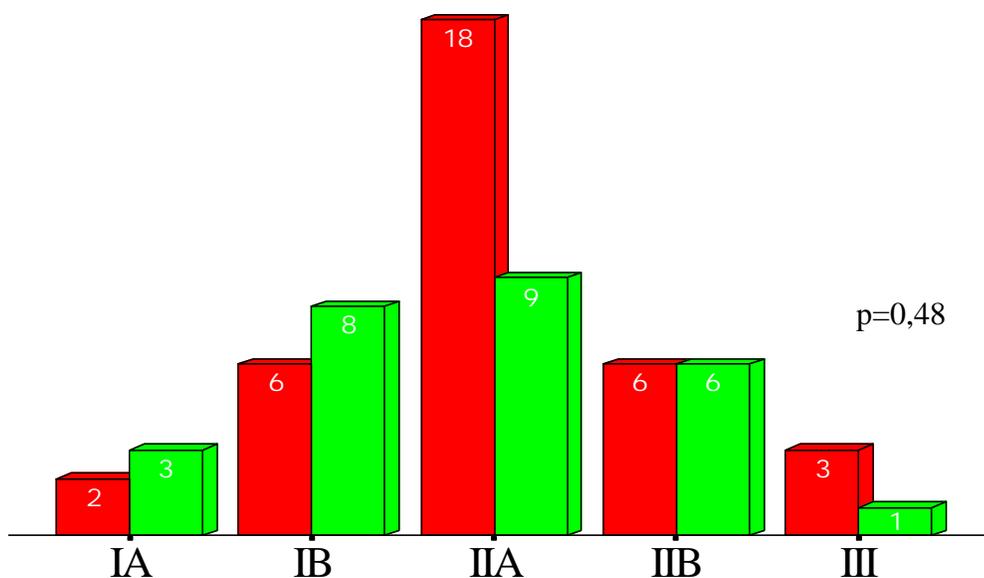


Gráfica 4.12. Número de pacientes en cada nivel de invasión de Clark según la dosis recibida.



4.2.3. Clasificación según la AJCC

Ateniéndonos a las recomendaciones de la AJCC, encontramos que la mayoría de nuestros pacientes pertenecen al estadio II. En concreto 27 pacientes presentan melanomas localizados <4 mm de grosor o Clark nivel IV y sin afectación ganglionar, es decir, estadio IIA. Le siguen en orden de frecuencia los estadios IB, con 14; IIB, con 12 y IA con 5. Cuatro pacientes están en estadio III tras reestadiaje en Oncología, esto es, tienen un melanoma con metástasis adenopáticas locorreregionales o cutáneas.

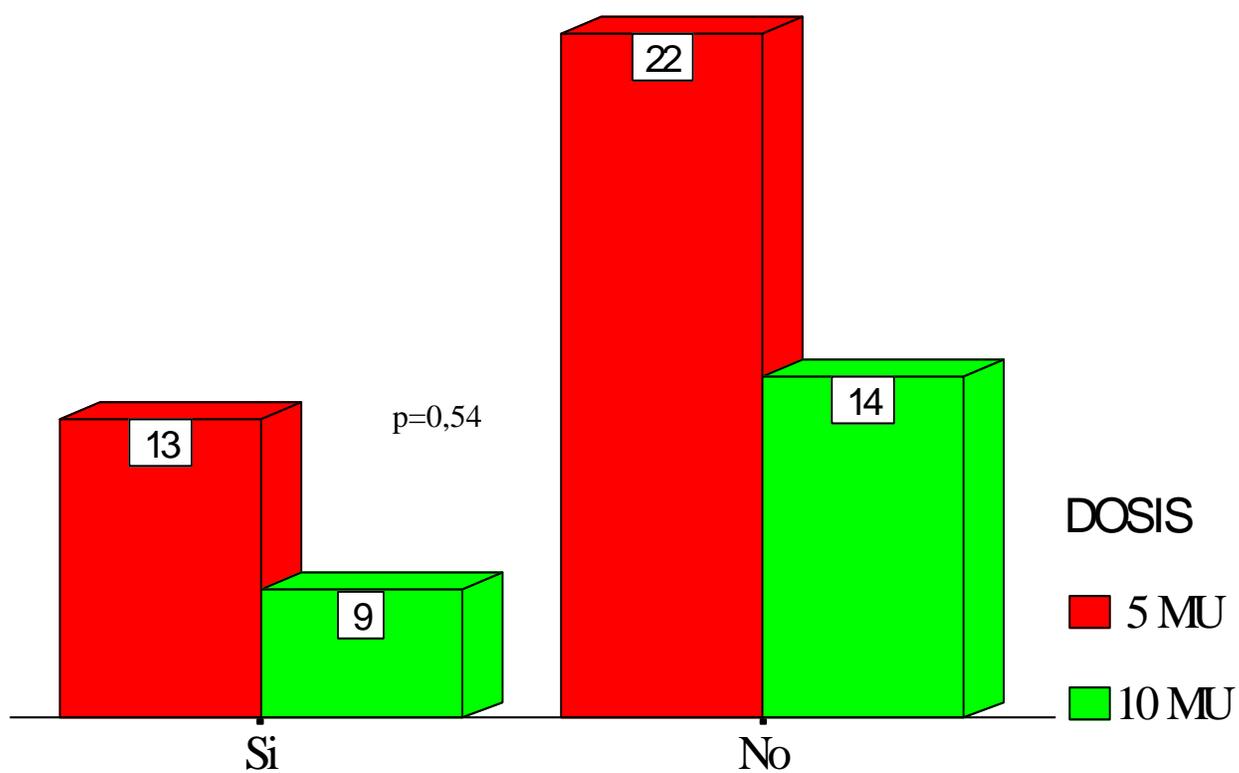


Gráfica 4.13. Número de pacientes en cada uno de los estadios de la AJCC según la dosis de IFN.

■ = 10 MU
■ = 5 MU

4.2.4. Ulceración del primario

Presentaban ulceración macro o microscópica 22 pacientes, lo que supone un 35% del total de los pacientes, frente a 40 (65%) en los cuales el tumor no estaba ulcerado. Las diferencias en cuanto a ulceración entre los dos grupos con distintos tratamiento con IFN no son estadísticamente significativas, como queda ilustrado en la gráfica 4.14.



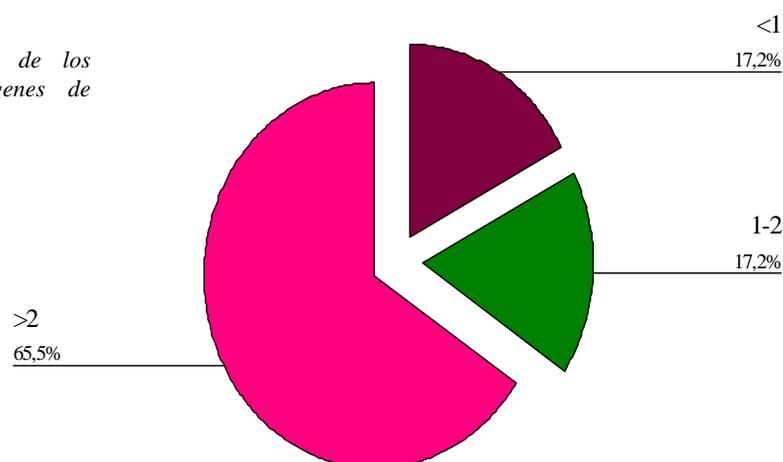
Gráfica 4.14. Número de pacientes que presentan o no ulceración del primario en cada grupo de tratamiento con IFN.

4.3. Tratamiento quirúrgico

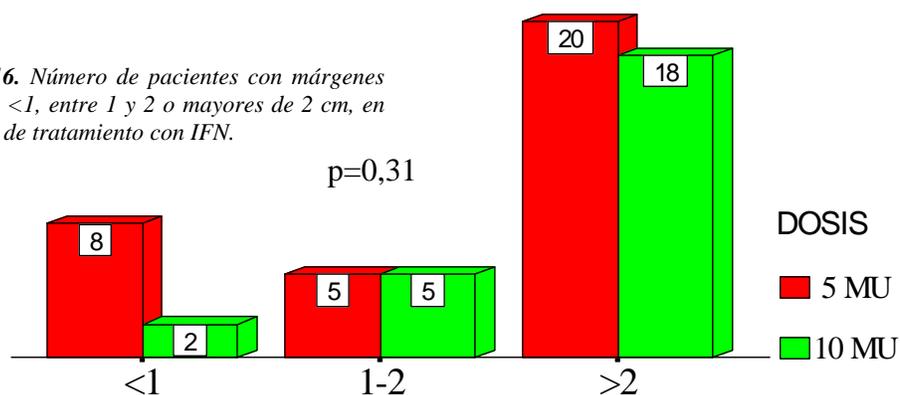
4.3.1 Márgenes de resección

En la mayoría de los pacientes la cirugía rebasó los 2 cms desde el margen de la pieza de resección al borde más próximo de la lesión, ya fuese en la cirugía diagnóstica o como parte del protocolo quirúrgico que contempla en determinados casos la ampliación de los márgenes de resección. En las gráficas 4.15. y 4.16. se ilustra el porcentaje de pacientes según los márgenes de resección y el número de pacientes que en cada grupo de tratamiento tienen <1 cm de piel sana, entre 1-2 cm o más de 2 cm.

Gráfica 4.15. Distribución de los pacientes según los márgenes de resección.



Gráfica 4.16. Número de pacientes con márgenes quirúrgicos <1, entre 1 y 2 o mayores de 2 cm, en cada grupo de tratamiento con IFN.

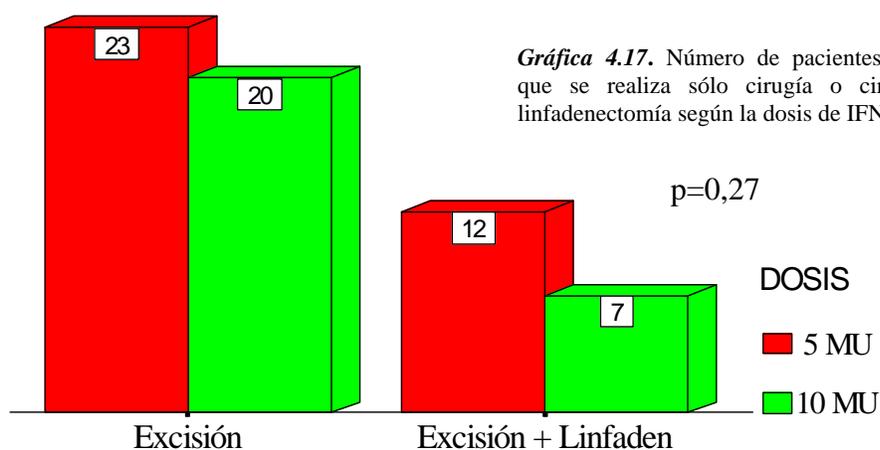


4.3.2. Cirugía ± Linfadenectomía

En 19 pacientes (31%) además de la excisión de la lesión con ampliación de márgenes de resección, se procedió a la linfadenectomía. En 3 de ellos se evidenció afectación adenopática, lo que representa el 5% de los pacientes y el 16% de las linfadenectomías. En estos 3 pacientes el diagnóstico histológico fue de melanoma nodular (2) y melanoma de la unión mucocutánea del labio (1). Los 16 pacientes restantes, en los que la linfadenectomía fue negativa se distribuyen en los siguientes grupos: melanoma nodular, 7 pacientes; melanoma de extensión superficial, 6 pacientes; melanoma lentiginoso acral, 2 pacientes y melanoma metastásico, 1 paciente. El porcentaje de linfadenectomías no difirió significativamente entre los dos grupos como se evidencia en la Gráfica 4.17.

En los grupos considerados de mayor riesgo de diseminación metastásica tales como MN, MLA y melanoma mucocutáneo el tratamiento quirúrgico empleado fue:

- MN: cirugía 11(55%), cirugía con linfadenectomía 9(45%).
- MLA: cirugía 5 (71%), cirugía con linfadenectomía 2(29%).
- Melanoma mucocutáneo: cirugía con linfadenectomía 1(100%).



4.4. Tratamiento con IFN

4.4.1. Inicio del tratamiento con interferón

El tiempo medio transcurrido entre el tratamiento quirúrgico y la fase de inducción del tratamiento con IFN es de $64 \pm 74,7$ días, con una mediana de 35 días. Dos pacientes, uno en cada grupo terapéutico, sufrieron un retraso en el tratamiento de más de 300 días; en una de ellas vino motivado por estar embarazada en el momento del diagnóstico y en el otro, un varón de 62 años, hubo de descartarse el origen maligno de un nódulo pulmonar no accesible a la cirugía, previo a iniciar el tratamiento con IFN.

El tiempo medio de tratamiento es de $19,6 \pm 6,9$ meses. Ni el tiempo desde la cirugía al inicio de la fase de inducción ni la duración del tratamiento difieren de forma significativa entre los dos grupos como puede verse en la tabla 4.1.

Tabla 4.1. Tratamiento con IFN $\alpha 2b$

	Global	Según dosis de IF		Sig. Estadística P
		5×10^6	10×10^6	
Inicio IF (días)	$64 \pm 74,7$	$71,8 \pm 71,3$	$54,1 \pm 79$	0,87 NS
Duración Tratamiento (meses)	$19,6 \pm 6,9$	$19,6 \pm 6,9$	$19,6 \pm 7,1$	0,856 NS

NS= no significativo. Los resultados se expresan mediante la media \pm desviación estándar.

4.4.2. Toxicidad del tratamiento con IFN y grado de seguimiento del tratamiento

Todos los pacientes han completado el tratamiento de inducción.

Con respecto al tratamiento de mantenimiento, lo han completado el 62% de los pacientes. Se ha producido un 18% de abandonos, bien por toxicidad (10%) o rechazo del paciente (8%). En 7 pacientes (11%) hubo de suspenderse el tratamiento por recidiva de la enfermedad antes de completar la fase de mantenimiento. Tres pacientes (5%) presentaron una segunda neoplasia que ha obligado a la suspensión del tratamiento. En concreto, desarrollaron 1 carcinoma epidermoide de glotis, 1 Ca de mama lobulillar infiltrante y 1 cistoadenocarcinoma seroso de ovario.

Los dos grupos de tratamiento son homogéneos con respecto a porcentaje y causas de tratamiento incompleto.

Dos pacientes no han completado el tratamiento por motivos no relacionados con toxicidad ni recidiva. Con ambos se ha contactado en los últimos 6 meses para comprobar que siguen vivos y sanos.

Más del 70% de los pacientes han recibido por encima del 75% de la dosis prevista de mantenimiento, como puede observarse en la tabla 4.2., donde además se detalla qué porcentaje de pacientes ha recibido menos del 25%, cuántos han recibido entre el 50 y el 75% y cuántos más del 75% de la dosis de mantenimiento, tanto en cada grupo de tratamiento como en la totalidad de la población bajo estudio.

Tabla 4.2. Dosis de INF recibida (porcentaje sobre la prevista inicialmente).

	Global	Según dosis de IF		Sig. Estadística p
		5x10 ⁶	10x10 ⁶	
% Tratamiento recibido				0.98 NS
<25%	4 (6)	2 (6)	2 (7,5)	
25-50%	9 (15)	5 (14)	4 (15)	
50-75%	6 (10)	4 (11)	2 (7,5)	
>75%	43 (69)	24 (69)	19 (70)	

Entre paréntesis figura el porcentaje que el número de pacientes supone dentro de su grupo. NS= no significativo.

La toxicidad de ambos regímenes fue aceptable y no se encontraron diferencias significativas entre las dos dosis.

Los síntomas más frecuentes han sido los constitucionales como cuadro seudogripal (astenia, artromialgias, escalofríos) fiebre y cefaleas. Solamente un paciente (2%), que estaba recibiendo 10 MU, presentó en la fase de inducción toxicidad grado 3, en concreto fiebre superior a 40°C. En la tabla 4.3. se expone con más detalle la toxicidad clínica más frecuente desarrollada durante el tratamiento, así como el resultado de comparar la toxicidad según dosis en cada intervalo de tiempo.

Con menor frecuencia se han referido síntomas atribuibles al IFN de tipo digestivo, cardiovascular o neuropsiquiátrico:

- a. Toxicidad gastrointestinal. Doce pacientes (19%) presentaron clínica digestiva, alguno de ellos más de un síntoma, de distinto grado y tipo:
 - . Anorexia: 7 pacientes (11%); en 4 fue pasajera y no precisó modificación o suspensión temporal del tratamiento; en 2 pacientes se acompañó de pérdida de peso superior a 9 Kg y en 1 paciente hubo de rebajarse la dosis de 10 a 5 MU por intolerancia clínica (entre otros efectos indeseables esta paciente refería anorexia).
 - . Náuseas: 5 pacientes (8%); 3 pacientes la refirieron sólo durante la inducción; los otros 2 las presentaron durante el mantenimiento.
 - . Diarrea: 1 paciente (1,6%), que precisó de la suspensión de IFN durante 1 semana, con lo que cedió la diarrea y pudo continuar tratamiento.
 - . Gastralgia en 1 paciente, que suspendió el tratamiento tras 14 meses de IFN por intolerancia clínica.
 - . Sialorrea: presentada en 1 paciente de forma aislada.

b. Toxicidad cardiovascular. En seis pacientes (10%) se ha registrado clínica cardiovascular :

. HTA: 2 pacientes; una de ellas presentó durante la inducción con 10 MU, una crisis hipertensiva acompañada de taquicardia que obligó a reducción de la dosis a 5 MU. En la otra paciente el aumento de la TA fue un hecho aislado.

. Cardiopatía isquémica: 2 pacientes; IAM en 1 paciente, que precisó ingreso y suspensión temporal del tratamiento (5 MU, que suspendió 21 días) por dolor precordial atípico, que se diagnosticó meses más tarde, por cambios electrocardiográficos, de IAM; 1 dolor precordial en 1 paciente en la que se redujo la dosis de 10 a 5 MU, completando el tratamiento sin incidencias.

. Hipotensión: 1 paciente, tuvo que suspender el tratamiento.

. Bradicardia sintomática: 1 paciente, que hubo de suspender el tratamiento durante 20 días, transcurridos los cuales reinició el IFN a la misma dosis (5 MU).

c. Toxicidad neuropsiquiátrica. Cinco pacientes (8%) presentaron sintomatología asociada a la administración de IFN.

. Ansiedad: 4 pacientes(6%); 1 paciente hubo de suspender el tratamiento (estaba con 10 MU) por la angustia que le producía la administración de IFN, a pesar de haber recibido tratamiento con benzodiazepinas; en los otros 3 pacientes la ansiedad, de leve a moderada, no precisó modificación de la dosis ni suspensión temporal del tratamiento.

. Depresión en 1 (1,5%) paciente que no precisó modificación de la dosis

d. Alopecia difusa en 2 pacientes

e. Un paciente presentó disnea durante los 2 primeros días de la inducción.

Tabla 4.3. Toxicidad clínica por síntomas y grado.

	Fiebre			Cuadro Seudogripal			Cefalea			
	No	Leve Moderado	Severa	No	Leve Moderado	Severa	No	Leve Moder.	Severa	
Inducción	50	38	2	39	61	0	71	29	0	
		(p=0,02)			(p=0,03)			(p=0,004)		
Mantenimiento	Mes4	66	34 (NS)	0	47	53 NS	0	66	34 p<0,001	0
	Mes7	76	24 NS	0	43	57 NS	0	70	30 NS	0
	M10	81	19 NS	0	60	40 NS	0	83	17 p=0,02	0
	M12	81	19 NS	0	58	52 NS	0	83	17 NS	0
	M18	76	24 NS	0	52	48 NS	0	86	14 NS	0
	M24	90	10 NS	0	75	27 NS	0	93	7 NS	0

En cada síntoma figura el porcentaje de pacientes presentándolo y los distintos grados de presentación. Entre paréntesis figura la significación estadística de la diferente frecuencia de presentación de la clínica dentro de cada grupo de tratamiento.

La mayoría de los pacientes no han desarrollado toxicidad hematológica o bioquímica o bien ésta ha sido leve. Únicamente un paciente, que estaba recibiendo 10 MU, presentó neutropenia severa (grado 3) durante el tratamiento de mantenimiento y tras suspender temporalmente el tratamiento fue capaz de reiniciarlo sin mayores incidencias. Tres pacientes (5%) desarrollaron toxicidad hepática de grado 3 con elevación de GOT, GPT y GGT. De ellos, dos hubieron de suspender el tratamiento por persistencia o incremento de la toxicidad y en el otro paciente las enzimas hepáticas volvieron a la normalidad tras la suspensión temporal del tratamiento.

En la tabla 4.4. se expone la toxicidad hematológica, así como el resultado de comparar la toxicidad según dosis en cada intervalo de tiempo.

En la tabla 4.5. se detalla la toxicidad bioquímica, así como el resultado de comparar la toxicidad según dosis en cada intervalo de tiempo.

Tabla 4.4 Toxicidad hematológica por series hemáticas afectadas y grado (según los criterios de toxicidad de la OMS).

	ANC			Hb			Plts		
	N	G1-G2	G3-G4	N	G1-G2	G3-G4	N	G1-G2	G3-G4
Inducción	73	27 NS	0	98	2 NS	0	100	0 NS	0
Mantenimiento									
Mes4	64	36 NS	0	84	16 NS	0	100	0	0
Mes7	60	40 NS	0	86	14 NS	0	100	0	0
M10	69	31 NS	0	95	5 NS	0	98	2 NS	0
M12	66	34 p=0.045	0	93	7 NS	0	98	2 NS	0
M18	69	31 NS	0	95	5 NS	0	100	0	0
M24	81	19 NS	0	97	3 NS	0	97	3 NS	0

En cada columna figura el porcentaje de pacientes con los distintos grados de toxicidad. Entre paréntesis figura la significación estadística de la diferente toxicidad entre cada grupo de tratamiento.

Tabla 4.5. Toxicidad bioquímica.

		GOT			GPT			GGT			FA		
		N	G1-G2	G3-G4	N	G1-G2	G3-G4	N	G1-G2	G3-G4	N	G1-G2	G3-G4
Inducción		87	13 NS	0	76	24 NS	0	94	6 NS	0	98	2 NS	0
Mantenimiento	Mes4	74	24 NS	2	60	38 NS	2	82	16 NS	2	93	7 NS	0
	Mes7	75	21 NS	4	64	32 NS	4	84	14 NS	2	96	4 NS	0
	M10	84	16 NS	0	68	32 p=0,01	0	86	14 NS	0	98	2 NS	0
	M12	83	15 p=0,04	2	69	27 NS	4	92	8 NS	0	96	4 NS	0
	M18	83	17 p=0,02	0	73	27 NS	0	85	15 NS	0	98	2 NS	0
	M24	89	11 p=0,012	0	78	22 NS	0	86	14 NS	0	94	6 NS	0

En cada columna figura el porcentaje de pacientes con los distintos grados de toxicidad. Entre paréntesis figura la significación estadística de la diferente toxicidad entre cada grupo de tratamiento.

4.5. Probabilidad de Supervivencia.

4.5.1. Supervivencia Global

En el momento de realizar el corte para este estudio se habían muerto 6 pacientes (10%) con una supervivencia media de 50 ± 18 meses. El éxitus más precoz se produjo a los 24 meses y el más tardío a los 70 meses. Cinco pacientes estaban en recaída de su melanoma y una paciente murió como consecuencia de una segunda neoplasia, carcinoma de colon sigmoide.

Las características histológicas y el estadiaje se resumen en la tabla 4.6.

