

Actualización en melanoma: incidencia, desarrollo y aspectos biológicos

Update on melanoma: incidence, development and biological aspects

P. Redondo

RESUMEN

El melanoma es un tumor maligno, altamente metastásico, que ha experimentado en los últimos 40 años un incremento espectacular en todas sus formas clínicas, triplicando su incidencia. Además de la predisposición genética, las exposiciones solares intensas y puntuales en pacientes con piel clara, junto a los antecedentes de quemadura solar en la infancia, constituyen el principal factor de riesgo para su aparición. Muchas observaciones clínicas e histológicas sugieren una clara interacción entre el sistema inmune del huésped y el melanoma. En la progresión de la enfermedad, en el paso de una fase de crecimiento horizontal a una fase invasiva de crecimiento vertical, factor determinante del pronóstico, intervienen factores sólo parcialmente conocidos. La angiogénesis o desarrollo de nuevos vasos, es necesaria para mantener el crecimiento, invasión y capacidad metastásica de un tumor. Entre las citocinas proangiogénicas, secretadas por las células de melanoma, destacan el VEGF y el bFGF, que favorecen la proliferación endotelial y la capacidad invasiva del tumor. Asimismo se ha demostrado que la presencia de citocinas Th1 en el "ambiente tumoral" impiden la progresión de la enfermedad y favorece la regresión, mientras que un patrón Th2 favorece la invasión e incrementa el potencial metastásico. La disminución en la respuesta inmune del huésped puede estar mediada por la síntesis de citocinas inmunosupresoras por las células tumorales (IL-10, TGF- β , VEGF) y por la expresión en su superficie de moléculas de Fas-L, que hacen del melanoma un tejido privilegiado desde un punto de vista inmunológico.

Palabras clave: Melanoma. Angiogénesis. Inmunología. Escape tumoral. Apoptosis.

ABSTRACT

Melanoma is a malign tumour, highly metastatic, that has undergone a spectacular increase in all of its clinical forms in the last 40 years, with a threefold increase in its incidence. Besides genetic predisposition, intense exposure to sunlight by light skinned patients, together with antecedents of sunburn during childhood, constitute the principal risk factor for its appearance. Many clinical and histological observations suggest a clear interaction between the immune system of the host and skin cancer. In the disease's progression, in the passage from a phase of horizontal growth to an invasive phase of vertical growth - the determinant factor in prognosis - factors intervene that are only partially understood. Angiogenesis, or the development of new vessels, is necessary to maintain the growth, invasion and metastatic capacity of a tumour. VEGF and bFGF are outstanding amongst the pro-angiogenic cytokines secreted by the melanoma cells; these favour endothelial proliferation and the invasive capacity of the tumour. Similarly, it has been found that the presence of Th1 cytokines in the "tumourous environment" prevents the disease's progression and favours regression, while a Th2 pattern favours invasion and increases the potential for metastasis. The decline in the immune response of the host might be mediated by the synthesis of immunosuppressor cytokines by the tumourous cells (IL-10, TGF- β , VEGF) and by the expression on its surface of Fas-L molecules, which make melanoma a privileged tissue from an immunological point of view.

Key words: Melanoma. Angiogenesis. Immunology. Tumoural leak. Apoptosis.

ANALES Sis San Navarra 2000; 23 (1): 67-92.

Departamento de Dermatología. Clínica Universitaria de Navarra. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Pamplona.