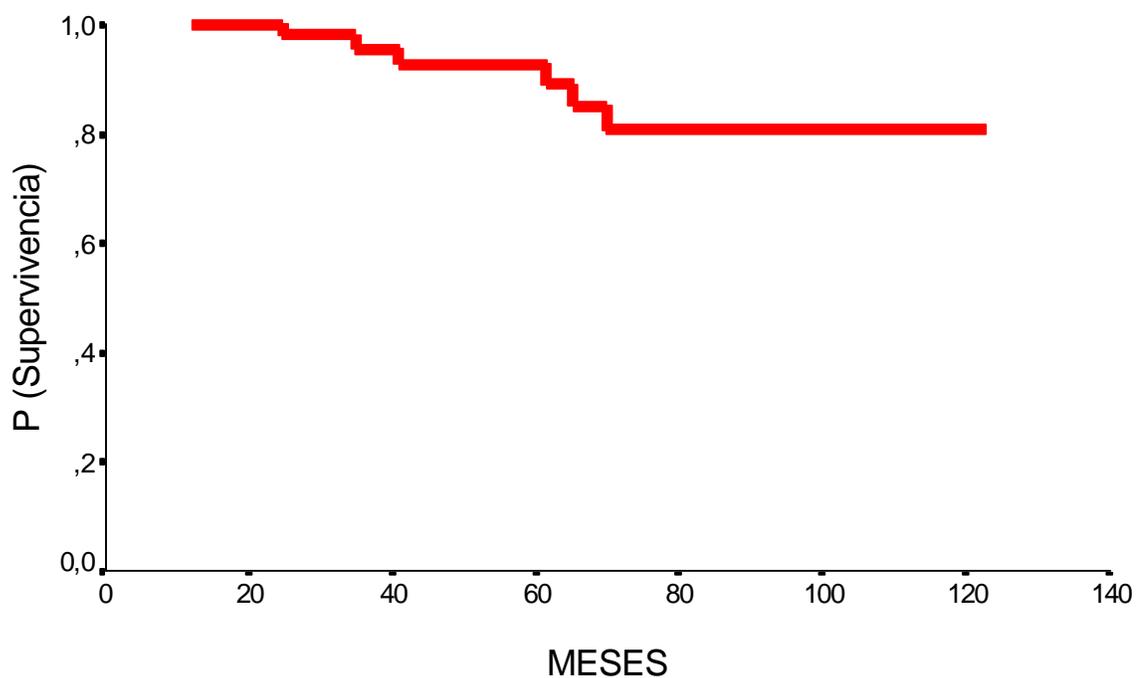
Tabla 4.6. Características de los pacientes que fueron éxitus.

Variable	Subgrupo	Nº pacientes
Diagnóstico histológico	MES	2
	MN	2
	MLA	2
Ibreslow	<1,5 mm	0
	1,5-4	3
	>4	2
Nclark	II	1 (Breslow 2,1 mm + ulceración)
	III	1
	IV	1
	V	3
AJCC	I	0
	II	5
	III	1
Ulcerado	Si	6
	No	0

MN: melanoma nodular; MLA: melanoma lentiginoso acral; MES: melanoma de extensión superficial

Mediante el test cálculo actuarial Kaplan Meier, que permite conocer la probabilidad del evento a medir a lo largo del tiempo, podemos determinar un paciente con MMC que se trate con cirugía e IFN adyuvante tiene un 80% de probabilidad de estar vivo a los 10 años (al no alcanzar el 50% de eventos no puede determinarse la mediana de supervivencia), como puede verse en la gráfica 4.18.

Gráfica 4.18. Supervivencia en pacientes con MMC tratados con IFN.



Probabilidad de supervivencia acumulada, en meses, en pacientes tratados con IFN, independientemente del estadio o la dosis.

4.5.2. Supervivencia Libre de Enfermedad

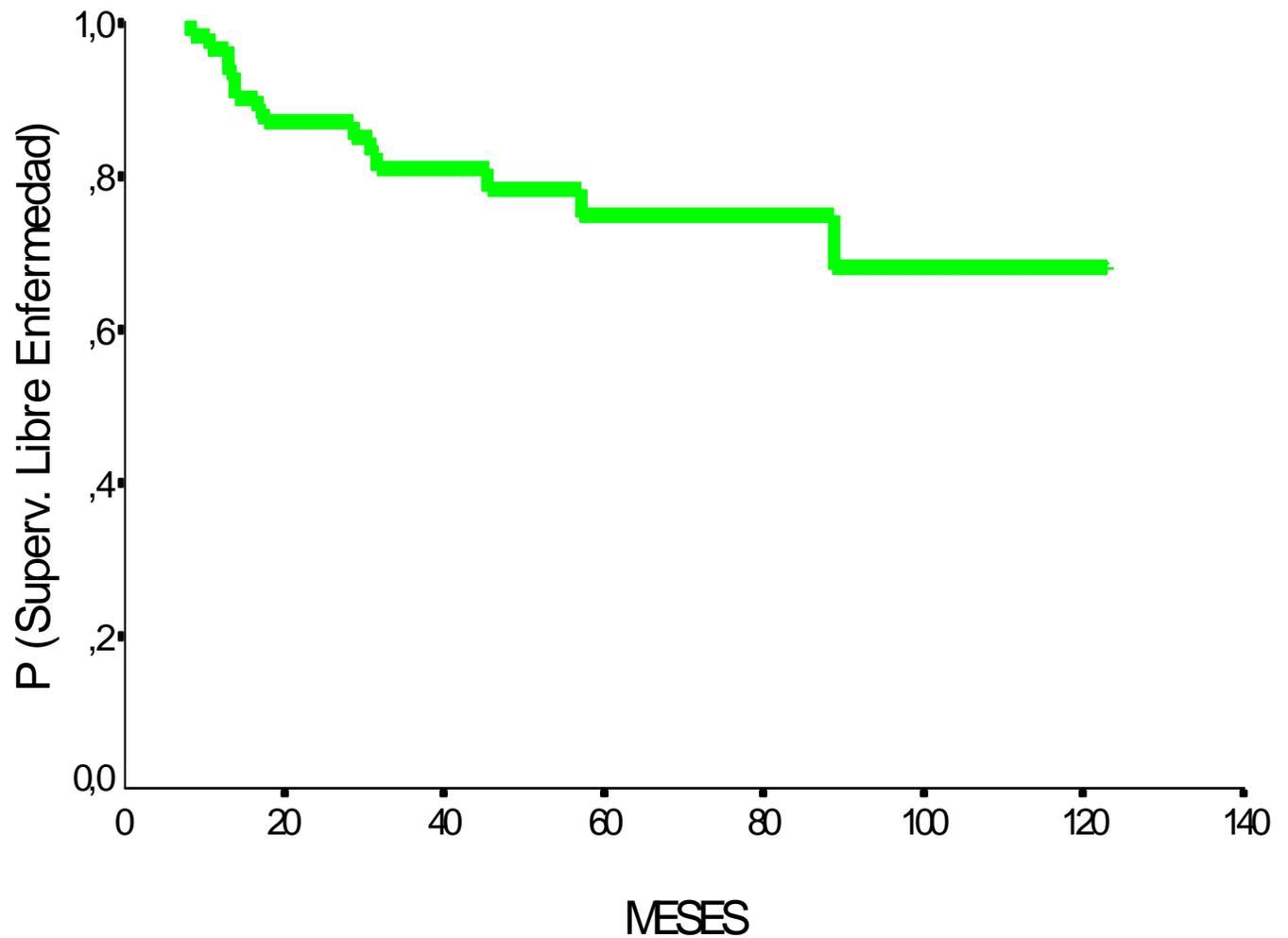
De los 62 pacientes del estudio 14 habían recaído, con una media de $27,8 \pm 22,5$ meses desde el diagnóstico. La recaída más precoz se produjo a los 8,4 meses y la más tardía a los 88,7 meses. Cinco pacientes han muerto y los otros nueve han recibido diversidad de tratamientos entre los que se encuentran la cirugía, radioterapia, quimioterapia e IFN intravenoso a dosis altas. Las características histológicas, el estadiaje y la localización de la recidiva se resumen en la tabla 4.7. La función representando la supervivencia libre de enfermedad de todo el grupo se representa en la gráfica 4.19.

Tabla 4.7. Características de los pacientes que recayeron.

Variable	Subgrupo	Nº pacientes
Diagnóstico histológico	MES	5
	MN	5
	MLA	3
	MMM	1
Ibreslow	<1,5 mm	1 (Clark IV)
	1,5-4	6
	>4	5
Nclark	II	1 (Breslow 2,1 + ulcerado)
	III	2
	IV	4
	V	6
AJCC	I	0
	II	11
	III	3
Ulcerado	Si	9
	No	4
Loc recidiva/metástasis	Local	6
	Adenopatía locorregional	5
	Pulmón	2
	SNC	1

MN: melanoma nodular; MLA: melanoma lentiginoso acral; MES: melanoma de extensión superficial; MMM: melanoma maligno metastásico de primario desconocido.

Gráfica 4.19. Supervivencia libre de enfermedad en pacientes con MMC tratados con IFN.



Probabilidad de supervivencia libre de enfermedad acumulada independientemente del estadio de la dosis.

4.6. Determinación de factores de riesgo

4.6.1. Análisis univariante

Todos aquellos factores que se pensaba podían influir sobre la supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad se han incluido en un análisis univariante para determinar qué factores influían sobre la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad.

La dosis de interferón no influye de forma estadísticamente significativa ni en la supervivencia global ($p=0,62$) ni en la supervivencia libre de enfermedad ($p=0,3$).

Mediante el empleo de la técnica “Log-rank” se identificaron los siguientes factores pronósticos.

4.6.1.1. Factores pronósticos para la supervivencia

El estadio avanzado, utilizando tanto el nivel de invasión de Clark como la clasificación de la AJCC, tiene un efecto pronóstico negativo sobre la supervivencia global. La presencia o ausencia de ulceración en el tumor primario también muestra una significación estadística importante ($p=0,0004$). Otra variable significativa es la edad. Tener más de 50 años se asocia con una menor probabilidad de supervivencia.

El sexo masculino confiere una menor supervivencia, que no alcanza, sin embargo, la significación estadística ($p=0,07$).

El índice de Breslow alcanza significación estadística cuando se agrupan los pacientes en dos categorías, melanomas finos ($<1,5$ mm) y melanomas intermedios-gruesos ($>1,5$ mm).

Todos estos datos se resumen en las tablas 4.8. y 4.9 y se representan gráficamente a continuación.

Tabla 4.8. Relación de variables estadísticamente significativas en el análisis univariante de la supervivencia global.

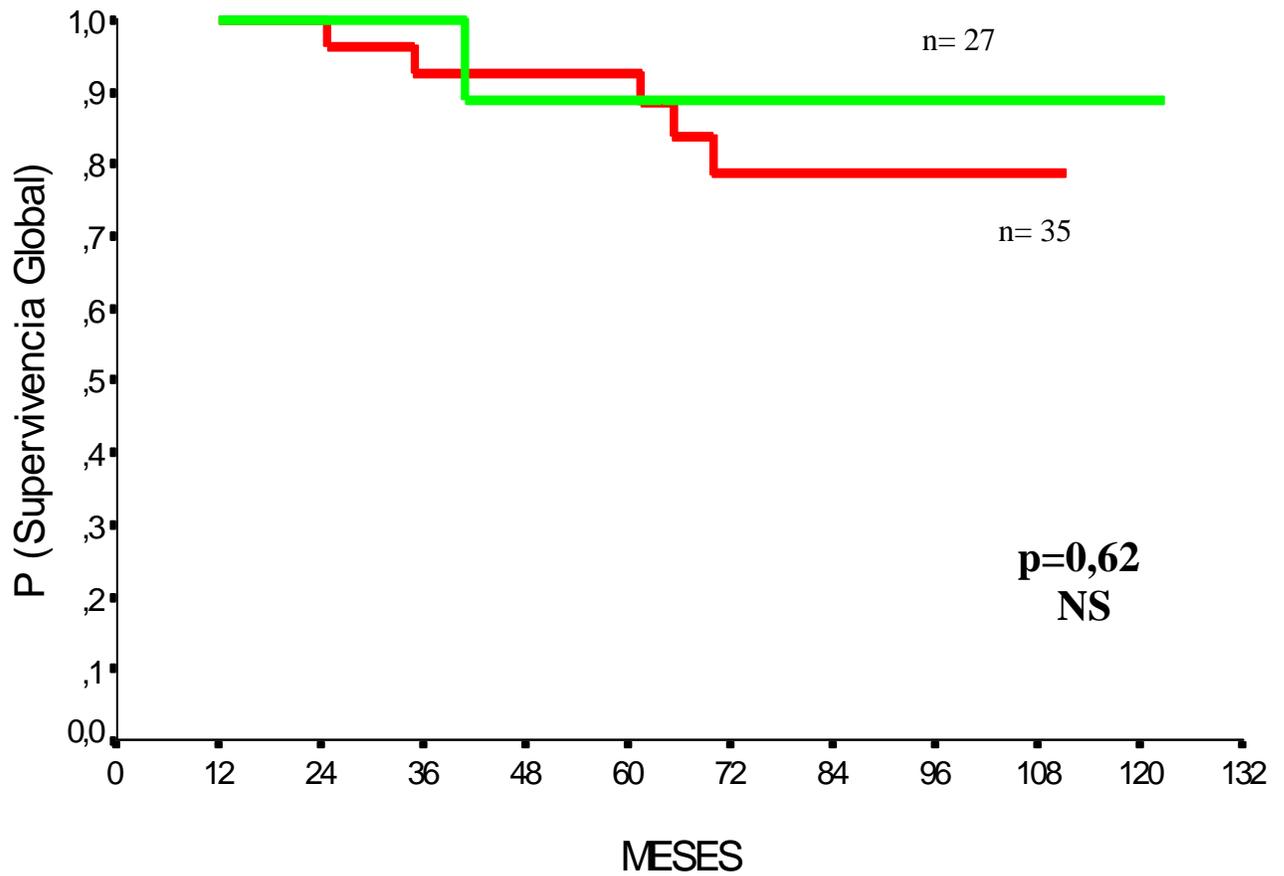
Variable	N pacientes	Log Rank P
Edad >50	62	0,013
Ulceración del Primario	58	0,0004
Márgenes Quirúrgicos (<1 cm; 1-2 cm; >2 cm)	58	0,046
Clasificación AJCC	62	0,0001
Nivel de invasión de Clark (II; III; IV; V)	59	0,0006
I Breslow (<1,5mm vs >1,5 mm)	58	0,0297

Tabla 4.9. Relación de variables que no alcanzan la significación estadística en el análisis univariante de la supervivencia global.

Variable	Log Rank P
Dosis de IF (5MU vs 10MU)	0,62
Inicio IF (<30 d vs 30-40 d vs >40d)	0,48
Sexo	0,075
Localización del Primario (Extremidades vs tronco vs cabeza/cuello)	0,93
Diagnóstico Histológico (MN+MLA vs MES+MLM+Otros)	0,21

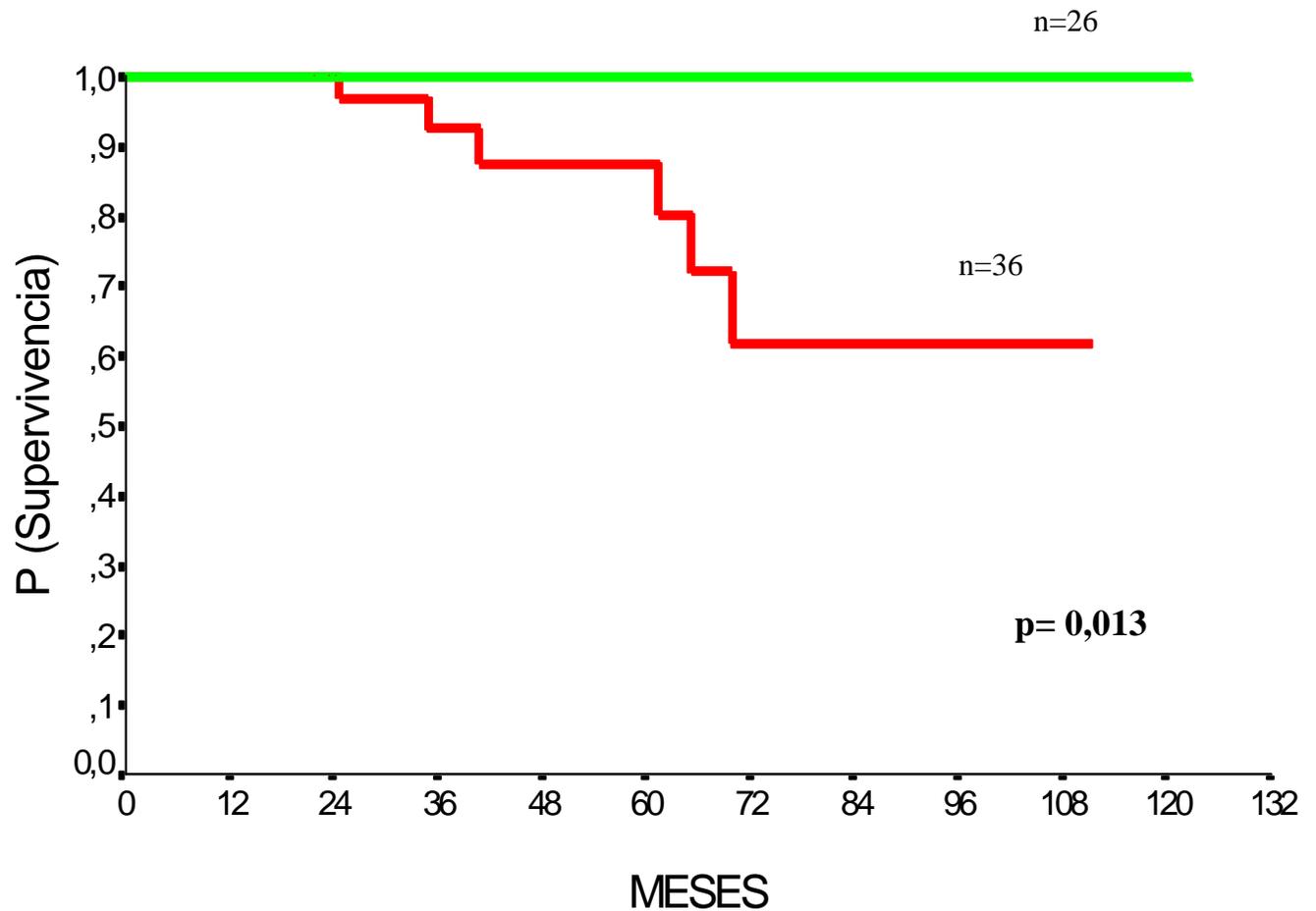
MN: melanoma nodular; MLA: melanoma lentiginoso acral; MES: melanoma de extensión superficial; MLM: melanoma léntigo maligno; MU: megaunidades.

Gráfica 4.20. Función de Supervivencia. Variable dosis de IFN.



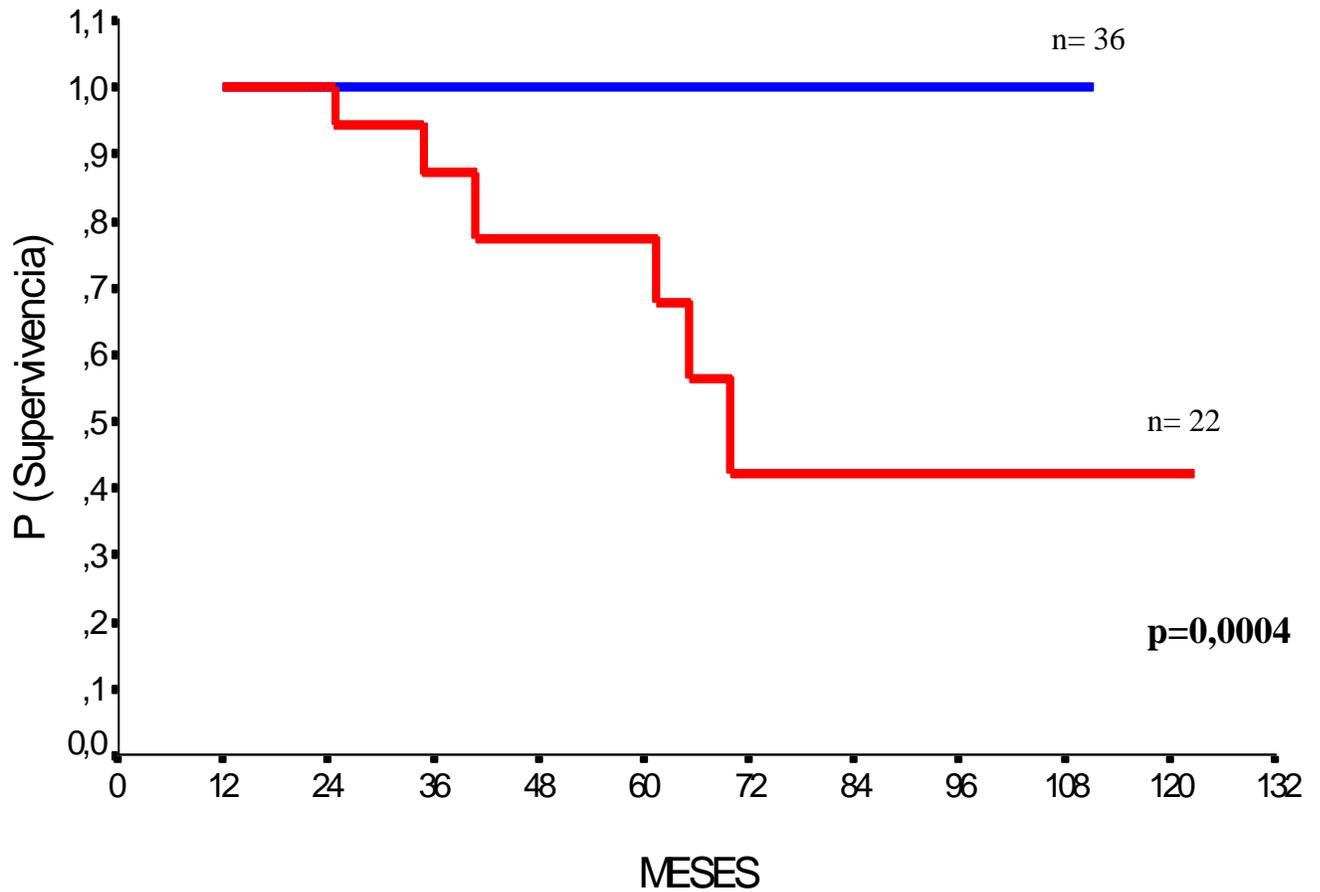
Probabilidad de supervivencia global según la dosis de IFN. En rojo se represente 5 MU, en verde 10 MU.

Gráfica 4.21. Función de supervivencia. Variable edad.



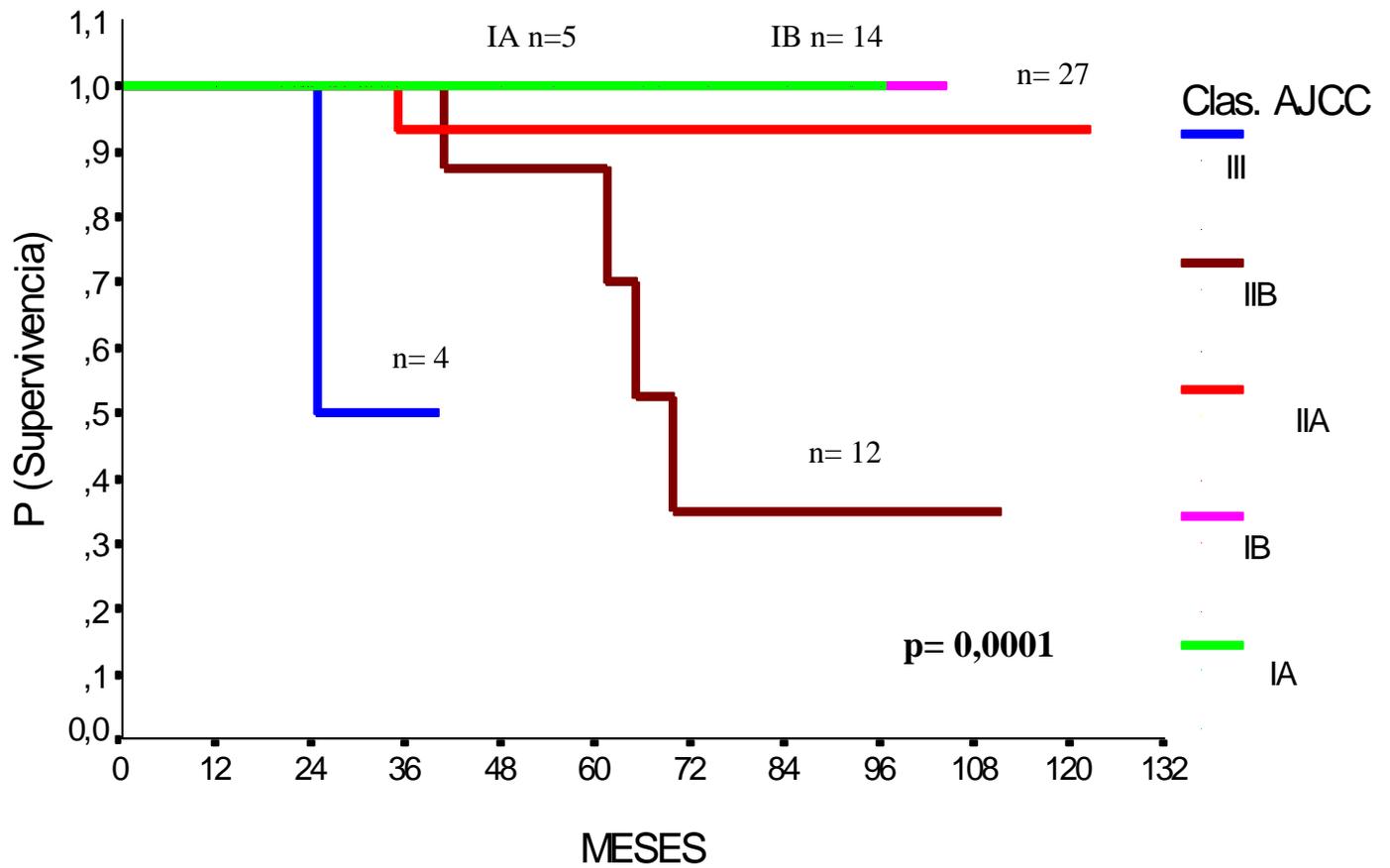
Probabilidad de supervivencia global según la edad del paciente al diagnóstico. En rojo se representa edad >50 años y en verde edad <50 años.

Gráfica 4.22. Función de Supervivencia. Variable ulceración del primario.



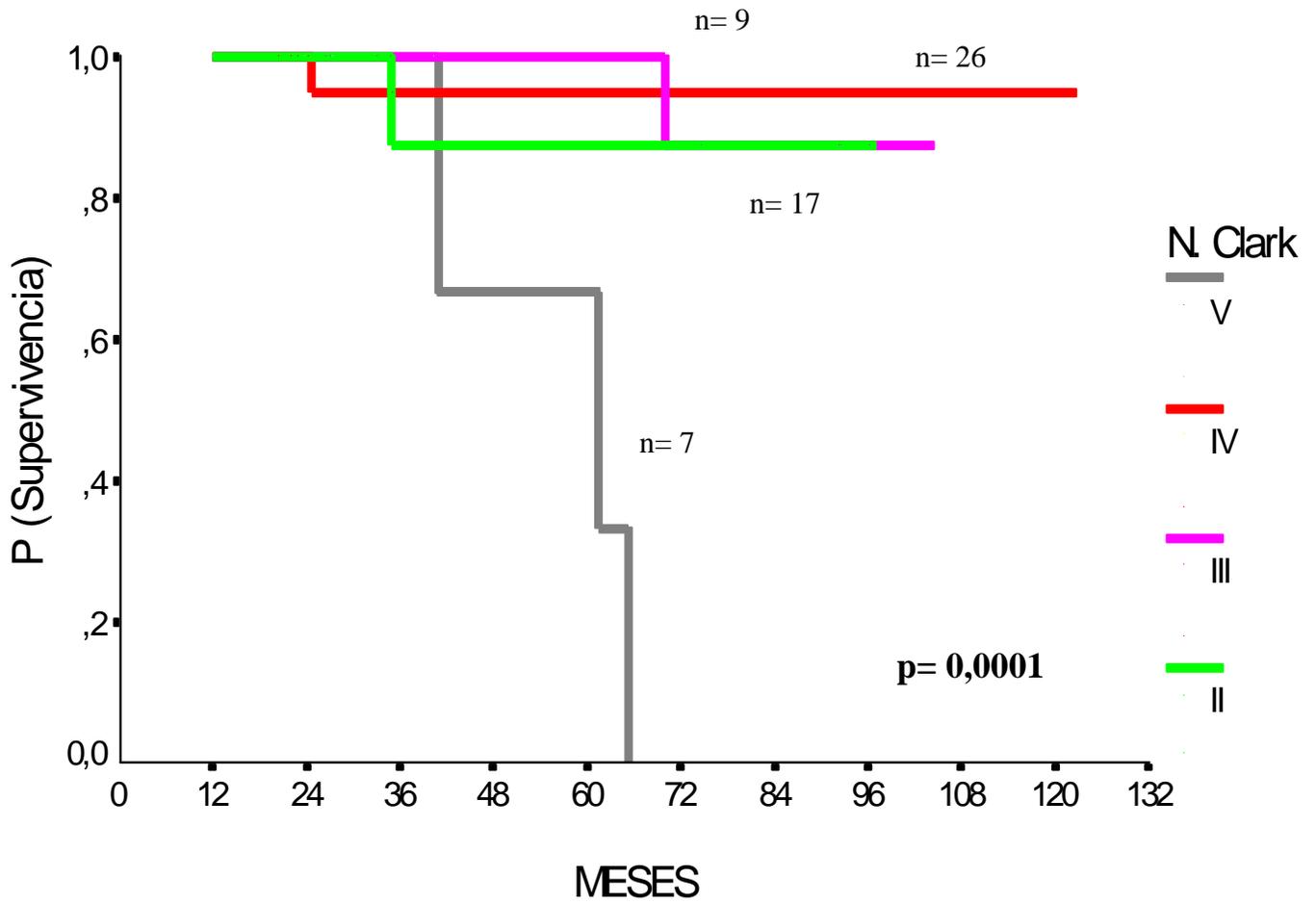
Probabilidad de supervivencia global según la presencia de ulceración en el primario. En rojo se representa la presencia de ulceración y en azul la ausencia.

Gráfica 4.23. Función de supervivencia. Variable clasificación de la AJCC.



Probabilidad de supervivencia global según los estadíos de la AJCC.

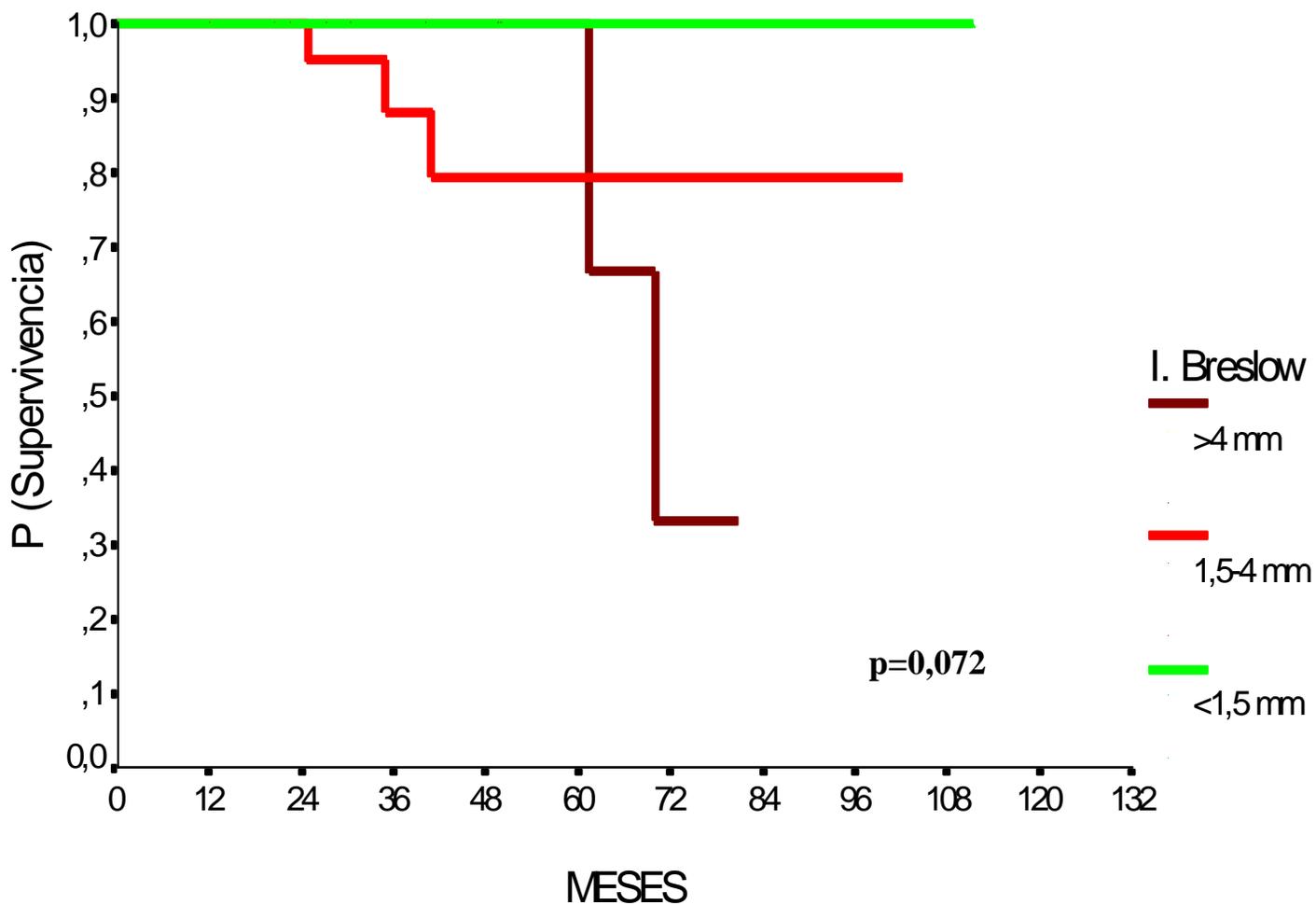
Gráfica 4.24. Funciones de Supervivencia. Variable Nivel de invasión de Clark.



Probabilidad de supervivencia global según el nivel de invasión de Clark

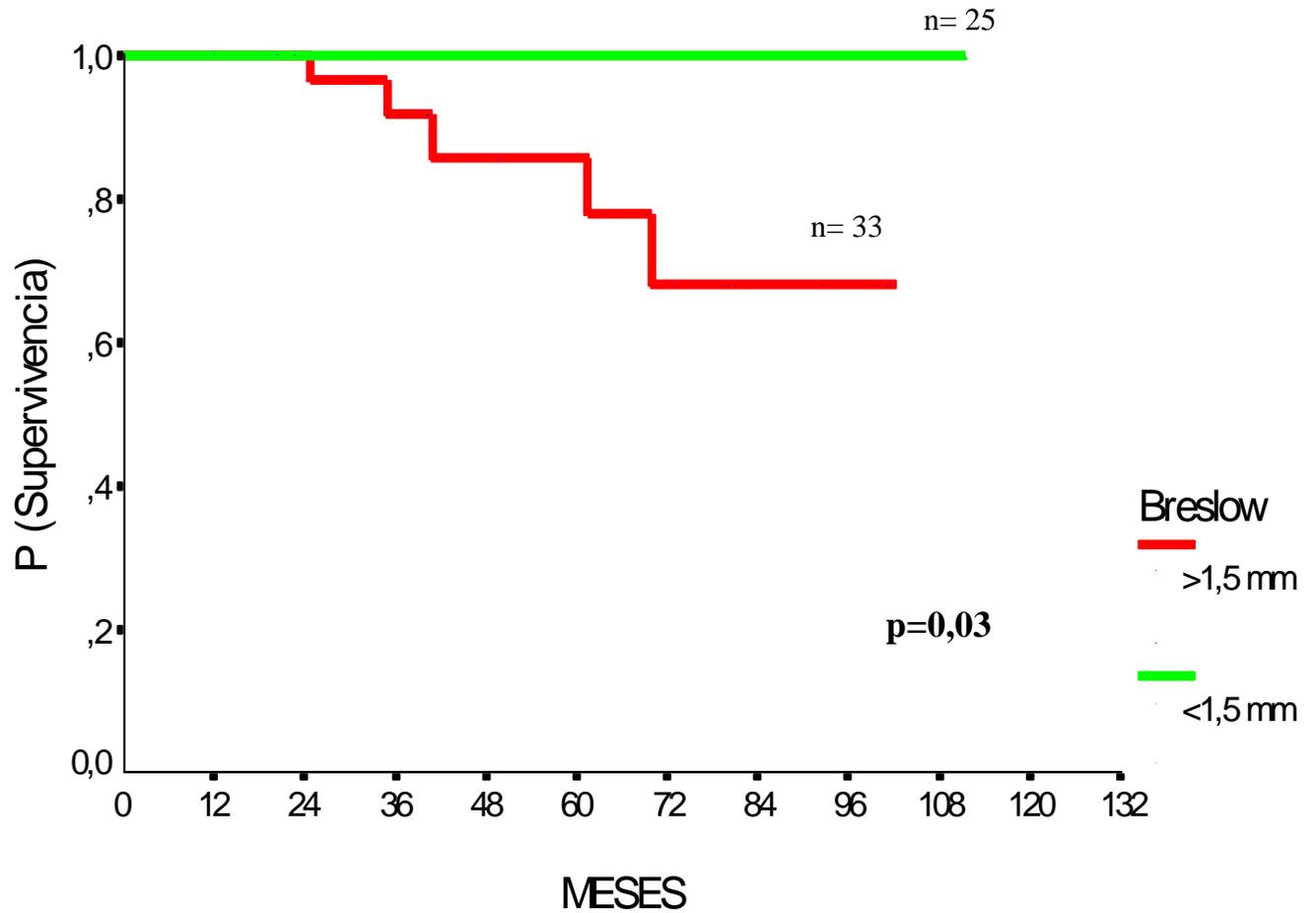
Gráfica 4.25. Funciones de Supervivencia. Variable Espesor del Melanoma según índice de Breslow.

Probabilidad de supervivencia global según el espesor del melanoma de acuerdo con el índice de



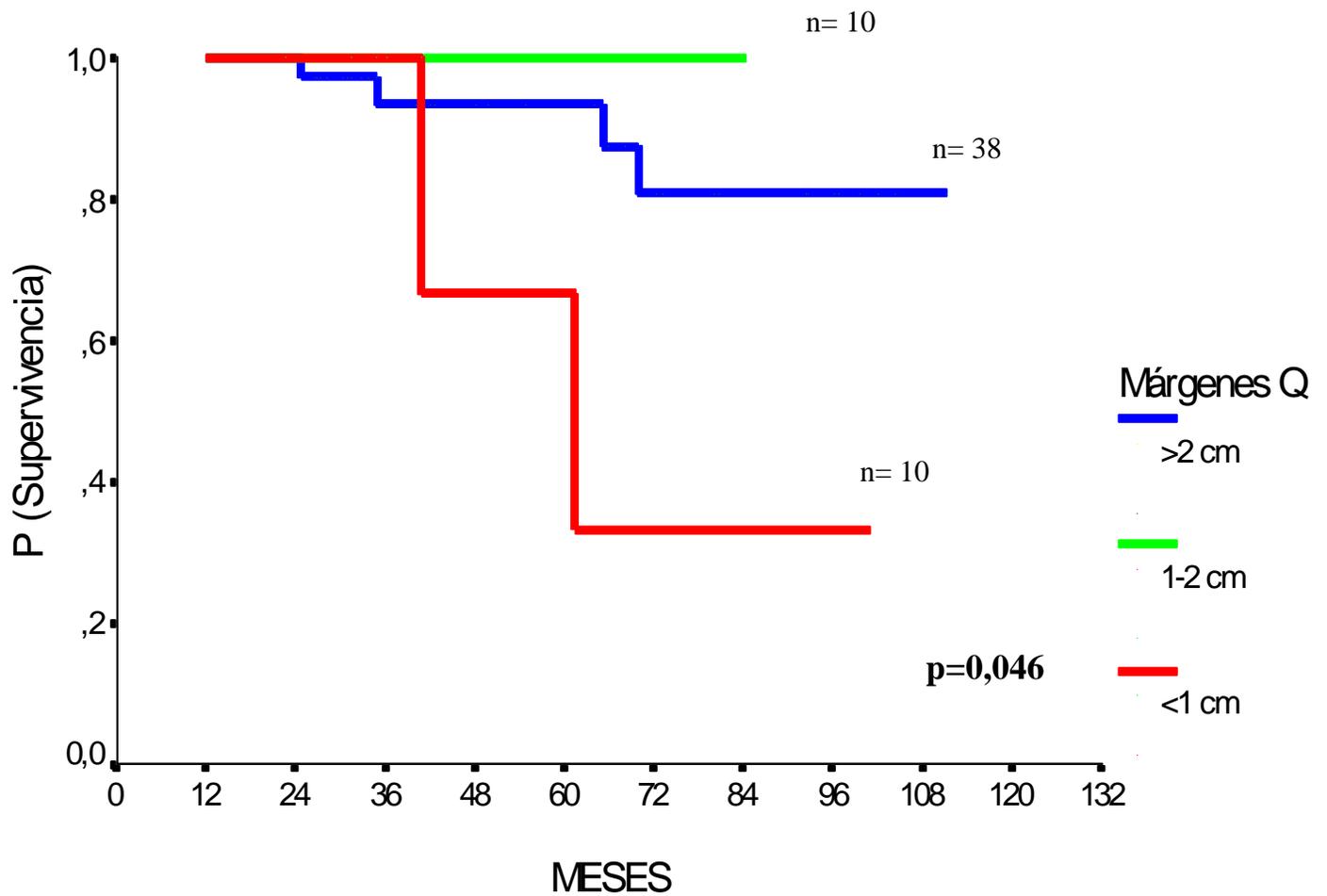
Breslow

Gráfica 4.26. Funciones de Supervivencia. Variable Espesor del Melanoma según índice de Breslow.



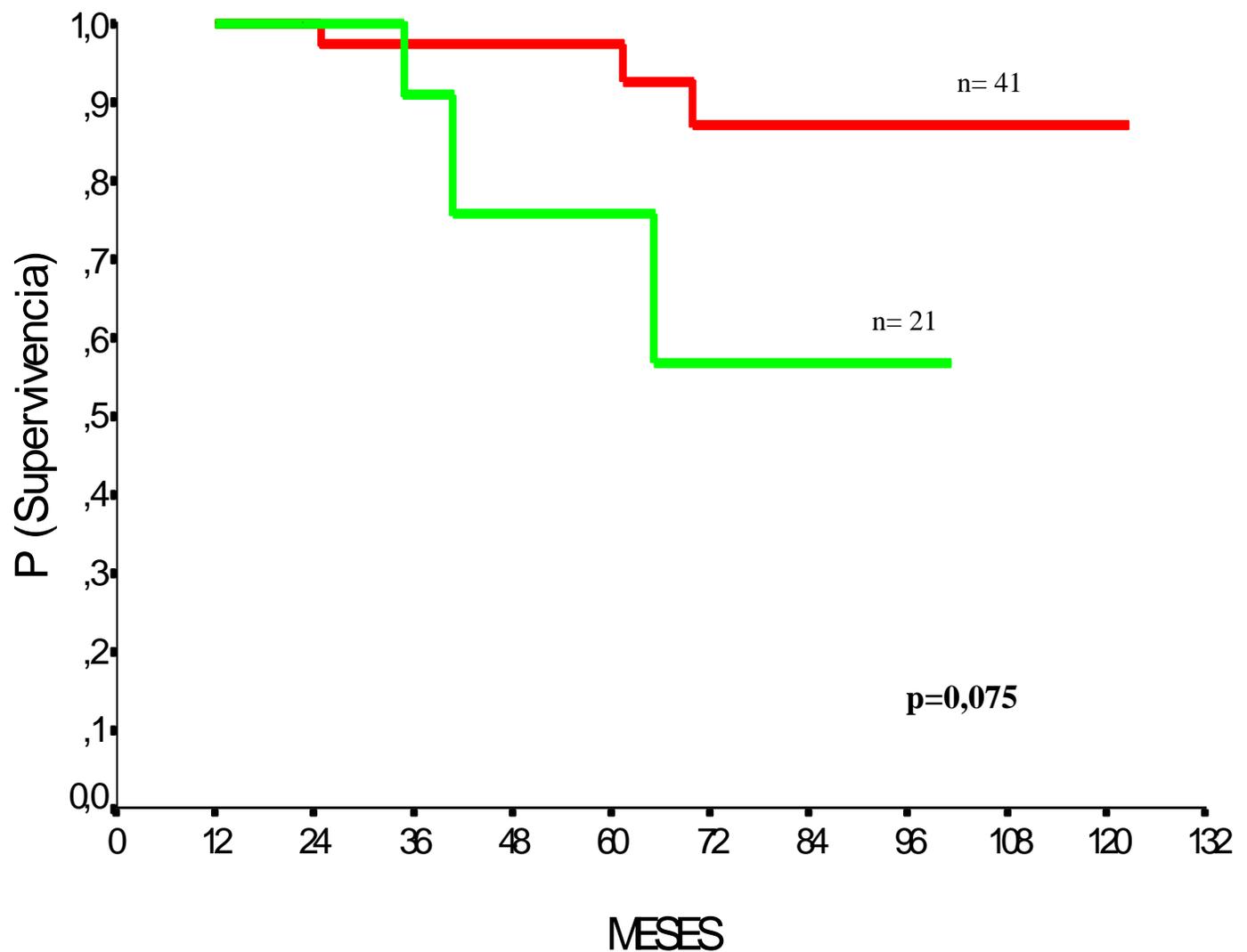
Probabilidad de supervivencia global según el espesor del melanoma de acuerdo con el índice de Breslow (se han agrupado los melanomas con Breslow 1,5-4 mm con los >4 mm).

Gráfica 4.27. Funciones de Supervivencia. Variable Márgenes Quirúrgicos.



Probabilidad de supervivencia global según los márgenes de resección.

Gráfica 4.28. Funciones de Supervivencia. Variable Márgenes Sexo.



Probabilidad de supervivencia global según el sexo. En rojo se representa el sexo femenino, en verde el sexo masculino.

4.6.1.2. Factores pronósticos para la supervivencia libre de enfermedad

El estadio avanzado, de nuevo, tiene un efecto pronóstico negativo sobre la supervivencia libre de enfermedad, así el índice de Breslow, el nivel de invasión de Clark o el estadio de la AJCC influyen de forma significativa sobre la supervivencia libre de enfermedad. Otras variables significativas son los márgenes quirúrgicos, la duración del tratamiento con IFN en meses (MESTTO), el sexo (peor pronóstico en el caso de los varones) y la presencia de ulceración en el tumor primario.