Correspondencia

Dr. Pedro Redondo
Departamento de Dermatología
Clínica Universitaria de Navarra
Apdo. 4209
31080 Pamplona
Tfno. 948 255400
Fax: 948 172294
E-mail: predondo@unav.es

INTRODUCCIÓN

El melanoma maligno es una neoplasia originada en los melanocitos que derivan de la cresta neural. La mayoría de estos tumores se desarrollan en la piel en la que los melanocitos se asientan, principalmente a nivel epidérmico y ocasionalmente en la dermis. El incremento en la incidencia del melanoma maligno en los últimos años y su estrecha relación con los factores individuales y ambientales, así como la importancia de un diagnóstico precoz, son datos que justifican la enorme trascendencia de este tumor. Su desarrollo en el órgano más accesible a la exploración y la facilidad con la que en la mayor parte de los casos se puede diagnosticar, junto a una mayor sensibilización de la población, han contribuido a que cada vez se traten más melanomas en fases iniciales, cuando la mayor parte son curables. Sin embargo, cuando la enfermedad se disemina la mayoría de los pacientes fallecen en un plazo corto de tiempo. Por todo ello, las medidas de prevención primarias y secundarias son muy importantes para reducir estas cifras tan negativas en el momento actual. Simultáneamente, un mejor conocimiento biológico de esta neoplasia, junto al desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas, permitirá avanzar más rápido en el control del melanoma cutáneo.

INCIDENCIA

El melanoma es una de las neoplasias que ha experimentado un incremento más espectacular ya que casi ha triplicado su incidencia en los últimos 40 años. Si en 1975 representaba el 1% de los tumores malignos, hoy en día este porcentaje asciende al 3%, y se estima que en Occidente su incidencia aumenta a un ritmo de un 4% por año¹. Las tasas de incidencia y mortalidad del melanoma se incrementan en los individuos de raza blanca con más rapidez que en cualquier otra forma de cáncer, excepción hecha al cáncer de pulmón en mujeres de algunos países². En los años 80 se consideraba que el riesgo anual de un ciudadano norteamericano de desarrollar melanoma a lo largo de su vida era de 1/87, y otros estudios predicen que uno de cada 75 nacidos en el año 2000 desarro-

llará un melanoma a lo largo de su vida³. En Queensland (Australia), la ciudad del mundo con una mayor incidencia de melanoma, la tasa de incidencia era de 16,4 casos por 100.000 habitantes en 1965, elevándose hasta 32,7 en 1977 y a 49,3 en 1987⁴. En Europa la incidencia se duplica cada 10 a 20 años⁵ y, concretamente en España, la incidencia actual se mantiene entre 1,7 a 2,5 por 100.000 habitantes para varones, y desde 2 a 3,2 por 100.000 habitantes en mujeres, multiplicándose por cuatro en relación con la década pasada⁶.

El melanoma se presenta en adultos de todos los grupos de edad con una incidencia máxima entre los 40 y 60 años y, en general, afecta a ambos sexos de forma similar, aunque algunas series defienden una mayor incidencia en la mujer. En cuanto a la localización anatómica existe un predominio en extremidades inferiores en mujeres, y tronco y extremidades superiores en varones. Sin embargo, el mayor incremento de incidencia tanto en hombres como en mujeres ocurre en el tronco. A diferencia de muchos tumores, cuya frecuencia disminuye en los grupos de edad avanzada, las tasas de incidencia en melanoma siguen aumentando con la edad, aunque en las mujeres este incremento es menor que en los varones. También se aprecia una incidencia creciente en edades más tempranas, y para algunos autores la edad media de presentación se situará entre los 30 y 35 años en la primera década del 2000⁷. A pesar de esta elevación general en la incidencia del melanoma, la mortalidad tiende a estabilizarse. En 1950 la mortalidad por melanoma se situaba en torno al 50%, mientras que hoy en día más del 50% de los melanomas extirpados presentan un índice de Breslow inferior a 0,76 mm y la mortalidad se sitúa entre el 10 y el 20%⁸. Así, mientras la incidencia anual aumenta en muchas zonas alrededor del 6%, la mortalidad sólo lo hace sobre el 2%. Estos datos han sido atribuidos en parte al diagnóstico más precoz por el gran número de campañas de prevención y, en definitiva, a mayor sensibilización de la población. Sin embargo, algunos autores⁹ discrepan con la teoría anterior, y sugieren la posibilidad de que muchos de esos melanomas detectados en fase de crecimiento radial, sean lesiones de pequeño grosor, autolimitadas con un