En la tabla 4.10. se resumen estos hallazgos que se representan gráficamente en las páginas siguientes. En la tabla 4.11. se muestran las variables que no fueron significativas.

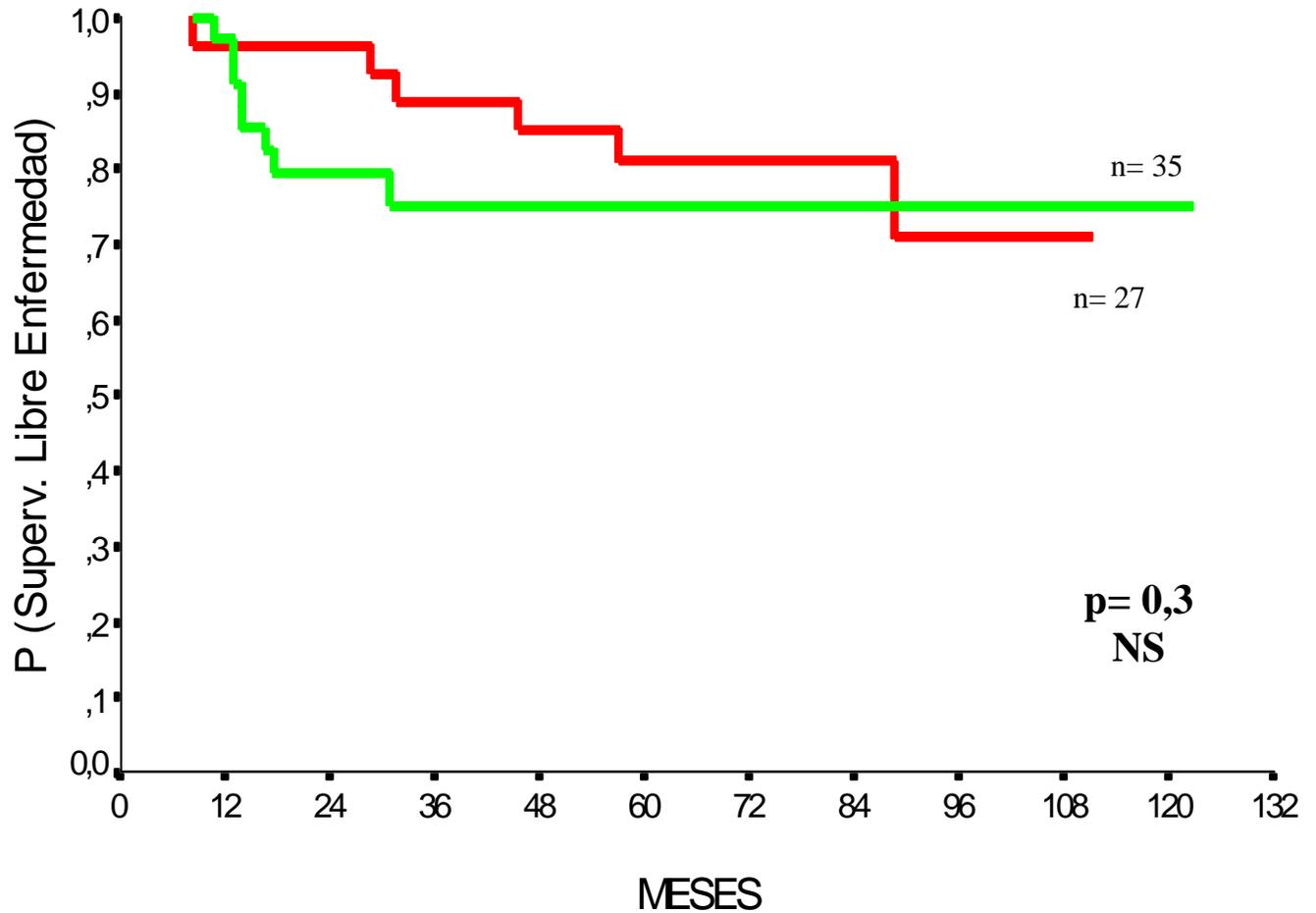
Tabla 4.10. Variables que muestran significación estadística en el análisis univariante.

Variable	N pacientes	Log Rank P
Sexo	62	0,0129
Ulcera Primario	58	0,01
Marg. Quirúrg.	58	0,0004
N Clark	59	<0,0001
I Breslow	58	0,0068
Clas AJCC	62	<0,0001
MESTTO	62	0,0003

Tabla 4.11. Variables que no muestran significación estadística en el análisis univariante.

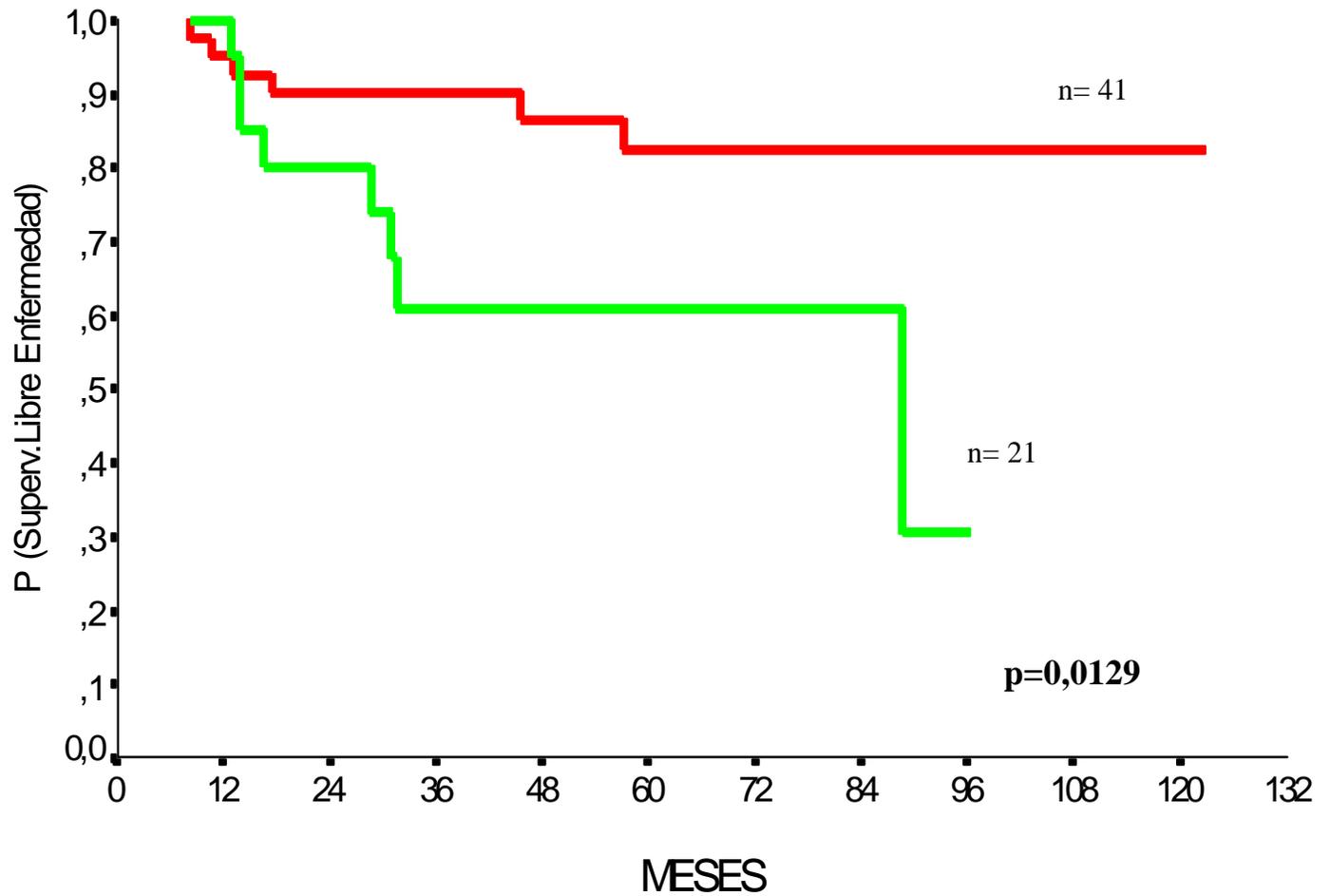
Variable	Log Rank P
Edad	0,0707
Diagnóstico Histológico (MN+MLA vs MES+MLM+Otros)	0,47
Localización del Primario (Extremidades vs tronco vs cabeza/cuello)	0,11
Dosis de IF (5MU vs 10MU)	0,3
Inicio IF (<30 d vs 30-40 d vs >40d)	0,99

Gráfica 4.29. Función de Supervivencia Libre de Enfermedad. Variable dosis de interferón.



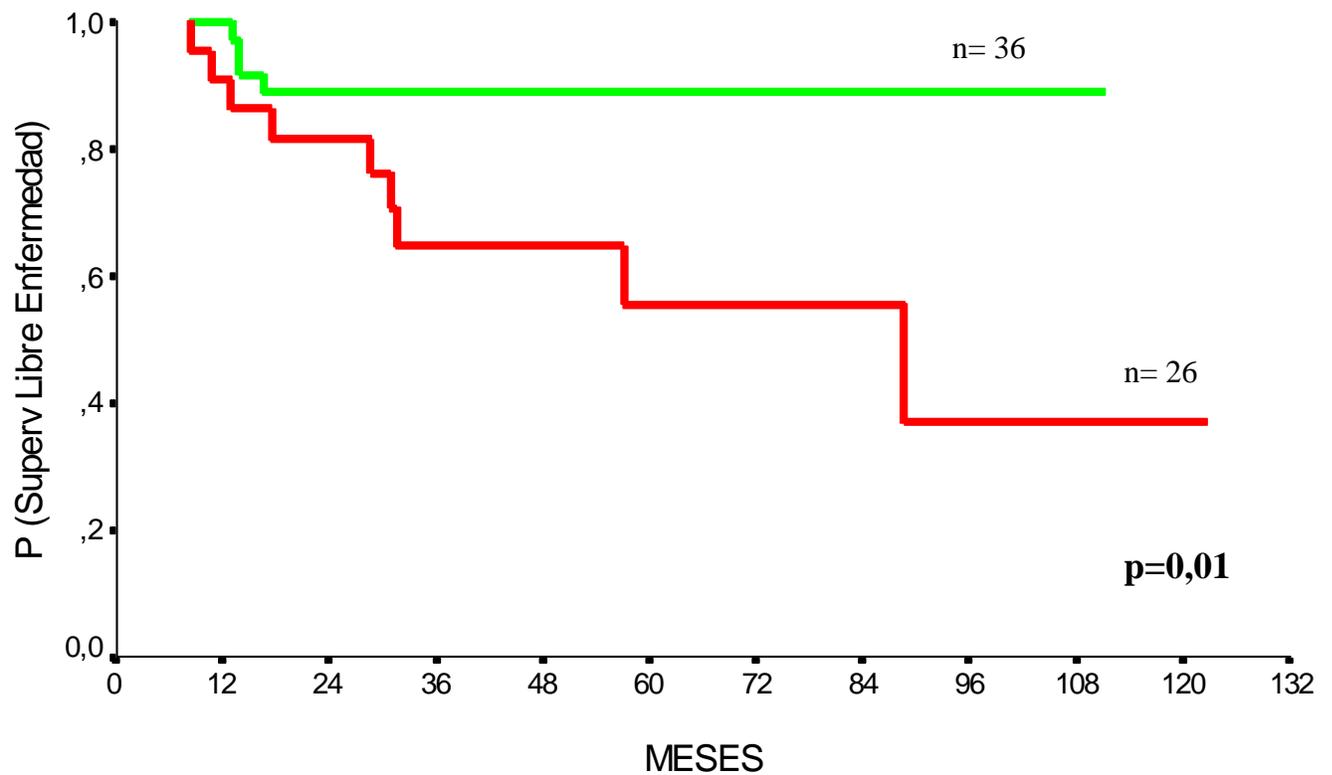
Probabilidad de supervivencia libre de enfermedad según la dosis de IFN. En rojo se representa 10 MU y en verde 5 MU.

Gráfica 4.30. Funciones de Supervivencia. Variable Sexo.



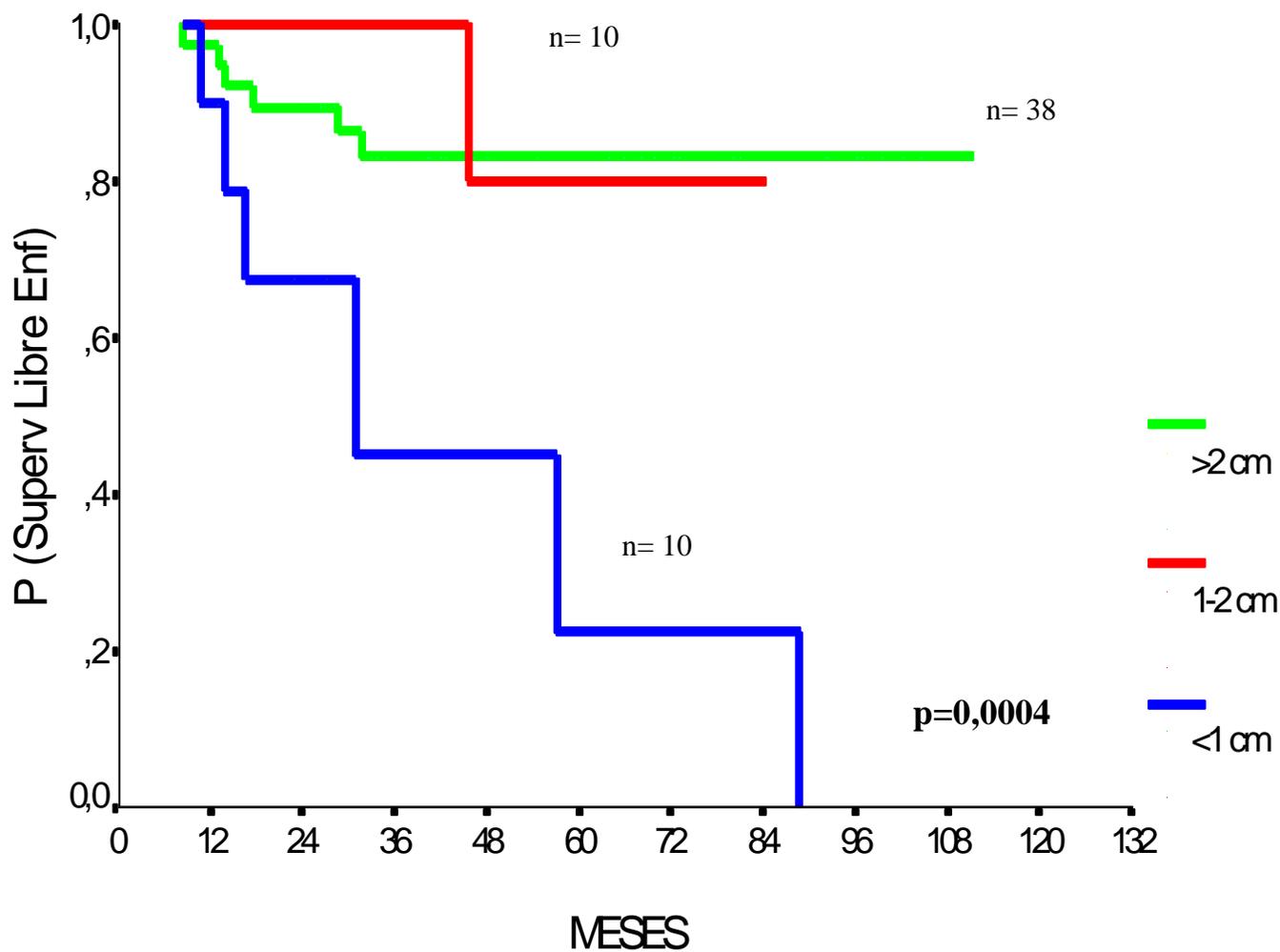
Probabilidad de supervivencia libre de enfermedad según el sexo. En rojo se representa sexo femenino y en verde sexo masculino.

Gráfica 4.31. Funciones de Supervivencia. Variable Ulceración



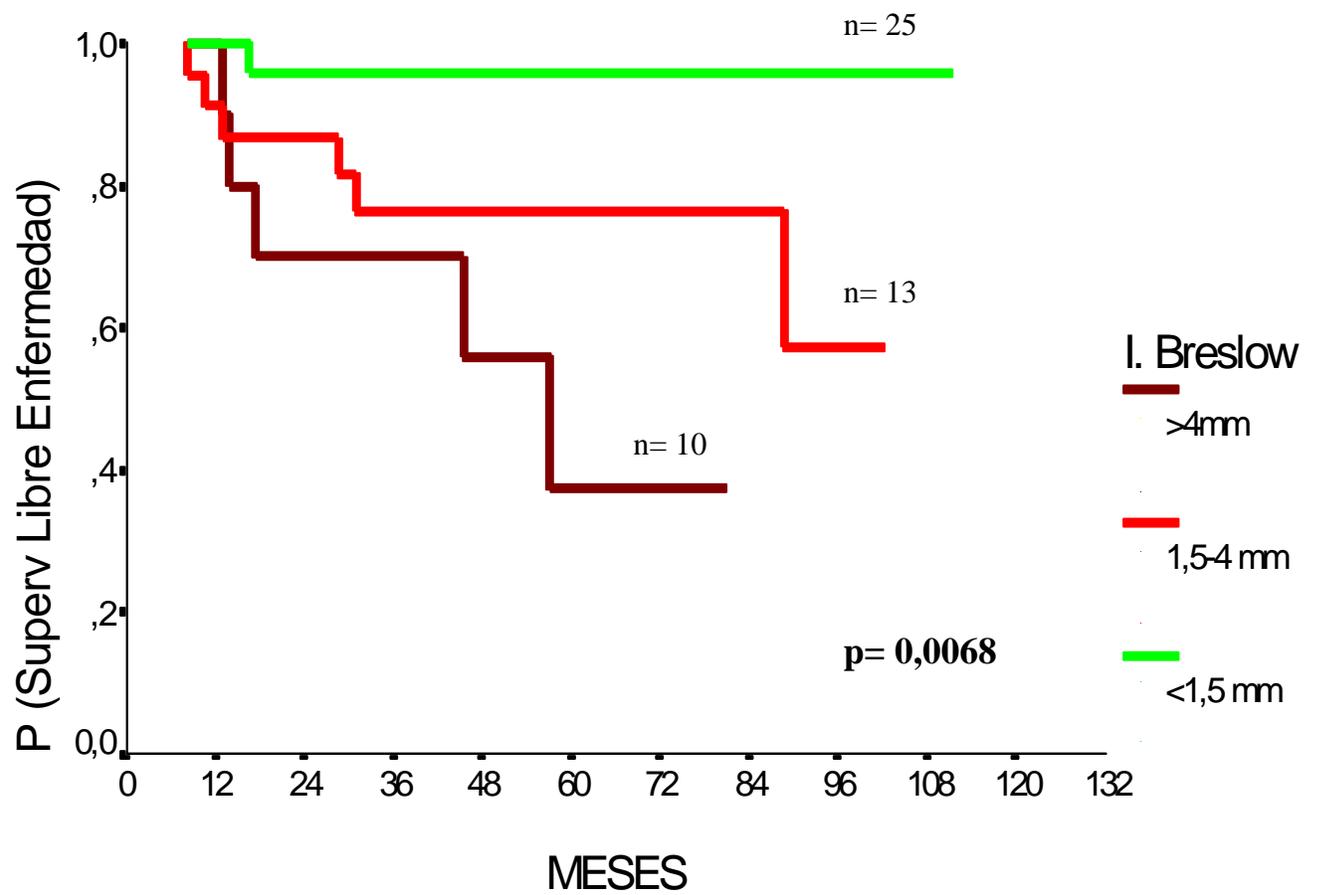
Probabilidad de supervivencia libre de enfermedad según la presencia de ulceración en el primario. En rojo se representa la presencia de ulceración y en verde la ausencia.

Gráfica 4.32. Funciones de Supervivencia. Variable márgenes quirúrgicos.



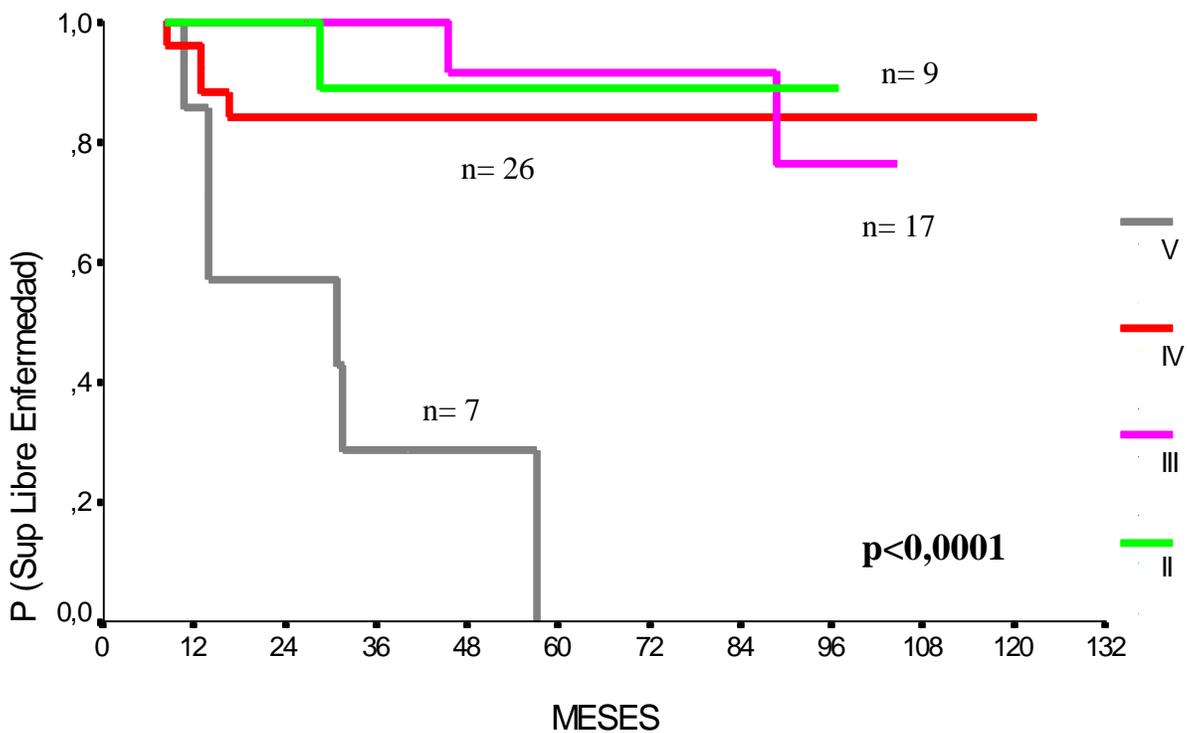
Probabilidad de supervivencia libre de enfermedad según el margen, en centímetros, desde el borde de la excisión al borde de la lesión.

Gráfica 4.33. Funciones de Supervivencia. Variable Índice de Breslow.