comportamiento biológico benigno, y que habitualmente presentan una escasa capacidad de progresar hacia un fenotipo metastatizante. El que la incidencia de melanomas gruesos no haya remitido, a pesar de extirpar melanomas finos en poblaciones estrechamente vigiladas, apoya esta interpretación. En cualquier caso, hoy en día ante la mínima sospecha de un melanoma maligno la actitud racional terapéutica es la extirpación quirúrgica.

FACTORES DE RIESGO

Existen varios factores de riesgo individuales (endógenos) y otros ambientales (exógenos) que aumentan en diversa medida la posibilidad de padecer un melanoma.

Respecto a los factores individuales vamos a considerar la predisposición genética hereditaria y el papel precursor de las lesiones pigmentadas.

Un 5-10% de los pacientes que sufren melanomas tienen antecedentes familiares de esta enfermedad. Parece que existen al menos 4 genes implicados en la aparición de melanomas familiares¹⁰. Los aspectos moleculares de dos de ellos (el CDKN2A, un gen supresor tumoral que codifica la proteína p16, y el CDK4, un oncogen dominante) localizados en los cromosomas 9p21 y 12q14 respectivamente, han sido definidos.

También se ha demostrado que genes todavía sin identificar, localizados en los cromosomas 1p36 (el primero que se demostró asociado a nevus displásicos) y en 9p21 (el último encontrado, asociado además de melanomas a tumores gliales primarios) están implicados en la herencia del melanoma. En resumen, aunque se pueden encontrar alteraciones en varios genes y en su expresión, sólo un gen supresor el p16, aparece alterado constantemente en la mayoría de estudios, presentando mutaciones y deleciones, tanto en melanomas esporádicos como familiares¹¹.

Los nevus melanocíticos congénitos son aquéllos presentes en el momento del nacimiento o que aparecen en las primeras semanas de vida. Hoy en día no existe duda en relación a la capacidad de malignización de los nevus melanocíticos congénitos gigantes (mayores de 20 cm), y también algunos autores¹² consideran los

nevus melanocíticos congénitos medianos o pequeños como potenciales precursores de melanoma. Hasta la fecha no se ha logrado un consenso claro respecto a la actitud terapéutica en estos pacientes.

Respecto a los nevus melanocíticos adquiridos, su cantidad se relaciona con el fototipo cutáneo y la exposición solar en la infancia y adolescencia, influyendo de forma notable el número de quemaduras solares sufridas en los primeros años de vida. La presencia de un elevado número de nevus melanocíticos adquiridos se considera factor de riesgo elevado y, para algunos autores, representa el factor de riesgo más importante para desarrollar un melanoma¹³. La presencia de efélides tiene un significado similar: cuanto mayor número de lesiones, mayor riesgo –entre 2,6 y 20 veces– de desarrollar un melanoma¹⁴. Además, las personas más pecosas tienden a presentar más nevus, y es posible que la exposición solar afecte al desarrollo de ambos.

La aparición de nevus está regulada por factores genéticos correlacionados con marcadores fenotípicos, y promovida por la exposición solar. Se ha observado que existe un exceso de nevus melanocíticos en los pacientes trasplantados renales e inmunodeprimidos en general¹⁵. Todos los melanomas aparecidos en el grupo de los trasplantes renales tienen su origen en nevus previos, mientras que sólo uno de cada 5 melanomas procede de un nevus en los pacientes inmunocompetentes. Por esta causa, se ha sugerido que un estado inmunológico adecuado previene el incremento de melanomas derivados de nevus¹⁶.