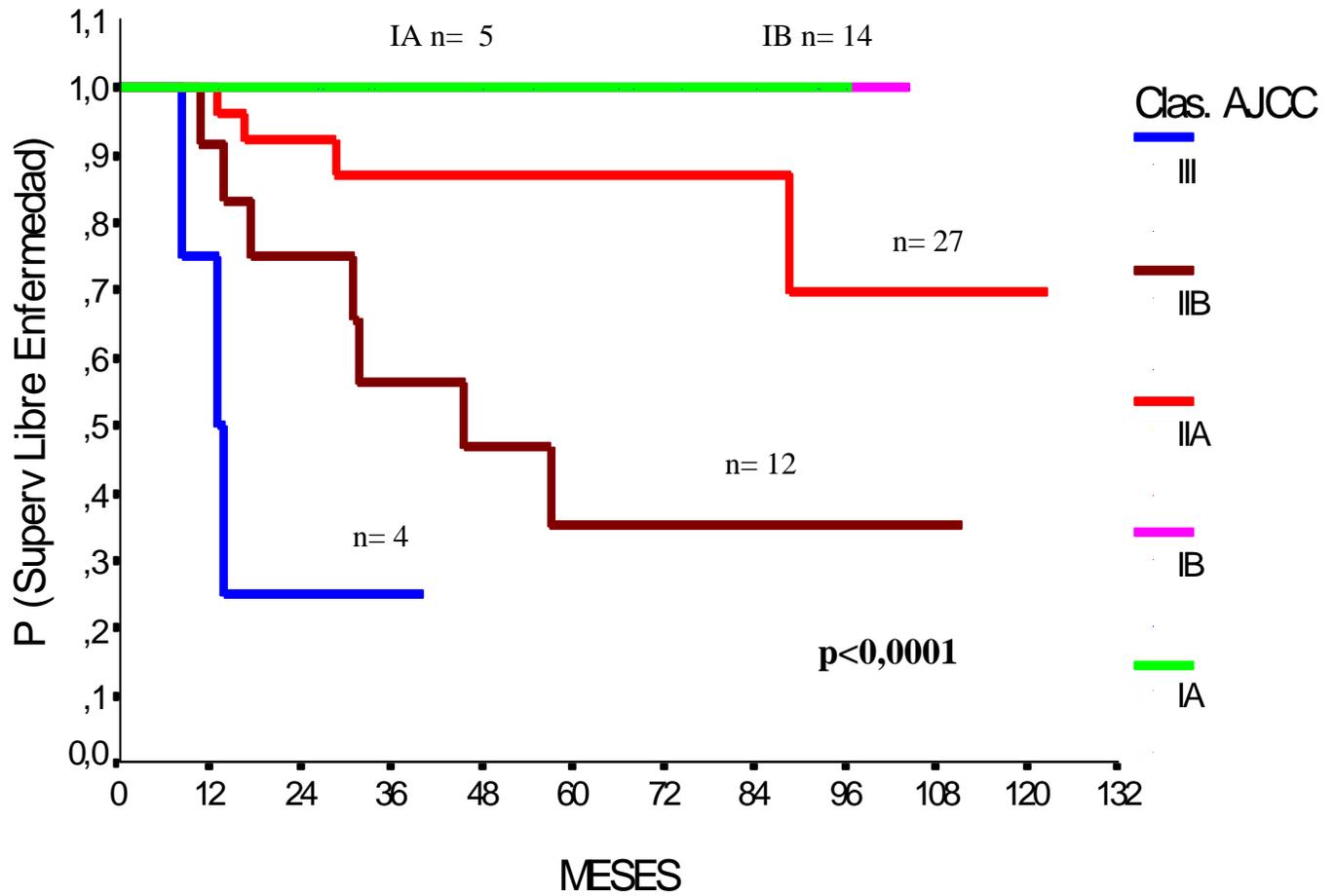
Probabilidad de supervivencia libre de enfermedad según el índice de Breslow.

Gráfica 4.34. Funciones de Supervivencia. Variable Nivel de invasión de Clark.



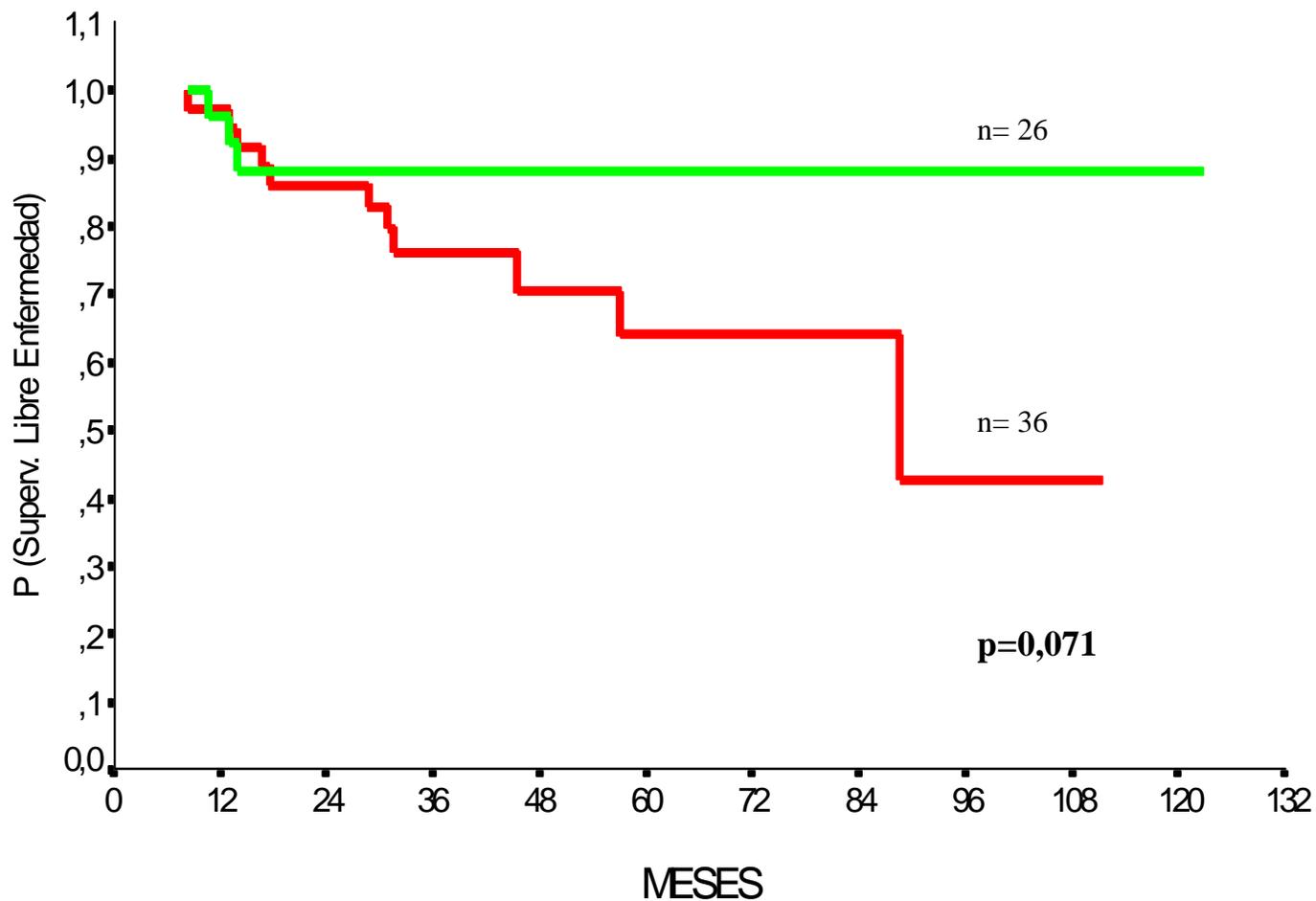
Probabilidad de supervivencia libre de enfermedad según el nivel de invasión de Clark.

Gráfica 4.35. Funciones de Supervivencia. Variable clasificación de la AJCC.



Probabilidad de supervivencia libre de enfermedad según la clasificación de la AJCC.

Gráfica 4.36. Funciones de Supervivencia. Variable edad.



Probabilidad de Supervivencia Libre de Enfermedad según la edad del paciente al diagnóstico. En rojo se representa edad ≥ 50 y en verde edad < 50 .

4.6.2. Análisis multivariante

Para el estudio multivariante se seleccionaron las variables que resultaron significativas en el estudio univariable y alguna otra no significativa que se consideró de interés clínico.

El proceso de selección de variables ha sido el del logaritmo de máxima verosimilitud, que proporciona una ordenación cualitativa de las variables según su importancia pronóstica.

En todos los casos, se presenta primero una tabla con las variables seleccionadas por el análisis multivariante, como factores pronósticos, por orden de importancia, acompañadas de la respectiva significación estadística.

Posteriormente, figura la ecuación por la que se puede predecir que ocurra el evento analizado a partir de los coeficientes de regresión.

4.6.2.1. Factores Pronósticos para la Supervivencia

Hay únicamente una variable seleccionada por el análisis multivariante. Esta, la presentación o no de ulceración, es la que puede justificar por sí sola, la duración de la supervivencia en la serie evaluada.

	p
ULCERACION	0,0002

La ecuación que nos permite estimar el riesgo de muerte vs. una función de riesgo normal ($h_0(t)$), es la siguiente:

$$\ln [h_i(t)/h_0(t)] = -5,7588 \times (\text{ULCERACION} - X_{\text{ULCERACION}})$$

donde \ln es el logaritmo neperiano del riesgo del paciente i , y X es la media de los valores de ulceración de la serie completa.

4.6.2.2. Factores pronostico para la supervivencia libre de enfermedad

Cuatro son las variables que condicionan la duración de la Supervivencia libre de enfermedad. Se muestran en orden de importancia en la siguiente tabla:

	p

MESTTO	0,0013
CLASAJCC	< 0,0001
IBRESLOW	0,0165
ULCERACION	0,0482

En el caso de la supervivencia libre de enfermedad, la ecuación que nos permite estimar el riesgo de recurrencia por unidad de tiempo para cada paciente vs. una función de riesgo normal ($h_0(t)$), es la siguiente:

$$\begin{aligned} \ln [h_i(t)/h_0(t)] = & (-0,1551 \times (\text{MESTTO} - X_{\text{MESTTO}}) + \\ & + (2,5681 \times (\text{CLASAJCC} - X_{\text{CLASAJCC}}) + \\ & + (- 1,1682 \times (\text{IBRESLOW} - X_{\text{IBRESLOW}}) + \\ & + (- 1,3478 \times (\text{ULCERACION} - X_{\text{ULCERACION}}) \end{aligned}$$

donde \ln es el logaritmo neperiano del riesgo del paciente i , y X es la media de los valores de ulceración de la serie completa

5. DISCUSIÓN

5.1. No se encontraron diferencias en cuanto a SG y SLE entre los 2 regímenes.

La dosis de IFN de 10 MU bisemanal durante 2 años precedida de 10 MU diario durante 1 semana no mejora de forma significativa ni la supervivencia global ni la supervivencia libre de enfermedad, con respecto a la administración bisemanal de 5 MU durante 2 años precedido de 5 MU diario durante 1 semana.

Cuando se introdujo la variable dosis de IFN en el análisis univariante no se alcanzó la significación estadística ni en el estudio de la supervivencia ($p=0,62$), ni en el estudio de la supervivencia libre de enfermedad ($p=0,3$). La técnica estadística empleada, el “Log-rank”, permite el estudio de muestras pequeñas ya que es capaz de detectar cualquier diferencia entre las distribuciones de supervivencia por pequeña que ésta sea.

Cuando se analiza el comportamiento de los dos grupos en la gráfica de supervivencia se evidencia que ambos tienen un comportamiento muy similar y que las diferencias, una vez alcanzada la fase de “plateau” es pequeña (supervivencia del 80% en el grupo que recibe 5 MU y del 90% en el grupo que recibe 10 MU), por lo que no es probable que la diferencia alcance significación estadística aumentando el seguimiento. Por otra parte, la técnica utilizada permite detectar diferencias entre los dos grupos aunque éstos sean pequeños, por lo que tampoco parece probable que difiriesen significativamente si estuviesen integrados por más pacientes.

En cuanto al riesgo de recaída es mayor en el grupo de menor dosis en los 8 primeros años, si bien hay que observar que en este grupo la fase de meseta se alcanza más

precozmente. En el grupo de 10 MU se producen recaídas tardías que invierten la probabilidad libre de enfermedad a partir del 8º año. En todo caso las diferencias son pequeñas y las funciones globales no difieren entre sí significativamente.

Los estudios iniciales en los que se perseguía una escalada de dosis de IFN condujeron al empleo de dosis altas de IFN.

El estudio ECOG#1684 es el único que, hasta la fecha, ha demostrado un incremento en la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad con la utilización de IFN α 2b como tratamiento adyuvante de la cirugía en pacientes con alto riesgo de recidiva. La toxicidad fue considerable y en el 75% de los pacientes se precisó modificación de la dosis (Kirkwood et al, 1996).

La elevada toxicidad de que se acompañó el estudio ECOG#1684 ha impulsado a otros grupos a ensayar dosis más bajas de IFN. Así el North Central Cancer Treatment Group diseñó un protocolo con dosis intermedias de IFN (20 MU 3 veces por semana durante 12 semanas), pero no obtuvo beneficio en supervivencia o supervivencia libre de enfermedad (Creagan et al, 1995).

La OMS diseñó un estudio, denominado WHO#16, con dosis bajas de IFN (3 MU 3 veces por semana durante 3 años). Inicialmente mostró un incremento en supervivencia global y libre de enfermedad en hombres mayores de 50 años y en mujeres menores de 50 años (Cascinelli et al, 1994). Una actualización de dicho protocolo no corroboró el beneficio inicial (Agarwala y Kirwood, 1996).

Estos protocolos tenían en común que eran aplicados en pacientes considerados de alto riesgo de recidiva, bien porque el grosor tumoral excedía los 4 mm o porque tenían afectación ganglionar intra o extracapsular.

Cuando se emplearon dosis bajas de IFN en pacientes con melanoma > 1,5 mm sin afectación ganglionar, se obtuvo un incremento en la supervivencia libre de enfermedad, aunque con un seguimiento de 2,3 años (Grob et al, 1996).

Finalmente el estudio de la EORTC#18952 compara dos regímenes de tratamiento adyuvante de mantenimiento con IFN utilizando 10 MU vs 5 MU tres veces por semana durante 1 año, en pacientes con melanomas T4 o con cualquier T y afectación ganglionar. A tenor de los resultados obtenidos en nuestro trabajo, no deberían existir diferencias significativas entre los dos grupos de tratamiento con IFN. Los resultados del estudio de la EORTC#18952 aún no han sido publicados.

Parece deducirse de lo publicado hasta la fecha, que en tumores gruesos (> 4 mm) y afectación adenopática se precisan dosis más altas de IFN que en melanomas entre 1,5 y 4 mm para evidenciar un beneficio neto en el tratamiento adyuvante con IFN frente a observación tras cirugía. Permanece abiertas sin embargo, las siguientes cuestiones:

¿Es necesario un tratamiento con IF a altas dosis como inducción o es suficiente con el beneficio obtenido con el ensayo E1684?

¿Puede el tratamiento más prolongado con IF prolongar la supervivencia?

¿Es mejor el tratamiento precoz con IF, cuando las metastasis ganglionares microscópicas se extraen, o es preferible el tratamiento adyuvante tardío, cuando las adenopatías groseramente positivas se resecan como parte de una cirugía terapéutica?

¿Cuál es la dosis óptima de interferón?

Con respecto a esto último si bien tampoco podemos aportar una respuesta definitiva si hemos demostrado que cuando se emplean dosis de IFN de 5 y 10 MU administradas de forma subcutánea bisemanal durante 2 años, no hay diferencias en cuanto a supervivencia libre de enfermedad o supervivencia global, por lo que debería optarse por el tratamiento de menor dosis (5 MU).

5.2. La supervivencia libre de enfermedad estimada a 8 años es del 100% en pacientes en estadio I.

Con el tratamiento adyuvante con IFN a dosis bajas se ha obtenido una supervivencia libre de enfermedad estimada a 8 años del 100% en pacientes en estadio I de la AJCC. La probabilidad de supervivencia global es también del 100%.

Los resultados en pacientes en estadio IIA también son esperanzadores con una SLE estimada a 8 años del 70%, y una supervivencia superior al 90% en el mismo período. De distinta forma se han comportado los pacientes con melanomas con mayor carga tumoral como es el caso de pacientes en estadios IIB y III según los criterios de la AJCC. En estos casos tanto la supervivencia libre de enfermedad como la supervivencia global no difieren significativamente y se mantienen por debajo del 40% la SLE y del 50% la SG a 3 años en el estadio III y a 8 años en el estadio IIB (cuando se alcanzan las mesetas respectivas).

Estos resultados sugieren que las dosis bajas de IFN como tratamiento adyuvante de la cirugía son más efectivas en estadios precoces, con menor carga tumoral, en donde la cirugía alcanza supervivencias del 90% a 8 años en estadios I y del 60% en estadios II (Balch et al, 1997). Se precisa de estudios prospectivos randomizados para confirmar esta tendencia.

La mayor parte de los trabajos publicados hasta la fecha utilizan el IFN como tratamiento adyuvante de la cirugía en pacientes con melanomas en estadios avanzados IIB o III, en los que la masa tumoral es mayor y se precisa tanto del efecto tumoricida como del efecto inmunomodulador del IFN (Kirkwood et al, 1996).

Si bien la probabilidad de recidiva en pacientes en estadios IB y IIA es inferior, en el momento que se produce la misma el tumor suele tener un comportamiento mucho más agresivo, siendo refractario a cualquier modalidad de tratamiento.

Otros grupos han comunicado resultados esperanzadores en pacientes con melanomas en estadios I-II.

En este sentido el grupo austríaco utilizó dosis bajas de INF (entre 2 y 3 MU tres veces por semana durante 20 meses) en pacientes con melanomas en estadio I-II. Comparados con

un grupo control no randomizado de la misma institución evidenciaron una menor tasa de recidivas durante el tratamiento. No demostraron, sin embargo un efecto significativo sobre la supervivencia global o la supervivencia libre de recaída (Kokoschka et al, 1990).

El grupo francés ha comunicado recientemente que la utilización IFN como terapia adyuvante de la cirugía en pacientes con melanoma > 1,5 mm sin afectación ganglionar, incrementaba la supervivencia libre de enfermedad. No observaron diferencias en cuanto a supervivencia global atribuyéndolo a la baja incidencia de muertes (14%). De nuevo emplean dosis bajas de IFN, 3MU sc tres veces por semana durante 18 meses vs observación (Grob et al, 1996).

Nosotros comunicamos unos resultados esperanzadores, con un 100% de supervivencia libre de enfermedad a 8 años y aunque no podemos concluir que el IFN produzca un beneficio significativo en la supervivencia en este grupo, al no poseer grupo control randomizado, creemos que deberían llevarse a cabo estudios prospectivos multicentricos y randomizados que evalúen la terapia adyuvante con IFN en pacientes con melanoma de grosor intermedio y sin afectación adenopática.

5.3. No se encontraron diferencias en cuanto a toxicidad entre los 2 regímenes.

La toxicidad de ambos regímenes fue tolerable. Sólo un paciente (1,6%) presentó toxicidad clínica grado 3 y sólo tres pacientes presentaron hepatotoxicidad grado 3, de ellos 2 tuvieron que suspender el tratamiento definitivamente.

La sintomatología referida se redujo, prácticamente, a síntomas constitucionales como fiebre y cuadro seudogripal. Se observó taquifilaxia, siendo más frecuentes los efectos secundarios del tratamiento durante la fase de inducción y en el primer trimestre de tratamiento.

La buena tolerancia de este esquema terapéutico queda patente por el hecho de que únicamente se precisó reducir o suspender temporalmente la dosis en 6 pacientes, en 2 durante la fase de inducción en la que se administraba el IFN diariamente, y en 4 durante la fase de mantenimiento.

El mayor porcentaje de abandonos por “intolerancia clínica” o “bioquímica” durante los primeros años en que se utilizó este protocolo ponen de relieve la importancia de una buena concienciación del clínico y del paciente para poder completar el tratamiento. Es importante una información completa que incluya la explicación del fenómeno de la taquifilaxia, para que el paciente no abandone la terapia precozmente.

Como ejemplo de esto último tenemos el hecho de que en los escasos pacientes que desarrollaron durante la primera semana de tratamiento, cuando recibían la dosis de IFN a diario, un cuadro seudogripal con náuseas y vómitos de repetición, fueron capaces de completar los 2 años de tratamiento porque la sintomatología cedió a las pocas semanas. En estos pacientes el tratamiento de mantenimiento no fue peor tolerado que en otros pacientes con una inducción menos tóxica.

La clínica referida por los pacientes en nuestro grupo concuerda con otros estudios donde el efecto adverso más frecuente del IFN es la fatiga o astenia, que va precedida generalmente de una reacción febril. Es el factor limitante de dosis más importante desde el punto de vista clínico y es más acusado con dosis superiores a las 20 MU en pacientes mayores o con pobre estado general (Quesada et al, 1986).

Teniendo en cuenta que la dosis más alta, durante el período de inducción, fue de 10 MU/día se explica la escasa frecuencia y grado moderado del síndrome seudogripal en nuestros pacientes.

La trombopenia y la leucopenia son las toxicidades limitantes de dosis de todas las formas de interferón alfa que, según la vía de administración, aparecen a dosis comprendidas entre 10 y 200 MU diarias. La toxicidad es menor con la administración intravenosa que con la administración intramuscular (Kirkwood et al, 1985). De 1019 pacientes con diversidad de cánceres la incidencia de leucopenia, anemia y trombopenia fue del 65%, 58% y 42% respectivamente (Gauci, 1987). La leucopenia se produce a las pocas horas de la administración de IFN, y la recuperación es rápida cuando se suspende el IFN o se administra en intervalos superiores a 3 días (Quesada et al, 1986). El desarrollo de anemia es más raro y su recuperación mucho más lenta.

En nuestra serie, al utilizar dosis semanales comprendidas entre 10 y 20 MU con espacio entre dosis superior igual o superior a 3 días, pocos pacientes desarrollaron leucopenia. En los pocos casos en que se desarrolló alcanzó un grado leve a moderado que no precisó suspensión del tratamiento ya que revirtió durante el curso del mismo.

Por otra parte la vía utilizada, subcutánea, asegura una mayor biodisponibilidad con menores efectos secundarios y mayor facilidad de administración (Wills et al, 1984).

Entre otros efectos secundarios del IFN se han descrito efectos cardiovasculares que incluyen hipotensión, arritmias, dolor torácico e infarto de miocardio. Se cuestiona el papel del IFN en estos efectos, en concreto en el infarto agudo de miocardio, ya que los pacientes que lo presentaron tenían factores predisponentes (Quesada et al, 1986). En nuestra serie los

posibles efectos cardiovasculares recogidos fueron ocasionales y más acusados durante el período de inducción, cuando era más frecuente e intenso el cuadro seudogripal y la fiebre.

En un paciente la administración de IFN se acompañó de toxicidad importante, con hipertensión arterial y taquicardia. Tras reducir la dosis de 10 MU a 5 MU pudo completar el tratamiento sin presentar más problemas.

Una paciente sufrió un IAM en el curso del tratamiento de mantenimiento. La paciente fue ingresada por dolor torácico atípico y no se diagnosticó de IAM hasta 2 meses más tarde cuando se evidenciaron cambios electrocardiográficos. La ausencia de antecedentes de cardiopatía previos al inicio del tratamiento con IFN no es suficiente para considerar al IFN agente causal del IAM. Además, tras suspender el tratamiento durante 20 días, la paciente pudo reanudarlo con la misma dosis sin que se volviese a presentar ningún otro episodio de dolor torácico.