Los nevus displásicos están estrechamente relacionados con el melanoma. Estos nevus fueron originalmente descritos como lesiones pigmentadas, clínicamente atípicas, en familias que tenían dos o más miembros con melanoma¹⁷. El diagnóstico de nevus displásico requiere atipia arquitectural (patrón de proliferación melanocítica lentiginosa) y atipia citológica, asociada a fibrosis a nivel de la dermis superficial. Clínicamente son lesiones pigmentadas adquiridas que aparecen en edad prepuberal o en la adolescencia, habitualmente de un diámetro que oscila entre 5 y 12 mm. Siempre presentan un componente macular y habitualmente en

el centro destaca un elemento papuloso. El color es variable, desde rosado a marrón oscuro, y los bordes suelen ser levemente irregulares. La presencia de nevus displásicos en 2 ó más miembros de una familia es considerado como "síndrome del nevus displásico"¹⁷. Los pacientes que presentan este síndrome tienen un riesgo 5 a 10 veces mayor de padecer melanoma; y aquéllos que además tienen en la familia 2 ó más miembros con melanoma, desarrollarán un melanoma casi con un 100% de probabilidad, comparado con el riesgo de la población general estimado en un 0,7%¹⁸.

Por otra parte, se acepta la existencia de un fototipo cutáneo especial asociado a una mayor predisposición de padecer melanoma; correspondería a personas que toleran mal el sol, se queman con facilidad y se broncean con dificultad. La incidencia de melanoma guarda relación con los fototipos bajos (fototipos I y II en la clasificación de los tipos de piel según su reactividad a la exposición solar)¹⁹ que presentan una piel muy sensible, se queman prácticamente siempre que se exponen a la radiación solar y nunca o mínimamente se pigmentan. Fenotípicamente se trata de pacientes caucásicos de piel blanca, ojos claros y pelo rubio o pelirrojo, que tienen un riesgo 12 veces superior de padecer un melanoma, respecto a individuos de piel morena, ojos marrones y pelo castaño o negro²⁰. Esta sensibilidad frente al sol se considera uno de los factores del huésped más estrechamente relacionados con el riesgo de padecer melanoma.

Aunque durante años han existido controversias, hoy en día se considera que la administración de anticonceptivos orales o terapia hormonal sustitutiva no incrementa el riesgo de melanoma²¹. Algunos autores han informado riesgos relativos incrementados de 2 a 3 veces, sobre todo en lo que respecta al riesgo de diseminación del melanoma superficial²², sin embargo, en otros estudios se encontraron sólo efectos mínimos.

Respecto a los factores ambientales, la radiación ultravioleta (RUV) es considerada hasta la fecha como el principal factor desencadenante conocido para el desarrollo de melanomas en una población genéticamente predispuesta. La primera asociación

entre la exposición solar y la aparición de melanoma fue demostrada en un estudio realizado en Australia en 1956, donde se observó un incremento de mortalidad por melanoma al descender la latitud²³. Esto en cambio no ocurre en Europa donde las incidencias más altas ocurren al norte con respecto a los países mediterráneos. El melanoma es más frecuente en los grupos socio-económicos altos, lo cual se ha intentado justificar por una posible relación con la exposición solar durante la práctica de actividades recreativas²⁴; incluso dentro de esta clase social, el melanoma maligno es más común en trabajadores a cubierto que en los que trabajan al aire libre. Así algunos estudios sugieren que la exposición solar esporádica en relación con actividades lúdico-recreativas y veraniegas conlleva un riesgo aumentado de melanoma, mientras que la exposición continua puede proteger para el desarrollo del melanoma²⁵. En cambio, un estudio reciente realizado por un grupo español, demuestra que la exposición solar continua, por razones laborales o de lugar de residencia, es un factor que eleva al doble el riesgo de padecer un melanoma⁶. Se considera que existen ciertas variaciones en la incidencia de los distintos tipos clínicos de melanoma en relación con el fenotipo y hábitos del paciente²⁶. Así el melanoma de extensión superficial está asociado con un modelo de exposición solar intermitente y una elevada asociación con nevus²⁷; mientras que el léntigo maligno melanoma ocurre en los pacientes ancianos asociado a modelos de exposición solar continuada y escasamente a nevus previos²⁸. El melanoma nodular en estos aspectos posee características intermedias entre el melanoma de extensión superficial y el léntigo maligno melanoma. El melanoma lentiginoso acral se localiza en zonas con una capa gruesa de queratina como las palmas y plantas, siendo la única forma de melanoma que ocurre igual en todas las razas y no presenta una asociación manifiesta con nevus ni con la exposición al sol. Existe una teoría que defiende la susceptibilidad de las células pigmentadas, dependiendo de su localización, para la transformación maligna²⁹. Esta teoría demuestra que la mayor parte de los melanomas que tienen un componente névico ocurren en localizaciones que no están expuestas habitualmente a la luz solar,