Una paciente presentó dolor precordial en el mes 24 de tratamiento, en esta paciente se había reducido la dosis previamente en el mes 8 por intolerancia clínica y presentó cuadro seudogripal florido durante todo el tratamiento. Esta paciente tampoco tenía antecedentes de cardiopatía. Pensamos que, más que un efecto directo del IFN, pudiera tratarse un efecto indirecto en el que el cuadro seudogripal, al incrementar el gasto cardíaco, pudiese exacerbarse una cardiopatía previa silente. Situaciones similares han sido descritas en la literatura (Jones e Itri, 1986).

Además de la cefalea, que en nuestro estudio registramos como variable independiente del cuadro seudogripal, no se presentaron complicaciones neurológicas. Únicamente una paciente, que estaba recibiendo la dosis de 10 MU, refirió en el mes 10 de tratamiento neuralgia en hemicuerpo derecho. La clínica cedió espontáneamente a pesar de continuar el tratamiento con IFN.

Los efectos sobre el SNC aparecen tras la administración, iv o im, de altas dosis de IFN. Así dosis superiores a 100 MU pueden producir somnolencia, letargo, confusión, hipogeusia, y enlentecimiento global psicomotor. El EEG en estos pacientes evidenciaba una

encefalopatía difusa. La neurotoxicidad se revertía, generalmente, a los pocos días de suspender el tratamiento. (Meyers y Valentine, 1995; Quesada et al, 1986). Las convulsiones son raras (Kirkwood, 1985). Entre un 4-7% de pacientes tratados con IFN por diversas neoplasias presentaron parestesias, que eran más frecuentes si los pacientes habían sido tratados previamente con alcaloides de la vinca (Jones e Itri, 1986). Puede producirse también neuropatía periférica, caracterizada por parestesias acrales en las manos y los pies, acompañadas por cambios en la velocidad de conducción nerviosa (Kirkwood y Ernstoff, 1984).

Las complicaciones psiquiátricas fueron muy infrecuentes y moderadas. Únicamente en una paciente la administración de IFN le produjo tal angustia que precisó la administración de tranquilizantes, a pesar de lo cual hubo de suspender el tratamiento. Se ha descrito, en pacientes a tratamiento con IFN por hepatitis crónica vírica, un 17% de complicaciones psiquiátricas. Un 5% (3/58) de los pacientes desarrollaron un Síndrome Orgánico Afectivo caracterizado por labilidad emocional y depresión. Las complicaciones psiquiátricas fueron más frecuentes en pacientes recibiendo 10 MU (Renault et al, 1987).

La anorexia generalmente se asocia a astenia y muchos pacientes lo describen como parte del cortejo del síndrome seudogripal. Se asocia a astenia en un 30-50% de los casos y puede ocurrir hasta en un 70% de los pacientes, comienza a las 2 semanas del tratamiento y suele ceder con la continuación de éste.

No hemos encontrado diferencias significativas en cuanto a toxicidad entre los dos regímenes. Ello no justifica, por sí solo la utilización de la dosis superior de IFN (10MU) a no se que se demuestra un beneficio terapéutico que en nuestro estudio no hemos encontrado.

5.4. Identificación de factores de riesgo.

Tras comprobar que los dos grupos de tratamiento estaban equilibrados en cuanto a la distribución de todos los factores pronósticos descritos en la literatura, se procedió al análisis univariante de los mismos para determinar qué factores influían de forma significativa sobre la supervivencia global y sobre la supervivencia libre de enfermedad en el conjunto de todos los pacientes.

5.4.1. Ulceración del primario.

La presencia de ulceración en el tumor primario confiere un pronóstico negativo. En cuanto al efecto de esta variable sobre la supervivencia libre de enfermedad, hemos visto que la probabilidad de estar vivo sin enfermedad se mantiene en torno al 38% a los 7 años, aunque sin alcanzar una meseta sostenida, en aquellos pacientes con un melanoma ulcerado. Mientras, en aquellos pacientes cuyo tumor no estaba ulcerado en el momento del diagnóstico, se alcanza una fase de meseta estable en el mes 18 con una supervivencia libre de enfermedad actuarial del 90%. En cuanto a la supervivencia global los pacientes con tumores ulcerados alcanzaban la fase de meseta a partir del 5º año, con una probabilidad de supervivencia del 40% frente a una supervivencia actuarial a 5 años del 100% en los pacientes sin ulceración del primario. Obviamente este porcentaje disminuirá con un mayor seguimiento, puesto que una serie de pacientes que han recaído en la última consulta aún estaban vivos. Aún así la diferencia entre las dos curvas de supervivencia es tan grande que no es probable que se modifique esta relación.

5.4.2. Nivel de invasión de Clark.

Un tumor que infiltre en profundidad, según el nivel de invasión de Clark, también tiene peor pronóstico. Las diferencias en probabilidad de supervivencia libre de enfermedad, en nuestro estudio, no son muy acusadas entre los niveles II, III y IV de Clark. Ahora bien, mientras en el nivel II se alcanza una fase de meseta sostenida a partir del mes 14 en el nivel

III aún no se había alcanzado en el mes 84. Es probable que en este último grupo se incremente el porcentaje de recaídas al aumentar el seguimiento, haciéndose las diferencias estadísticamente significativas. En el nivel IV todas las recaídas se produjeron antes del mes 24, a partir de ese momento se alcanza una fase de meseta que le da un mejor pronóstico aparente que un nivel de invasión menos profundo como es el III. Es probable que esta tendencia se pierda al aumentar el seguimiento a 5 años. En aquellos pacientes con nivel invasión de tejido celular subcutáneo, Clark V, la probabilidad de estar vivo y sano se anula a los 5 años, o lo que es lo mismo, el riesgo de recaída pasado ese tiempo es del 100%. Un efecto paradójico se observa en la supervivencia global, debido a que las recaídas se produjeron precozmente en el grupo con nivel de invasión IV, se alcanza la fase de meseta antes del mes 24, en torno al 95%, frente al 90% en los estadios II y III, las diferencias no alcanzan la significación estadística y probablemente la tendencia se invertirá en el próximo seguimiento. Donde sí la alcanzan es en el nivel V con respecto a los III anteriores. A pesar del tamaño de los grupos las diferencias son tan acusadas que alcanzan la significación estadística. La mediana de supervivencia en este grupo es de 61,5 meses.

5.4.3. Grosor de Breslow

El grosor del tumor según el índice de Breslow es un factor pronóstico negativo, a mayor grosor tumoral, peor pronóstico. En la supervivencia libre de enfermedad los 3 grupos difieren entre sí de forma estadísticamente significativa, mientras en la supervivencia global la diferencia entre los 3 grupos no alcanza la significación estadística ($p=0,072$). Ello puede deberse al escaso número de eventos (=muertes) registrados en cada grupo o a la distribución en el tiempo en que dichos eventos se produjeron. En el grupo con melanomas de grosor comprendido entre 1,5 y 4 mm las muertes sucedieron antes que en el grupo de melanomas con grosor superior a 4 mm. Así, aparentemente, este último grupo se comporta inicialmente de forma más favorable. Al aumentar el seguimiento y producirse por consiguiente más eventos, el grupo de pacientes con melanoma de mayor grosor tiene peor pronóstico.

Es previsible que con un mayor seguimiento, al incrementarse el número de eventos, las diferencias entre los dos grupos alcancen la significación estadística. El grupo de

melanomas <1,5 mm, como era de esperar, se comporta de un modo mucho más favorable, tanto en SG como en SLE. De nuestra serie, sólo un paciente con un melanoma de extensión superficial con 1,45 mm de espesor, ha recaído. Este paciente tenía otros factores de riesgo, como un nivel de invasión de grado IV, edad superior a 50 años y sexo varón.

Cuando se agruparon los pacientes en dos grupos: pacientes con melanomas finos (<1,5 mm) y pacientes con melanomas intermedios-grosos (>1,5 mm) sí se alcanzó la significación estadística, debido a que el número de eventos en este segundo grupo fue muy superior.

5.4.4. Estadíos según la AJCC

El estadiaje según las recomendaciones de la clasificación de la AJCC, tiene la ventaja de correlacionar los dos sistemas de estadiaje anteriores y el tener en cuenta otros factores como la existencia de afectación adenopática o metástasis a distancia. En caso de discrepancia entre los dos anteriores la pT (de tumor primario, dentro de la clasificación TNM en que está basado la clasificación de la AJCC) se adoptaría el hallazgo menos favorable, esto es así desde el año 93 (Morton et al, 1993a). Previamente, en el sistema de estadiaje de 1988, la AJCC, recomendaba que en caso de discrepancia entre el grosor tumoral y el nivel de invasión se tomase el espesor tumoral, basándose en el hecho de que hasta ese momento la mayor parte de los estudios mostraban que el grosor tumoral era un factor pronóstico más importante que el nivel de invasión (Vollmer, 1989). Nuestros resultados corroboran esta afirmación y, a pesar de que se trata de grupos con pocos pacientes, las diferencias en cuanto a evolución son lo suficientemente diferentes entre los 3 estadíos I, II y III como para alcanzar la significación estadística ($p < 0,0001$) tanto para la supervivencia global como para la supervivencia libre de enfermedad. El pronóstico de los estadíos IIB y III es muy similar, como era de esperar dado que en el estadío III están incluidos pacientes con afectación de 1 ó 2 adenopatías, los cuales dentro de los melanomas con metástasis ganglionares, presentan un pronóstico más favorable que aquellos pacientes con más de cuatro adenopatías afectadas. En la base de datos de la UAB y el SMU se encontró una correlación inversa entre el número de adenopatías metastásicas y la supervivencia, así los pacientes con 1 adenopatía tenían mejor pronóstico

que los que tenían de 2 a 4, los que a su vez tenían mejor pronóstico que los que presentaban 5 ó más adenopatías afectadas (Balch et al, 1981).

5.4.5. Edad superior a 50 años.

El ser mayor de 50 años se asocia a un peor pronóstico en nuestra serie. Las diferencias en supervivencia libre de enfermedad alcanzan la significación estadística, con una supervivencia actuarial a 5 años del 100% para los pacientes de menos de 50 años de edad, frente a una supervivencia del 60% en los mayores de 50 años. Las diferencias en supervivencia libre de enfermedad son acusadas. No se alcanza la significación estadística ($p=0,07$) por el escaso número de eventos, 3 en el caso de los menores de 50 años y 11 en el caso de los mayores de 50 años. Podría inferirse, con los datos que tenemos, que los pacientes menores de 50 años recaen menos, pero más precozmente, o lo que sería lo mismo, que el tener menos de 50 años entrañaría un mayor riesgo de recaída entre los meses 12 y 18 desde el inicio del tratamiento y un menor riesgo a partir de ese momento. El incremento de tamaño de la muestra o del número de eventos, lo cual se produciría con un mayor seguimiento, dotaría a esta tendencia de significación estadística.

5.4.6. Sexo

El sexo femenino se correlaciona positivamente con la supervivencia. Las mujeres alcanzan una fase de meseta estable con una probabilidad de supervivencia libre de enfermedad a los 5 años superior al 80%, que difiere significativamente de la alcanzada por los varones. En este último grupo las recaídas tardías, después del 5º año, disminuyen la probabilidad de supervivencia libre de enfermedad desde un 60% a los 5 años a un 30% a los 8 años. En la supervivencia global se mantienen las diferencias a favor del sexo femenino, aunque no se alcanza la significación estadística ($p=0,075$). Por el comportamiento de la enfermedad en los dos grupos es previsible que al aumentar el seguimiento las diferencias se hagan estadísticamente significativas, dado que con el paso del tiempo se incrementará la mortalidad entre los varones que han recaído y todavía estaban vivos en el último seguimiento.

5.4.7. Márgenes de resección

El dejar un margen de resección inferior a 1 cm se asocia, en nuestro estudio, a un peor pronóstico, tanto para la supervivencia libre de enfermedad ($p < 0,0005$) como para la supervivencia global ($p < 0,05$). No se evidencian, sin embargo, diferencias entre el grupo con 1-2 cm de margen de resección y el grupo con más de 2 cm. Teniendo en cuenta que el estudio no estaba pensado para evaluar la bondad de unos márgenes quirúrgicos amplios y que la mayoría de los pacientes pertenecen al grupo de 1-2 cm, podría pensarse que con un margen quirúrgico superior a 1 cm sería suficiente. A pesar de esto creemos que deberían prevalecer las recomendaciones de la Conferencia de Consenso de Melanoma mientras este último apartado no se confirme con estudios randomizados y con un mayor número de pacientes (Ross, 1997).

El de este estudio no es el planteamiento adecuado para indicar qué margen es el que se debe mantenerse. Lo que sí podemos afirmar es que en nuestros pacientes los márgenes de resección inferiores a 1 cm comportaron un peor pronóstico, o lo que es lo mismo el dejar más de 1 cm de piel sana aumentaba la supervivencia libre de enfermedad, disminuyendo la probabilidad de recaída, sin que se observasen diferencias entre márgenes de 1-2 o más de 2 cms.

5.4.8. Duración del tratamiento en meses

La duración del tratamiento tiene una influencia positiva y estadísticamente significativa, en el análisis univariante, sobre la supervivencia libre de enfermedad ($p = 0,0003$). Esta influencia no se pierde cuando se eliminan del análisis los pacientes que suspendieron el tratamiento por recidiva de la enfermedad ($p < 0,03$). Este efecto positivo sobre la disminución del riesgo de recaída no se tradujo, sin embargo en un incremento en la supervivencia global, que no aumentó significativamente ni en el grupo que incluía todos los pacientes ($p = 0,63$), ni cuando se eliminaron del análisis los pacientes en recaída durante el tratamiento ($p = 0,72$). Ello traduce, sin lugar a dudas, el efecto de otras variables o factores de

riesgo sobre el impacto que a su vez tiene la duración del tratamiento en la supervivencia global.

A diferencia de otros estudios como el ECOG#1684 el tiempo desde el diagnóstico al inicio del tratamiento con IFN no influyó de forma significativa sobre la supervivencia. Ello puede ser debido a que en nuestra población la masa tumoral es menor o que el número de pacientes analizados es sensiblemente inferior.

Cuando se analizó el beneficio de la linfadenectomía asociada a la cirugía con respecto a la cirugía no se observaron diferencias significativas en cuanto a efecto sobre la supervivencia global o supervivencia libre de enfermedad. Lo anterior está en consonancia con estudios de otro ámbito, prospectivos y randomizados que no hallaron un beneficio en la realización de linfadenectomía electiva en todos los pacientes con melanoma maligno cutáneo (Veronesi et al, 1982).

No existe consenso en cuanto a la realización de linfadenectomía electiva y si bien algunos estudios evidenciaron (Milton et al, 1982; Reintgen et al, 1983; Schneebaum et al, 1987) una mayor supervivencia en pacientes con melanoma, de cualquier localización, en los que se realizó linfadenectomía electiva, otros estudios, en melanomas de extremidades no corroboraron este beneficio (Veronessi et al, 1977; 1982). Cada vez es más unánime la opinión de que no todos los pacientes con melanoma precisan de linfadenectomía. No se tiene la misma unanimidad en la elección del subgrupo de pacientes, con alto riesgo de desarrollar metástasis ganglionares localizadas, que se beneficiarían claramente de este procedimiento. En este sentido han de identificarse factores pronósticos como: 1) grosor tumoral, los melanomas de grosor intermedio 1,5-4 mm tienen mayor riesgo de metastatizar en adenopatías locorreregionales; los finos no metastatizan y los de más de 4 mm tienen mayor riesgo de hacerlo a distancia, por lo que tampoco se beneficiarían de la linfadenectomía (Balch et al 1979; Schneebaum et al, 1987; Balch et al, 1992b); 2) presencia de ulceración en el primario, los melanomas ulcerados tienen mayor riesgo de micrometástasis, incluso cuando se tienen en cuenta otros parámetros como el grosor del tumor (Reintgen et al, 1983; Balch et al 1980).

En nuestra experiencia, limitada como se ha mencionado previamente por la heterogeneidad de las indicaciones de la linfadenectomía, no parece ser una técnica excesivamente rentable ya que de las 19 linfadenectomías realizadas únicamente 3 (16%) resultaron positivas y el porcentaje de recidivas ganglionares no difirió significativamente entre los pacientes linfadenectomizados y los que no lo fueron.

El estudio del Intergrupo de melanoma, prospectivo y randomizado, identifica una subpoblación de pacientes en los que la linfadenectomía electiva prolonga significativamente la supervivencia, en concreto son los pacientes menores de 60 años con melanomas de grosor intermedio, y más en concreto aquellos con melanomas de 1.1 a 2 mm. (Eton et al, 1998).

Se espera que técnicas como el mapeo linfático intraoperatorio y la identificación de la adenopatía centinela aporten una información más precisa del estado de las adenopatías locorreregionales, evitando la morbilidad y costos de la linfadenectomía selectiva (Morton, 1993b; Albertini et al, 1996).

La localización del tumor primario, ni cuando se agruparon los pacientes en cabeza/cuello, tronco y extremidades, influyó de forma significativa en la supervivencia. Si bien es cierto, de nuevo, que el tamaño de los subgrupos es pequeño, también es cierto que otros grupos en estudios recientes que incluyeron a un número muy superior de pacientes no encontraron que la localización del primario fuese un buen factor de riesgo.

De forma similar el tipo histológico no evidenció una influencia estadísticamente significativa ni sobre la supervivencia global ($p=0,4$) ni sobre la supervivencia libre de enfermedad ($p=0,47$). Este fenómeno se evidenció incluso cuando se agruparon los

melanomas con peor pronóstico, por asociarse clásicamente a un mayor riesgo de diseminación metastásica, como el MN y el MLA, y los de mejor pronóstico como el MES y el MLM Si bien es innegable la utilidad clínica de la clasificación de los melanomas según el tipo histológico del primario, deben tenerse en cuenta otros factores para determinar el pronóstico a largo plazo, como el estadio (TNM, Breslow o Clark) y la presencia o no de ulceración en el tumor primario.

5.5. Efecto independiente de los factores de riesgo sobre la supervivencia y la supervivencia libre de enfermedad. Análisis multivariante.

Para determinar de forma adecuada y precisa la importancia relativa de los factores de riesgo se utilizó el análisis multivariante de la regresión de Cox que permite estudiar la relación entre una variable dependiente, en este caso supervivencia global o supervivencia libre de enfermedad, y una serie de variables independientes, incorporando en el análisis aquellos sucesos en los que el evento predicho, recaída o muerte, todavía no se ha producido.

5.5.1. Ulceración del primario

La presencia de ulceración en el primario es un factor pronóstico negativo, que alcanza significación estadística tanto para supervivencia libre de enfermedad como para la supervivencia global, incluso en una serie de pequeño tamaño como la nuestra. Dicho de otra forma, la presentación o no de ulceración es un factor pronóstico independiente, que es capaz de justificar por sí solo, la duración de la supervivencia en la serie evaluada y parece identificar pacientes con tumores más agresivos.

Esto concuerda con los resultados obtenidos en un metaanálisis internacional, en el que el estudio comparativo de más de 15.000 pacientes con melanoma localizado, sitúa a la presencia de ulceración y al grosor tumoral como los dos factores patológicos predominantes (Balch, 1992c). En varios de los centros que se recogen en dicho análisis la ulceración tumoral es el factor pronóstico más importante, con independencia del grosor tumoral. Los melanomas ulcerados parecen poseer un comportamiento más agresivo dado que atraviesan la epidermis en lugar de empujarla hacia arriba. Así pacientes con melanomas en estadio I-II ulcerados tienen un tasa de supervivencia del 50% a 10 años, mientras que en los pacientes en el mismo estadio sin ulceración la supervivencia es del 79% ($p < 0,0001$) (Balch et al, 1992b).

Recientemente se ha publicado una crítica a la última clasificación de la AJCC en el sentido de que debiera incluirse la ulceración tumoral dentro del estadiaje, dado que cada vez es mayor la evidencia de que es un factor pronóstico independiente (Buzaid et al, 1997).

De acuerdo con estos autores creemos que la ulceración debe incluirse en el estadiaje del melanoma ya que en nuestro estudio fue el factor predictivo más importante sobre la supervivencia global, incluso cuando se tuvieron en cuenta otras variables como el grosor tumoral, el nivel de invasión de Clark, la edad, el sexo, el diagnóstico histológico o la localización del tumor primario.

5.5.2. Índice de Breslow

El índice de Breslow mantiene la significación estadística independiente en el análisis multivariante como factor pronóstico para supervivencia libre de enfermedad. No influye significativamente en la supervivencia global como variable independiente posiblemente por el tamaño de los subgrupos, el comportamiento inicial de los mismos y el escaso número de eventos registrados, como se ha comentado previamente.

Para algunos autores es el factor pronóstico más importante que, de forma cuantitativa y fácilmente reproducible, puede definir subgrupos con índices de supervivencia dispares (Breslow, 1970).

El nivel de invasión de Clark es uno de los factores pronósticos que, si bien fue significativo en el análisis univariante, perdió significación estadística cuando se evaluó su efecto en conjunción con otros factores de riesgo, entre ellos el grosor de Breslow. En otros estudios, cuando se comparó el nivel de invasión y el estadiaje de Breslow, dividiendo cada nivel de invasión en categorías según el grosor, se observó que en los estadíos III, IV y V, la subdivisión según el grosor influía en la supervivencia. No se observó el mismo efecto cuando se subdividieron pacientes con lesiones entre 1,5 y 4 mm, en niveles III, IV y V de invasión (Day et al, 1981). Esto confirmaba, para los autores, la hipótesis de que la medición del grosor del tumor en mm es un factor pronóstico más preciso que el nivel de invasión.

5.5.3. Estadiaje según los criterios de la AJCC

El estadiaje utilizando el sistema TNM, según recomienda la AJCC en la revisión de 1992, es un factor pronóstico que mantiene la significación estadística en el análisis multivariante. Se confirma que, cuando se evalúa el peso de todas las variables consideradas significativas, el estadio de la AJCC es una variable que, de forma independiente tiene influencia sobre la supervivencia libre de enfermedad. En la clasificación de la AJCC se tiene en cuenta además del grosor del tumor o su nivel de invasión, una serie de características como la existencia o no de afectación adenopática o metástasis en tránsito, que aumentan el riesgo de recaída (Balch et al, 1981; Karakousis et al, 1980).

5.5.4. Duración del tratamiento en meses

La duración del tratamiento en meses tiene una influencia favorable sobre la supervivencia libre de enfermedad. Una vez se eliminan aquellos pacientes que recaen durante el tratamiento y que por tanto, reciben menos tratamiento por un “fracaso del mismo” se mantiene la significación estadística en el análisis univariante, pero se pierde en el análisis multivariante. Esto indica que el efecto positivo que sobre la supervivencia ejerce un tratamiento más prolongado con IFN, depende a su vez de otras variables como el grosor tumoral, el estadio de la AJCC y la presencia de ulceración en el tumor primario. Ante todo lo dicho debe insistirse en dos aspectos: 1) previo a iniciar cualquier terapia adyuvante con INF debe seleccionarse a los pacientes susceptibles de obtener un mayor beneficio; 2) el paciente y el médico deben estar al corriente de todos los pros y contras del tratamiento, de tal forma que una vez se inicie el mismo se suspenda únicamente ante la presencia de signos de toxicidad severos.

Otras variables como la edad superior a 50 años, el sexo, los márgenes quirúrgicos y el nivel de invasión de Clark, que han mostrado significación en el modelo univariante, una vez se controla ulceración y grosor tumoral pierden la significación en el modelo multivariante. Otros autores han publicado efectos parecidos con series mucho más amplias (Clark et al, 1989).