como puede ser la espalda, donde pequeñas dosis de radiación ultravioleta pueden transformarlos, mientras que en otras zonas con melanocitos "más estables" como por ejemplo la cara, son necesarias dosis mucho mayores de reacción ultravioleta para su malignización.

Los individuos que se queman fácilmente con la exposición solar y se broncean pobremente, parecen tener un elevado riesgo de melanoma maligno³⁰. Si dividimos, según el criterio anterior, la población en "resistente al sol" y "sensible al sol" encontramos un incremento en el riesgo de padecer un melanoma casi 7 veces mayor entre la población "sensible al sol" que ha tomado el sol entre los 15 y los 20 años. Sin embargo, esta circunstancia puede tener el efecto contrario, y ser protectora entre la población "resistente al sol", probablemente debido a la obtención de un bronceado fotoprotector¹⁴.

También la exposición solar durante la infancia y adolescencia parece tener una importante influencia en el riesgo de padecer un melanoma³⁰. Un estudio que valora la incidencia de melanoma entre nativos australianos e inmigrantes, llega a la conclusión que aquellos inmigrantes que llegaron a Australia antes de los 10 años tienen la misma incidencia de melanoma que los nativos, y conforme la inmigración es a una edad más tardía, esa incidencia disminuye claramente³¹. Otro estudio demuestra que la asociación de 5 ó más quemaduras solares severas antes de los 15 años, aumenta la incidencia de melanoma 2,7 veces, no siendo significativo cuando las quemaduras se producen posteriormente a los 15 años³². El bronceado se considera una defensa de la piel frente a una agresión externa, que molecularmente se traduce en un daño del ADN y en su proceso de reparación. En la carcinogénesis cutánea por RUV parecen influir tres niveles: en primer lugar, daño celular que clínicamente se traduce en melanogénesis, luego fallos en la reparación del ADN, y por último, depresión inmunológica que puede originar una pérdida de la inmunovigilancia³³. El espectro de la radiación ultravioleta A (320-340 nm) y radiación ultravioleta B (290-320 nm) además de producir mutaciones en el ADN sobre las células epidérmicas,

impide su reparación por cambios oxidativos y favorece la inmunosupresión, por lo que se cumplen muchos de los requisitos necesarios para el desarrollo tumoral³⁴. Trabajos realizados en la década de los 70 demuestran un aumento de la incidencia de melanoma maligno tanto en áreas de piel expuestas como no expuestas a la RUV. Estos autores sugieren la existencia de una sustancia activada o liberada por los melanocitos expuestos a la luz solar que también podría actuar sobre los melanocitos de zonas cubiertas. Hoy en día se considera que esta sustancia es la hormona estimulante de melanocitos-alfa³⁵. De esta manera se puede considerar ridícula la costumbre extendida de fotoproteger exclusivamente aquellas porciones de piel con lesiones pigmentadas, creyendo que de esta manera desaparece el riesgo de posible malignización, mientras que el resto de la superficie corporal recibe dosis altas de RUV.