Si bien es posible que en el modelo que evalúa la probabilidad de supervivencia global al aumentar el seguimiento con el consiguiente incremento en el número de eventos alcancen significación estadística otros factores como el grosor tumoral, el nivel de invasión y el estadio según la AJCC, que muestran influencias independientes sobre la supervivencia libre de enfermedad, ello no le resta valor a los factores que sí mostraron significación estadística, tales como la ulceración del tumor primario, como se deriva del comportamiento de los mismos en las curvas de supervivencia y de los resultados publicados por otros autores que hacen referencia a series de más de 15.000 pacientes con un seguimiento superior a 10 años (Balch, 1992c).

5.6. Las características de la población

El paciente tipo de nuestro estudio es una mujer de mediana edad, con melanoma de extensión superficial en una pierna, que no está ulcerado y tiene un grosor inferior a 1,5 mm, y probablemente es representativa de la población que desarrolla melanoma en nuestra comunidad autónoma.

Al realizarse el estudio en un Servicio Hospitalario como es el de Oncología, podía pensarse que sólo se recogiesen los pacientes del ámbito hospitalario, introduciendo un sesgo hacia estadíos más avanzados de la enfermedad. Los pacientes, sin embargo, no sólo procedían del Hospital, sino también de Servicios jerarquizados con consulta ambulatoria. Incluso los pacientes que eran remitidos desde el hospital lo eran desde servicios quirúrgicos o médicoquirúrgicos a donde los pacientes eran remitidos a su vez desde consultas ambulatorias.

Esta idea se refuerza con la coincidencia de las características de nuestra población con la de estudios más amplios en donde también se establece predominio en el sexo femenino, localización en extremidades inferiores, estadíos I de la AJCC (47%) y tipo histológico más frecuente Melanoma de Extensión Superficial. (Balch et al, 1997).

Destaca, en nuestra población, la escasa incidencia de melanoma léntigo maligno (1,8%). El MLM es una neoplasia que se localiza en zonas de piel fotoexpuesta, cuyo diagnóstico requiere la evidencia de cambios relacionados con la exposición solar en dermis y epidermis, con lo que es más frecuente en zonas de mayor exposición solar como las regiones próximas al ecuador (Clark y Mihm, 1969). Es también una lesión característica de gente mayor, siendo más frecuente por encima de los 70 años. La región noroeste no se caracteriza por las horas de sol por lo que se explicaría la menor incidencia de lesiones derivadas de la exposición solar crónica que degeneren en este tipo de melanoma. Por otra parte en nuestro estudio solamente se han incluido dos pacientes de más de 70 años, por lo que el bajo porcentaje de pacientes en la 7^a-8^a décadas de la vida podría justificar el escaso número de este subtipo de melanomas encontrados en nuestro estudio.

El melanoma lentiginoso acral representa un 11,3%, una proporción algo elevada para una población, como la tratada, caucásiana al 100%. Esta cifra dobla la incidencia comunicada por otros autores, que es del 5%. Desconocemos el motivo de este incremento, si representa una mayor incidencia de esta neoplasia en nuestra comunidad autónoma o simplemente un traduce una mayor tendencia a investigar más en profundidad las lesiones sospechosas de corresponder a un MLA que las de otro tipo de melanomas clásicamente más benignos como el melanoma de extensión superficial o el melanoma léntigo maligno.

El predominio de lesiones en miembro inferior se asocia a una mayoría de mujeres en nuestro grupo. Si bien el melanoma maligno es más frecuente en mujeres, cuando se ha incluido el sexo en algunos estudios multivariantes, el sexo femenino parece tener mejor pronóstico. Se han implicado factores hormonales, pero la razón última se desconoce (Drzewiecki y Andersen, 1982). La mayor proporción de melanomas malignos cutáneos en mujeres podría deberse a que en éstas, debido al tipo de vestimenta y los hábitos de bronceado, está incrementada sustancialmente la exposición a la luz solar en miembros inferiores con el consiguiente incremento de riesgo de desarrollar lesiones asociadas a la radiación UV, entre ellas el melanoma (Balch et al, 1997).

La elevada proporción de tumores de grosor inferior a 1,5 mm (43,1%) en el momento del diagnóstico probablemente responda a dos factores: por una parte una mejor educación de la población, con campañas en los medios de comunicación y en atención primaria; por otra parte la jerarquización de los Servicios Hospitalarios que redundan en una mejor formación y mayor agilidad diagnóstica en los puntos que reciben al paciente ambulante.

En nuestra serie, a diferencia de otros estudios donde la linfadenectomía se precisaba para el estadiaje patológico previo al inicio de tratamiento adyuvante, solamente se procedió a la linfadenectomía en un pequeño porcentaje de los pacientes, atendiendo fundamentalmente a criterios clínicos.

6. RESUMEN Y CONCLUSIONES

El objetivo del presente trabajo es comparar la eficacia clínica de dosis intermedias y bajas de IFN α 2b, cuando se emplea como tratamiento adyuvante de la cirugía en pacientes con melanoma maligno cutáneo (MMC), con respecto a supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad y toxicidad. Entre 1987 y 1996 se ha llevado a cabo un programa terapéutico en el Hospital Juan Canalejo de La Coruña incluyendo todos los pacientes con MMC, estadios I a III de la AJCC, los cuales han recibido tratamiento adyuvante con IFN α 2b después de la cirugía.

El estudio se ha dividido en 2 períodos de aproximadamente 5 años de duración cada uno. En el primer período los pacientes recibieron IFN α 2b 10 MU/d/sc durante 7 días seguido de 10 MU 2 veces por semana durante 2 años; en el segundo período los pacientes recibieron 5 MU/d/sc durante 7 días seguido de 5 MU 2 veces por semana durante 2 años.

Sesenta y dos pacientes con una mediana de edad de 54 años y una relación hombre:mujer de 1:2, se han incluido en el estudio final. Treinta y cinco recibieron IFN a dosis bajas (5 MU) y 27 a dosis intermedias (10 MU), con una mediana de seguimiento de 40 meses. Los dos grupos están equilibrados en cuanto a la distribución de todos los factores pronósticos conocidos. Menos de un 5% de los pacientes presentaron toxicidad grado III-IV, no observándose diferencias significativas entre los dos grupos. Más de un 70% de los pacientes recibieron por encima del 75% de la dosis prevista. La dosis de IFN no influye de forma estadísticamente significativa ni en la Supervivencia Global ($p=0,62$, test de log-rank), ni en la Supervivencia Libre de Enfermedad ($p=0,3$, test de log-rank).

Mediante análisis univariante se han identificado los factores de riesgo que pudieran influir sobre la supervivencia global o la supervivencia libre de enfermedad. El análisis multivariante redujo la independencia de las variables anteriores y evidencia que la presencia

o no de ulceración en el tumor primario puede justificar por sí sola la duración de la supervivencia global. Cuatro son las variables que condicionan la supervivencia libre de enfermedad, la duración del tratamiento, con independencia de la dosis (5 o 10 MU), la ulceración del tumor primario, el índice de Breslow y el estadio según la clasificación de la AJCC.

Conclusiones:

1. No hay diferencias significativas en cuanto a eficacia clínica (Supervivencia Global o Supervivencia Libre de Enfermedad) entre los regímenes empleados: 5MU vs 10 MU.
2. El tratamiento con IFN α 2b recombinante, independientemente de la dosis, obtiene una supervivencia actuarial prolongada más evidente en estadios I-II de la AJCC.
3. Entre los factores pronósticos identificados el único que en el análisis multivariante mantiene la significación estadística como predictor de supervivencia global es la ulceración del tumor primario.
4. La toxicidad con las pautas empleadas es mínima, con menos de un 5% de pacientes con toxicidad grado ≥ 3 , no existiendo diferencias significativas entre los dos grupos de dosis.
5. El grado de aceptación del tratamiento por parte de los pacientes fue alto, con menos de un 10% de rechazo y un 10% de abandonos por toxicidad.
6. Está por definir la dosis efectiva de IFN que comporte una menor toxicidad.
7. Para definir la eficacia del INF α 2b recombinante como tratamiento adyuvante a la cirugía en pacientes con MMC de riesgo intermedio-bajo, son precisos más estudios multicéntricos y randomizados.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Abbas KB, Lichtman AH, Pober JS. Presentación y procesamiento del antígeno a los linfocitos T. En: Abbas KB, Lichtman AH y Pober JS, editores. *Inmunología Celular y Molecular*. Madrid: Mcgraw-Hill-Interamericana de España. 1995a. p. 127-49.
- Abbas KB, Lichtman AH, Pober JS Citocinas. En: Abbas KB, Lichtman AH y Pober JS. *Inmunología Celular y Molecular*. Madrid: Mcgraw-Hill-Interamericana de España. 1995b. p. 267-92.
- Abdi EA, Tan YH, McPherson TA. Natural human interferon- β in metastatic malignant melanoma: A phase II study. *Acta Oncol* 1988; 27: 815-7.
- Agarwala SS, Kirkwood JM. Interferons in the therapy of solid tumors. *Oncology* 1994; 51:129-36.
- Agarwala SS, Kirkwood JM. Interferons in melanoma. *Curr Opin Oncol* 1996; 8: 167-74.
- Albertini JJ, Cruse CW, Rapaport D, et al. Intraoperative radiolymphoscintigraphy improves sentinel node identification in melanoma patients. *Ann Surg* 1996; 223: 217-23.
- Albino AP, Reed JA, McNutt. Molecular biology of cutaneous malignant melanoma. En: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA. 5^a ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1997; 1935-1946.
- Allen RE, Epstein WL. Melanoma Therapy. *Clin Dermatol* 1992; 10: 317-25.

- Amer MH, Al-sarraf M, Vaitkevicius VK. Clinical presentation, natural history and prognostic factors in advanced melanoma. *Surg Gynecol Obstet* 1979; 149: 687-92.
- Ang KK, Byers RM, Peter LJ, Maor MH, Wendt CD, Morrison WH, et al. Regional radiotherapy as adjuvant treatment for head and neck malignant melanoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1990; 116: 169-72.
- Austin PF, Cruse CW, Lyman G, Schoer K, Glass F, Reintgen DS. Age as a prognostic factor in the malignant melanoma population. *Ann Surg Oncol* 1994; 1: 487-94.
- Austoker J. Melanoma: prevention and early diagnosis. *BMJ* 1994; 308: 1682-6.
- Balch CM, Murad TM, Soong SJ, Ingalls AL, Richards PC, Maddox WA. Tumor thickness as a guide to surgical management of clinical stage I melanoma patients. *Cancer* 1979; 43: 883-8.
- Balch CM, Wilkerson JA, Murad TM, et al. The prognostic significance of ulceration of cutaneous melanoma. *Cancer* 1980; 45: 3012-9.
- Balch CM, Soong SJ, Murad TM, Ingalls AL, Maddox WA. A multifactorial analysis of melanoma. III. Prognostic factors in melanoma patients with lymph node metastases (stage II). *Ann Surg* 1981; 193: 377-88.
- Balch CM, Soong SJ, Milton G, Shaw HM, McGovern VJ, McCarthy WH, et al. Changing trends in cutaneous melanoma over a quarter of a century in Alabama, USA and New South Wales, Australia. *Cancer* 1983; 52: 1748-53.
- Balch CM. Cutaneous melanoma: a review of the clinical management. *Tex Med* 1987; 83: 70-8.

- Balch CM, Soong SJ, Shaw HM, Urist MM, McCarthy WH. An analysis of prognostic factors in 8500 patients with cutaneous melanoma. En: Balch CM, Houghton AN, Milton GW, Sober A, Soong S-J, directores. *Cutaneous melanoma*, 2nd ed. Philadelphia: JB Lippincott. 1992a. p. 163-86.
- Balch CM, Milton GW, Cascinelli N, Milton GW, Sim FH. Elective node dissection: pros and cons. En Balch CM, Houghton AN, Milton GW, Sober A, Soong S-J, directores. *Cutaneous melanoma*, 2nd ed. Philadelphia: JB Lippincott. 1992b. p. 345-55.
- Balch C. Cutaneous melanoma: Prognosis and treatment results worldwide. *Semin Surg Oncol* 1992c; 8: 400-14.
- Balch CH, Urist MM, Karakousis CP, Smith TJ, Drzewiecki K, Jewell WR, et al. Efficacy of 2-cm surgical margins for intermediate thickness melanomas (1 to 4 mm). Results of a multi-institutional randomized surgical trial. *Ann Surg* 1993; 218: 262-7.
- Balch CM, Reintgen DS, Kirkwood JM, Houghton A, Peters L, Ang KK. Cutaneous melanoma. En: DeVita T, Hellman S, Rosenberg SA, directores. *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, 5^a ed. Philadelphia: Lippincot-Raven Publishers. 1997. p 1947-95.
- Ball AS, Thomas J. Surgical management of malignant melanoma. *Br Med Bull* 1995; 51(3): 584-608.
- Balm AJ, Kroon BB, de Boer JB, Israels SP, Jonk A, Mooi WJ, et al. Report of a symposium on diagnosis and treatment of cutaneous head and neck melanoma. *Eur J Surg Oncol* 1994; 20: 112-4.
- Barth A, Morton DL. the role of adjuvant therapy in melanoma management. *Cancer* 1995; 75: 726-34.

- Beahrs OH, Myers MH. Manual for staging of cancer. En: American Joint Committee On Cancer. Philadelphia: JB Lippincott; 1983; p. 117-22.
- Becker JC, Bröker EB. Lymphocyte-melanoma interaction: role of surface molecules. *Recent Results Cancer Res* 1995; 139: 205-14.
- Borden EC, Hawkins MJ, Sielaff KM, Storer BM, Schiesel JD, Smalley RV. Clinical and biological effects of recombinant interferon- β administered intravenously daily in phase I trial. *J Interferon Res* 1988; 357-66.
- Bowers GF, Copeland EM. Surgical limb perfusion for extremity melanoma. *Surg Oncol* 1994; 3: 91-102.
- Breslow A. Thickness, cross-sectional areas and depth of melanoma in the prognosis of cutaneous melanoma. *Ann Surg* 1970; 72: 902-8.
- Brossart P, Keilholz U, Willhauck M, Scheibenbogen C, Mohler T, Hunstein W. Hematogenous spread of malignant melanoma cells in different stages of disease. *J Invest Dermatol* 1993; 101(6): 887-9.
- Brossart P, Keilholz U, Scheibenbogen C, Mohler T, Willhauck M, Hunstein W. Detection of residual tumor cells in patients with malignant melanoma responding to immunotherapy. *J Immunother* 1994; 15(1): 38-41.
- Brown CD, Zitelli JA. The prognosis and treatment of true local cutaneous recurrent malignant melanoma. *Dermatol Surg* 1995; 21: 285-90.
- Bulliard JL, Raymond L, Levi F, Schuler G, Enderlin F, Pellaux S, Torhorst J. Presentation of cutaneous melanoma: an epidemiological evaluation of the Swiss campaign. *Rev Epidemiol Sante Publique* 1992; 40(6): 431-8.
- Burton RC. Analysis of public education and the implications with regard to nonprogressive thin melanomas. *Curr Opin Oncol* 1995; 7: 170-4.

- Buzaid AC, Legha SS. Combination of chemotherapy with interleukin-2 and interferon-alfa for the treatment of advanced melanoma. *Semin Oncol* 1994; 21(6 Supl 14): 23-28.
- Buzaid AC, Ross MI, Balch CM, Soong S, McCarthy WH, Tinoco L, et al. Critical analysis of the current american joint committee on cancer staging system for cutaneous melanoma and proposal of a new staging system. *J Clin Oncol* 1997; 15: 1039-51.
- Bystryn JC. Clinical activity of a polyvalent melanoma antigen vaccine. *Recent Cancer Res* 1995; 139: 337-48.
- Cascinelli N, Bufalino R, Morabito A, Mackie R. Results of adjuvant interferon study in who melanoma programme. *Lancet* 1994; 343: 913-4.
- Cascinelli N, Santinami M. Excision of primary melanoma should allow primary closure of the wound. *Recent Results Cancer Res* 1995; 139: 317-21.
- Cascinelli N. The role of clinical trials in assessing optimal treatment of cutaneous melanoma not extending beyond the regional nodes. *J Surg Oncol* 1996; 22: 123-33.
- Castello G, Ruocco V, Satriano RA, Zarrilli D. Role of interferons in the therapy of melanoma. *Melanoma Res* 1992; 1(5-6): 311-25.
- Chi NC, Adam EJ, Adam SA. Sequence and characterization of cytoplasmic nuclear protein import factor P97. *J Cell Biol* 1995; 130(2): 265-74.
- Clark WH, Mihm MC. Lentigo maligna and lentigo-maligna melanoma. *Am J Pathol* 1969; 55:39-67
- Clark WH, Elder DE, Guerry D IV, Epstein MN, Greene MH, Van Horn. A study of tumor progression. The precursor lesions of superficial spreading and nodular melanoma. *Hum Pathol* 1984; 15:1147-65.

- Clark WH, Elder DE, Guerry D, Braitman LE, Trock BJ, Schultz D, Synnestvedt M, Halpern AC. Model predicting survival in stage I melanoma based on tumor progression. *J Natl Cancer Inst* 1989; 81: 1893-904.
- Cohen SM. Chemotherapy of metastatic melanoma. *Mt Sinai J Med* 1992; 59: 220-3.
- Comis RL. DTIC (NSC-45388) in malignant melanoma: a perspective. *Cancer Treat Rep* 1976; 64: 165-76.
- Creagan ET, Ahmann DL, Green SJ, Long HJ, Rubin J, Schutt, et al. Phase II study of the recombinant leukocyte A interferon (rIFN-alfaA) in disseminated melanoma. *Cancer* 1984a; 54: 2844-9.
- Creagan ET, Ahmann DL, Green SJ, Long HJ, Frytak S, O'Fallon JR, Itri LM. Phase II study of low-dose recombinant leukocyte A interferon in disseminated malignant melanoma. *J Clin Oncol* 1984b; 2: 1002-5.
- Creagan ET, Ahmann DL, Green SJ, Long HJ, Frytak S, Itri LM. Phase II study of recombinant leukocyte A interferon (IFN-rA) plus cimetidine in disseminated malignant melanoma. *J Clin Oncol* 1985; 3: 977-98.
- Creagan ET, Dalton RJ, Ahmann DL, Jung S, Morton RF, Langdon RM Jr, et al. Randomized, surgical adjuvant clinical trial of recombinant interferon alfa-2^a in selected patients with malignant melanoma. *J Clin Oncol* 1995; 13: 2776-83.
- Crombie IK. Variation of melanoma incidence with latitude in North America and Europe. *Br J Cancer* 1979; 40: 774-81.
- Day CL Jr, Sober AJ, Kopf AW. A prognostic model for clinical stage I melanoma of the lower extremity: location on foot as independent risk factor for recurrent disease. *Surgery* 1981; 89: 599-603.

- Drake LA, Ceilley RJ, Cornelison RL, Dobes WL, Dorner WA, Goltz RW, et al. Guidelines of care for malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1993; 28: 638-41.
- Drzewiecki KT, Andersen PK. Survival with malignant melanoma. A regression analysis of prognostic factors. *Cancer* 1982; 49: 2414-9.
- Easty DJ, Ganz SE, Farr CJ, Lai C, Heryln M, Bennett DC. Novel and known protein tyrosine kinases and their abnormal expression in human melanoma. *J Invest Dermatol* 1993; 101: 679-84.
- Edward M. Integrins and other adhesion molecules involved in melanocytic tumor progression. *Curr Opin Oncol* 1995; 7:185-91.
- Einzig AI, Hochster H, Wiernick PH, Trump DL, Dutcher JP, Garowski E, Sasloff J, Smith TJ. A phase II study of taxol in patients with malignant melanoma. *Invest New Drugs* 1991; 9: 59-64.
- Eldh J, Boeryd B, Peterson LE. Prognostic factors in cutaneous malignant melanoma in stage I. A Clinical, morphological and multivariate analysis. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1978; 12: 243-55.
- Elton O, Talpaz M, Lee KH, Rothberg JM, Brell JM, Benjamin RS. Phase II trial of recombinant human interleukin-2 and interferon-alpha-2a. *Cancer* 1996; 77: 893-9.
- Eton O, Legha SS, Moon TE, Buzaid AC, Papadopoulos NE, Plager C et al. Prognostic factors for survival of patients treated systemically for disseminated melanoma. *J Clin Oncol* 1998; 16:1103-11.
- Evans RA. Elective lymph node dissection for malignant melanoma. The Tumor Burden of Nodal Disease. *Anticancer Res* 1995; 15: 575-80.
- Farber E. Cell proliferation as a major risk factor for cancer: a concept of doubtful validity. *Cancer Res* 1995; 55:3759-

- Falkson CI, Falkson G, Falkson HC. Improved results with the addition of interferon alfa-2b to dacarbazine in the treatment of patients with metastatic malignant melanoma. *J Clin Oncol* 1991; 9: 1403-8.
- Falkson CI, Ibrahim J, Kirkwood J, Blum R. A randomized phase III trial of dacarbazine (DTIC) versus DTIC + interferon alfa-2b (IFN) versus DTIC + tamoxifen (TMX) versus DTIC + IFN + TMX in metastatic malignant melanoma: an ECOG trial. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1996; 15: 435 (abstract).
- Ferrone S, Marincola FM. Loss of HLA class I antigens by melanoma cells: molecular mechanism, functional significance and clinical relevance. *Immunol Today* 1995; 16: 487-94.
- Flodgren P, Borgstrom S, Jonsson PE, Lindstrom C, Sjogren HO. Metastatic malignant melanoma: regression induced by combined treatment with interferon [HuIFN-alpha(Le)] and cimetidine. *Int J Cancer* 1983; 32: 657-65.
- Gauci L. Management of cancer patients receiving interferon alfa-2a. *Int J Cancer Suppl* 1987; 1:21-30.
- Gaugler B, Van den Eynde B, Van der Bruggen P, Romero P, Garaforio JJ, De Plaen E, et al. Human gene mage-3 codes for an antigen recognized on a melanoma by autologous cytotoxic t lymphocytes. *J Exp Med* 1994; 179: 921-30.
- Gaynor R, Irie R, Morton D, Herchmann HR. S100 protein is present in cultured malignant melanomas. *Nature* 1980; 286: 400-1.
- Greenstein DS, Rogers GR. Management of stage i malignant melanoma. *Dermatol Surg* 1995; 21: 927-37.

- Grob JJ, Dreno B, Delaunay M, Chastang C, Guillot B, Cupissol B, et al. Results of the french multicenter trial on adjuvant therapy with interferon alfa-2a in resected primary melanoma > 1.5 mm thick. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1996; 15: 437 (Abstract).
- Halaban R. Growth factors and tyrosine protein kinases in normal and malignant melanocytes. *Cancer Metastasis Rev* 1991; 10: 129-40.
- Harris MN, Shapiro RL, Roses DF. Primary surgical management (excision and node dissection) based on pathology and staging. *Cancer* 1995a; 75: 715-25.
- Harris MN, Bystryn JC. Improved survival of patients with melanoma with an antibody response to immunization to a polyvalent melanoma vaccine. *Cancer* 1995b; 75: 495-502.
- Hart IR, Vile RG. Targeted gene therapy. *Br Med Bull* 1995; 51: 647-55.
- Hersey P, Hasic E, MacDonald M, Edwards A, Spurling A, Coates AS, et al. Effects of recombinant leukocyte interferon (rIFN-alpha A) on tumour growth and immune responses in patients with metastatic melanoma *Br J Cancer* 1985; 51: 815-26.
- Hoon DS, Wang Y, Dale PS, Conrad AJ, Schmid P, Garrison D, et al. Detection of occult melanoma cells in blood with a multiple-marker polymerase chain reaction assay. *J Clin Oncol* 1995; 13: 2109-16.
- Jakowatz JG, Meyskens FL. Evaluation and treatment of the patient with early melanoma. *Compr Ther* 1995; 21: 46-50.
- Johnson N, Mant D, Newton J, Yudkin PL. Role of primary care in the prevention of malignant melanoma. *Br J Gen Pract* 1994; 44: 523-26.
- Johnson TM, Smith JW, Nelson BR, Chang A. Current therapy for cutaneous melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1995; 32: 689-707.

- Jones GJ, Itri LM. Safety and tolerance of recombinant interferon alfa-2a (Roferon-A) in cancer patients. *Cancer* 1986; 57(8 Suppl):1709-15.
- Kageshita T, Hirai S, Ono T, Ferrone S. Human high molecular weight-melanoma associated antigen mimicry by mouse anti-idiotypic MAb MK2-23. Immunohistochemical analysis of the reactivity of anti-anti-idiotypic MAb with surgically removed melanoma lesions. *Int J Cancer* 1995; 60: 334-40.
- Karakousis CP, Choe KJ, Holyoke ED. Biologic behaviour and treatment of intransit metastasis of melanoma. *Surg Gynecol Obstet* 1980; 150: 29-36.
- Katsambas A, Nicoladou E. Cutaneous malignant melanoma and sun exposure. Recent developments and epidemiology. *Arch Dermatol* 1996; 132: 980-3.
- Kawakami Y, Eliyahu S, Sakaguchi K, Robbins PF, Rivoltini L, Yannelli Jr, et al. Identification of the immunodominant peptides of the mart-1 human melanoma antigen recognized by the majority of HLA-a2-restricted tumor infiltrating lymphocytes. *J Exp Med* 1994; 180: 347-52.
- Kawakami Y, Eliyahu S, Jennings C, Sakaguchi K, Kang X, Southwood S, et al. Recognition of multiple epitopes in the human melanoma antigen Gp100 by tumor-infiltrating T lymphocytes associated with in vivo tumor regression. *J Immunol* 1995; 154: 3961-8.
- Khayat D, Borel C, Tourani JM, Benhammouda A, Antoine E, Rixe O, et al. Sequential chemioimmunotherapy with cisplatin, interleukin-2 and interferon alfa-2a for metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 1993; 11:2173-80.
- Kirkwood JM, Ernstoff MS. Interferons in the treatment of human cancer. *J Clin Oncol* 1984: 336-52.

- Kirkwood JM, Ernstoff MS, Davis CA, Reiss M, Ferraresi R, Rudnick SA. Comparison of intramuscular and intravenous recombinant alpha-2 interferon in melanoma and other cancers. *Ann Intern Med* 1985; 103: 32-6.
- Kirkwood JM, Ernstoff MS, Trautman T, Hebert G, Nishida Y, Davis CA et al. In vivo response to recombinant interferon gamma during a phase I dose-response trial in patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 1992; 8:1070-82.
- Kirkwood JM. Preclinical studies, experimental therapeutics, and clinical management of advanced melanoma. *Curr Opin Oncol* 1992; 4: 368-79.
- Kirkwood JM. Systemic therapy of melanoma. *Curr Opin Oncol* 1994; 6: 204-11.
- Kirkwood JM, Strawderman MH, Ernstoff MS, Smith TJ, Borden EC, Blum RH. Interferon Alfa-2b Adjuvant Therapy of High-Risk Resected Cutaneous Melanoma: The Eastern Cooperative Oncology Group Trial EST 1684. *J Clin Oncol* 1996; 14: 7-17.
- Knight E, Fahey D. Human interferon beta: effects of deglycosilation. *Interferon Res* 1982; 2: 421-29.
- Koh HK, Geller AC, Miller DR, Lew RA. The early detection of and screening for melanoma. International Status. *Cancer* 1995a; 75: 674-83.
- Koh HK, Geller AC. Melanoma control in the united states: current status. *Recent Results in Cancer Res* 1995b; 139: 215-24.
- Koh HK, Geller AC, Miller DR, Lew RA. The current status of melanoma early detection and screening. *Dermatol Clin* 1995; 13: 623-34.
- Kokoschka EM, Trautinger F, Knobler RM, Pohl-Markl H, Micksche M. Long-term adjuvant therapy of high-risk malignant melanoma with interferon α 2b. *J Invest Dermatol* 1990; 95(6 Suppl): 193S-197S.

- Kopp WC, Smith JW 2d, Ewel CH, Alvord WG, Main C, Guyre PE, et al. Immunomodulatory effects of interferon-gamma in patients with metastatic malignant melanoma. *J Immunother* 1993; 13: 181-90.
- Krementz ET, Muchmore JH, Carter RD, Sutherland CM. Multiple perfusions for melanoma. *Melanoma Res* 1994; 4 (Supl 1): 39-44.
- Krown SE, Burk MW, Kirkwood JM, Kerr D, Morton DL, Oettgen HF. Human leukocyte (alpha) interferon in metastatic malignant melanoma: the American Cancer Society phase II trial. *Cancer Treat Rep* 1984; 68: 723-6.
- Kruit WH, Punt CJ, Goey SH, Demulder PH, Gratama JW, Eggermont AM, et al. Dose efficacy study of two schedules of high-dose bolus administration of interleukin 2 and interferon alpha in metastatic melanoma. *Br J Cancer* 1996; 74: 951-5.
- Ledo Sáenz de Tejada E, de las Heras Alonso M^ªE, Ledo Pozueta A. Actitudes terapéuticas en el tratamiento del melanoma maligno cutáneo. *Inflamación* 1997; 8: 26-34.
- Lee SM, Betticher DC, Thatcher N. Melanoma: chemotherapy. *Br Med Bull* 1995; 51: 609-30.
- Legha SS, Papadopoulos N, Plager C, Ring S, Chawla SP, Evans LM, et al. Clinical evaluation of recombinant interferon alfa-2a (Roferon-a) in metastatic melanoma using two different schedules. *J Clin Oncol* 1987; 5: 1240-6.
- Legha S, Ring S, Papadopoulos N, Chawla S, Benjamin R. Evaluation of a triple drug regimen containing Cisplatin-Vinblastine and DTIC in patients with metastatic melanoma [abstract] *Proc Am Sci Clin Oncol* 1988; 7: 250
- Lejeune F, Liénard D, Eggermont A, Schraffordt Koops H, Rosenkaimer F, Gérain J, et al. Rationale for using TNF α and chemotherapy in regional therapy of melanoma. *J Cell Biochem* 1994; 56: 52-61.

- Lienard D, Ewalenko P, Delmonte JJ, Renard N, Lejune FJ. High dose recombinant tumor necrosis factor α in combination with interferon gamma and melphalan in isolation perfusion of the limbs for melanoma and sarcoma. *J Clin Oncol* 1992; 10: 52-60.
- Livingston PO. Approaches to augmenting the immunogenicity of melanoma gangliosides: from whole melanoma cells to ganglioside-KLH conjugate vaccines. *Immunol Rev* 1995; 145: 147-66.
- López-Abente G, Pollán M, Escolar A, Errezola M, Abaira V. Atlas de mortalidad por cáncer y otras causas en España, 1978-1992. Madrid: Fundación Científica de la Asociación Española Contra el Cáncer; 1996.
- Lyons JH, Cockerell CJ. Elective lymph node dissection for melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1994; 30: 467-80.
- MacKensen A, Carcelain G, Viel S, Raynal MC, Michalaki H, Triebel F, et al. Direct evidence to support the immunosurveillance concept in a human regressive melanoma. *J Clin Invest* 1994; 93: 1391-6.
- MacKie RM, Hole D. Audit of public education campaign to encourage earlier detection of malignant melanoma. *BMJ* 1992; 304:1012-5.
- MacKie RM. Melanoma prevention and early detection. *Br Med Bull* 1995; 51: 570-83.
- Maio M, Altomonte M, Tatake R, Zeff RA, Ferrone S. Reduction in susceptibility to natural killer cell-mediated lysis of human FO-1 melanoma cells after induction of HLA class I antigen expression by transfection with b2m gene. *J Clin Invest* 1991; 88: 282-9.
- Mastrangelo MJ, Maguire HC Jr, Sato T, Nathan FE, Berd D. Active specific immunization in the treatment of patients with melanoma. *Semin Oncol* 1996; 23: 773-81.

- McCarthy WH, Shaw HM, Milton GW. Efficacy of elective lymph node dissection in 2,347 patients with clinical stage I malignant melanoma. *Surg Gynecol Obstet* 1985; 161: 575-80.
- McMillan TJ. Residual DNA damage what is left over and how does this determine cell fate. *Eur J Cancer* 1992; 28:267-9.
- Meisenberg B. High-dose chemotherapy and autologous stem cell support for patients with malignant melanoma. *Bone Marrow Transplant* 1996; 17: 903-6.
- Melia J, Ellman R, Chamberlain J. Meeting the health of the nation target for skin cancer: problems with tackling prevention and monitoring trends. *J Public Health Med* 1994; 16: 225-32.
- Meyskens FL, Loescher L, Moon TE, Tagasaki B, Salmon SE. Relation of in vitro colony survival to clinical response in a prospective trial of single-agent chemotherapy for metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 1984; 2: 1223-8.
- Micksche M. Production of polypeptide regulatory factors by human melanoma cells. *In Vivo* 1994; 8: 859-65.
- Miller K, Abeles G, Oratz R, Zeleniuch-Jacquotte A, Cui J, Roses DF, et al. Comparative distribution of S-100 protein and antigen HMB-45 in various types of melanomas and naevi. *Nature* 1980; 286: 400-1.
- Milton GW, Shaw HM, McCarthy WH, Pearson L, Balch CM, Soong SJ. Prophylactic lymph node dissection in clinical stage I cutaneous malignant melanoma: results of surgical treatment in 1319 patients. *Br J Surg* 1982; 69: 108-11.
- Mitchell MS. Active specific immunotherapy of melanoma. *Br Med Bull* 1995; 51: 631-46.

- Mittelman A, Wang X, Matsumoto K, Ferrone S. Antiantidiotypic response and clinical course of the disease in patients with malignant melanoma immunized with mouse antiidiotypic monoclonal antibody MK2-23. *Hybridoma* 1995; 14: 175-81.
- Monach PA, Meredith SC, Siegel CT, Schreiber H. A unique tumor antigen produced by a single aminoacid substitution. *Immunity* 1995; 2: 45-9.
- Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagel LA, Storm KS, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992; 127: 392-9.
- Morton D, Davtyan D, Wanek L, Foshag LJ, Cochran AJ. Multivariate analysis of the relationship between survival and the microstage of primary melanoma by Clark level and Breslow Thickness. *Cancer* 1993a; 71: 3737-43.
- Morton DL, Wen DR, Foshag LJ, Essner R, Cochran AJ. Intraoperative lymphatic mapping and selective lymphadenectomy for early stage melanomas of the head and neck. *J Clin Oncol* 1993b; 11: 1751-6.
- Moyano AJ. *Melanoma maligno*. Madrid: Ediciones Ergon; 1997.
- Mukherji B, Chakraborty NG. Immunobiology and immunotherapy of melanoma. *Curr Opin Oncol* 1995; 7: 175-84.
- Mulder NH, Vandergraaf WT, Willemsse PH, Koops HS, Devries EG, Sleijfer DT. Dacarbazine (DTIC)-based chemotherapy or chemo-immunotherapy of patients with disseminated malignant melanoma. *Br J Cancer* 1994; 70:681-83.
- Murray JL, Zukiwski AA, Mujoo K, Rosenblum MG. Recombinant Alpha-interferon enhances tumor targeting of an antimelanoma monoclonal antibody in vivo. *J Biol Response Mod* 1990; 9: 556-63.

- Nabel GJ, Nabel EG, Yang ZY, Fox BA, Plautz GE, Gao X et al. Direct gene transfer with DNA-liposome complexes in melanoma: expression, biologic activity, and lack of toxicity in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 1307-11.
- Nakayama J, Takeuchi M, Mayumi H, Nagae S, Matsuda K, Yasui H et al. Hyperthermic isolated limb perfusion with intra-arterial administration of carboplatin and/or interferon-beta for the treatment of malignant melanoma of the leg. *J Dermatol* 1994; 21:915-22.
- O'Rourke MGE, Bourke C. Recommended width of excision for primary malignant melanoma. *World J Surg* 1995; 19: 343-5.
- Ozisik YY, Meloni AM, Altungoz O, Peier A, Karakousis C, Leong Sp, et al. Cytogenetic findings in 21 malignant melanomas. *Cancer Genet Cytogenet* 1994; 77:69-73.
- Pamiani G, Colombo MP. Somatic gene therapy of human melanoma. Preclinical studies and early clinical trials. *Melanoma Res* 1995; 5: 295-301.
- Pandolfi F, Boyle LA, Trentin L, Kurnick JT, Isselbacher KJ, Gattoni-Celli S. Expression of HLA-A2 antigen in human melanoma cell lines and its role in T-cell recognition. *Cancer Res* 1991; 51: 3164-70.
- Proebstle TM, Scheibenbogen C, Sterry W, Keilholz U. A phase II study of dacarbazine, cisplatin, interferon-alpha, and high-dose interleukin-2 in 'poor risk' metastatic melanoma. *Eur J Cancer* 1996; 32A: 1530-33.
- Punt CJ, van Herpen CM, Jansen RL, Vreugdenhil G, Muller EW, de Mulder PH. Chemoimmunotherapy with bleomycin, vincristine, lomustine, dacarbazine (BOLD) plus interferon- α for metastatic melanoma: A multicenter phase II study. *Br J Cancer* 1997; 76: 266-9.

- Pyrhönen S, Hahka-Kemppinen M, Muhonen T. A promising interferon plus four-drug chemotherapy regimen for metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 1992; 10: 1919-26.
- Quesada JR, Talpaz M, Rios A, Kurzrock R, Gutterman J. Clinical toxicity of interferons in cancer patients: a review. *J Clin Oncol* 1986; 4: 234-43.
- Ramírez G, Wilson W, Grage T, Hill G. Phase II evaluation of 1.3.-bis(2-chloroethyl)-l-nitrosourea, (BCNU: NSC-409952) in patients with solid tumors. *Cancer Chemother Rep* 1972; 36: 787-90.
- Rankin EM. Scientific aspects of gene therapy in melanoma. *Curr Opin Oncol* 1995; 7: 192-6.
- Ravindranath MH, Amiri AA, Bauer PM, Kelley MC, Essner R, Morton DL. Endothelial-Selectin ligands Sialyl Lewis^x and Sialyl Lewis^a are differentiation antigens immunogenic in human melanoma. *Cancer* 1997; 79: 1686-97.
- Reginald C.S. Medical management of stage IV malignant melanoma. *Medical issues. Cancer* 1995; 75: 735-41.
- Reintgen DS, McCarty KM Jr, Cox E, Seigler HF. Malignant melanoma in black American and white American populations: a comparative review. *JAMA* 1982; 284: 1856-9.
- Reintgen DS, Cox EB, McCarty KM Jr, Vollmer RT, Seigler HF. Efficacy of elective lymph node dissection in patients with intermediate thickness primary melanoma. *Ann Surg* 1983; 198: 379-85.
- Reintgen DS, Balch CM, Kirkwood J, Ross M. Recent advances in the care of the patient with malignant melanoma. *Ann Surg* 1997; 225: 1-14.
- Renault PF, Hoofnagle JH, Park Y, Mullen KD, Peters M, Jones DB, et al. Psychiatric complications of long-term interferon alfa therapy. *Arch Intern Med* 1987; 147: 1577-80.

- Richards JM, Mehta N, Ramming K, Skosey P. Sequential chemoimmunotherapy in the treatment of metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 1992; 10: 1338-43.
- Ritter G, Boosfeld E, Claves M, Oettgen HF, Old LJ, Livingston PO. Antibody response after immunization with gangliosides GD3, GD3 lactones, GD3 amide and GD3 gangliosidol in the mouse. *Cancer Res* 1990; 50: 1403-10.
- Robbins PF, El-Gamil M, Li YF, Fitzgerald EB, Kawakami Y, Rosenberg SA. The intronic region of an incompletely spliced Gp100 gene transcript encodes an epitope recognized by melanoma-reactive tumor-infiltrating lymphocytes. *J Immunol* 1997; 159: 303-8.
- Robinson WA, Mughal TI, Thomas MR, Johnson M, Spiegel RJ. Treatment of metastatic malignant melanoma with recombinant interferon α -2. *Immunobiology* 1986; 172: 275-82.
- Rosen CF, Seki Y, Farinelli W, Stern RS, Fitzpatrick TB, Pathak MA et al .A comparison of the melanocyte response to narrow band UVA and UVB exposure in vivo. *J Invest Dermatol* 1987; 88:774-9.
- Rosenberg SA, Yang JC, Schwartzentruber DJ, Hwu P, Marincola FM, Topalian SL et al. Immunologic and therapeutic evaluation of a synthetic peptide vaccine for the treatment of patients with metastatic melanoma. *Nature* 1998; 4: 321-7.
- Ross MI, Stern SJ, Wanebo HJ. Mucosal melanomas. En: Balch CM, Houghton AN, Milton GW, Sober AJ, Soong SJ. *Cutaneous melanoma*, 2nd ed. Philadelphia: JB Lippincott. 1992. p. 325-35.
- Ross MI. Surgery and other local-regional modalities for all stages of melanoma. *Curr Opin Oncol* 1994; 6: 197-203.

- Ross MI. Prospective Randomized Trials in melanoma: defining contemporary surgical roles. *Cancer Treat Res* 1997; 90: 1-27.
- Roth JA, Cristiano RJ. Gene therapy for cancer: what have we done and where are we going?. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 21-39.
- Rudenstam CM. Open trials in cutaneous malignant melanoma. *Clinical trials. Eur J Surg Oncol* 1996; 22: 128-30.
- Ruiter DJ, Bergman W, Welvaart K, Scheffer E, Van Vloten WA, Russo C, et al. Immunohistochemical analysis of malignant melanomas and nevocellular nevi with monoclonal antibodies to distinct monomorphic determinants of HLA antigens. *Cancer Res* 1984; 44: 3930-5.
- Runger TM, Klein CE, Becker JC, Brocker EB. The role of genetic instability, adhesion, cell motility, and immune escape mechanisms in melanoma progression. *Curr Opin Oncol* 1994; 6: 188-96.
- Schneebaum S, Briele HA, Walker MJ, Greager J, Wood DK, Ronan SG et al. Cutaneous thick melanoma: prognosis and treatment. *Arch Surg* 1987; 122: 707-11.
- Schneeberger A, Koszik F, Stingl G. Immunologic host defense in melanoma: delineation of effector mechanisms involved and of strategies for the augmentation of their efficacy. *J Invest Dermatol* 1995 (1 Suppl); 105: 110S-116S.
- Schuchter L, Schultz DJ, Synnestvedt M, Trock BJ, Guerry D, Elder DE, et al. A prognostic model for predicting 10-year survival in patients with primary melanoma. The Pigmented Lesion Group. *Ann Intern Med* 1996; 125: 369-75.
- Sertoli MR, Bernengo MG, Ardizzoni A, et al. Phase II trial of recombinant α -2b interferon in the treatment of metastatic skin melanoma. *Oncology* 1989; 46: 96-8.

- Shelley W, Quirt I, Bodhurta A, et al. Lomustine, Vincristine and Procarbazine in the treatment of metastatic malignant melanoma. *Cancer Treat Rep* 1985; 69: 39-42.
- Slingluff C, Vollmer R, Reintgen D, Seigler HF. Malignant melanoma arising during pregnancy. A study of 100 patients. *Ann Surg* 1990; 211: 552-9.
- Stone CA, Goodacre TE. Surgical management of regional lymph nodes in primary cutaneous malignant melanoma. *Br J Surg* 1995; 82: 1015-22.
- Strom EA, Ross MI. Adjuvant radiation therapy following axillary lymphadenectomy for metastatic melanoma: local control and toxicity. Proceedings of the 46th Cancer Symposium at the 1993 Society of Surgical Oncology Meeting in Los Angeles, California, 45.
- Taguchi T, Abe S, Nakano K, et al. Synergistic enhancement of the antitumor activity of recombinant human TNF- α by recombinant human IFN- α . *Cancer Detect Prevent* 1988; 12: 105-14.
- Thompson JF, Lai DTM, Ingvar C, Kam PCA. Maximizing efficacy and minimizing toxicity in isolated limb perfusion for melanoma. *Melanoma Res* 1994; 4 (Supl 1): 45-50.
- Vadhan-Raj S, Cordon-Cardo C, Carswell E, Mintzer D, Dantis L, Duteau C, et al. Phase I trial of a mouse monoclonal antibody against GD3 ganglioside in patients with melanoma: induction of inflammatory responses at tumor sites. *J Clin Oncol* 1988; 6: 1636-48.
- Valentine AD, Meyers CA, Talpaz M. Treatment of neurotoxic side effects of interferon-alpha with naltrexone. *Cancer Invest* 1995;13:561-6.
- Van den Eynde B, Brichard VG. New tumor antigens recognized by T cells. *Curr Opin Immunol* 1995; 7: 674-81.

- Van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, Lurquin C, De Plaen E, Van den Eynde B, et al. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* 1991; 254: 1643-7.
- Van der Esch EP, Cascinelli N, Preda F, Morabito A, Bufalino R. Stage I melanoma of the skin: evaluation of prognosis according to histologic characteristics. *Cancer* 1981; 48: 1668-73.
- Veronesi U, Adamus J, Bandiera DC, Brennhovd IO, Caceres E, Cascinelli N et al. Inefficacy of immediate node dissection in stage I melanoma of the limbs. *N Engl J Med* 1977; 297: 627-30.
- Veronesi U, Adamus J, Bandiera DC, Brennhovd IO, Caceres E, Cascinelli N et al. Delayed regional lymph node dissection in stage I melanoma of the skin of the lower extremities. *Cancer* 1982; 49: 2420-30.
- Vollmer R. Malignant melanoma. A multivariate analysis of prognostic factors. *Pathol Annu* 1989; 24: 383-407.
- Wang X, Heller R, VanVoorhis N, Cruse CW, Glass F, Fenske N et al. Detection of submicroscopic metastases with polymerase chain reaction in patients with malignant melanoma. *Ann Surg* 1994; 220: 768-74.
- Whitehead RP, Figlin R, Citron ML, Pfile J, Moldawer N, Patel D, et al. A phase II trial of concomitant human interleukin-2 and interferon-2a in patients with disseminated malignant melanoma. *J Immunother* 1993; 13: 117-21.
- WHO. Handbook for Repeating Results of Cancer Treatment. Geneva: World Health Organization; 1979.
- Whooley BP, Wallack MK. Surgical management of melanoma. *Surg Oncol* 1995; 4: 187-95.

- Wiernick PH, Einzig AI. Taxol in malignant melanoma. *Monogr Natl Cancer Inst* 1993; 15: 185-7.
- Wills RJ, Dennis S, Spiegel SH, Gibson DM, Nadler PI. Interferon kinetics and adverse reactions after intravenous, intramuscular and subcutaneous injection. *Clin Pharmacol Ther* 1984; 35: 722-7.
- Williams ML, Sagebiel RW. Melanoma risk factors and atypical moles. *West J Med* 1994; 160: 343-50.
- Wilson K. Melanoma in Britain and British Columbia [letter; comment]. *BMJ* 1994; 309: 671.
- Wong JH, Sterns EE, Koplaid KH, Nizze JA, Morton DL. Prognostic significance of pregnancy in stage I melanoma. *Arch Surg* 1989; 124: 1227-31.
- Yohn J, Hoffman S, Norris D, Robinson W. Melanoma: 2. Diagnosis and Treatment. *Hosp Pract* 1994; 29:27-34.