De todo lo anterior se deduce que en pacientes con un fototipo I-III con una susceptibilidad especial (se queman con facilidad y se broncean con dificultad), las exposiciones solares intensas y puntuales (periodos vacacionales cortos intensamente aprovechados, "atracones solares"...) y los antecedentes de quemaduras en la infancia, son los mayores factores de riesgo para el desarrollo de un melanoma.

CLÍNICA

Desde un punto de vista clínico es improbable que una lesión pigmentada sea un melanoma cuando es circunscrita, simétrica, con bordes regulares y bien definidos, mide menos de 7 mm, su color es uniforme y no ha presentado cambios recientes. Al contrario, la presencia de Asimetría (A), Bordes irregulares (B), Coloración heterocrómica (C) y un Diámetro superior a 6 mm (D) debe ponernos en guardia. Dentro de esta conocida regla mnemotécnica del ABCD del melanoma también se incluyen la Elevación (E) de la lesión y cambios sintomáticos. La microscopía de epiluminiscencia o dermatoscopia (técnica diagnóstica no invasiva que permite el acceso visual a una parte de las estructuras subepidérmicas "in vivo"), con unos criterios bien definidos, puede contribuir a mejorar la preci-

sión del diagnóstico clínico en lesiones pigmentadas dudosas.

Basándonos en el patrón de crecimiento, los trabajos de Clark³⁶ y McGovern³⁷ sentaron las bases para la clasificación actual, que contempla cuatro formas clínico-patológicas de melanoma: melanoma de extensión superficial, melanoma nodular, melanoma sobre léntigo maligno y melanoma lentiginoso acral.

Aparte del melanoma nodular, que habitualmente desde el principio presenta una fase de crecimiento vertical, en los otros tres tipos, inicialmente el desarrollo se produce centrífugamente (fase de crecimiento radial) interesando sólo la epidermis. Posteriormente, puede comenzar la fase de crecimiento vertical que hace que las células tumorales invadan progresivamente la dermis y/o el tejido subyacente. Este crecimiento se mide histológicamente por los índices de Clark y Breslow respectivamente, según la afectación de las distintas capas de la piel o su grosor en milímetros. Mientras que en la fase de crecimiento radial el tratamiento quirúrgico adecuado habitualmente es curativo, en la fase de crecimiento vertical existe la posibilidad de metástasis locales, vía linfática o hemática, que disminuyen enormemente el porcentaje de curaciones.

Melanoma de extensión superficial

Se trata de la variedad más común, suponiendo alrededor del 70% de los melanomas cutáneos³⁸. Se cree que hasta un 40% de estas lesiones tendrían su origen en la transformación maligna de nevos displásicos, siendo el origen del 60% restante la transformación maligna directa de melanocitos epidérmicos. Aunque el melanoma de extensión superficial puede desarrollarse en cualquier localización, sus zonas preferentes son las piernas en las mujeres y la espalda en los varones. Clínicamente se caracteriza en su fase inicial por una lesión con pigmentación heterogénea que oscila entre un marrón negruzco y un gris azulado y, en ocasiones, áreas blanquecinas en el seno de la lesión que representan áreas de regresión, produciendo el aspecto de varias lesiones melánicas adyacentes independientes. Habitualmente los bordes son irregulares (Fig. 1). A medida que se desarrolla la fase de crecimiento vertical se forman uno o más nódulos que pueden erosionarse y sangrar posteriormente (Fig. 2). El melanoma de extensión superficial es la forma clínica predominante que ocurre en familiares directos de pacientes previamente diagnosticados de melanoma maligno. Entre los factores etiológicos se considera más importante



Figura 1. Melanoma de extensión superficial en región torácica. Además de la asimetría se aprecian áreas acrómicas de regresión.

una exposición solar episódica o vacacional que una exposición continua u ocupacional.

Melanoma nodular

Supone el 10-15% de los melanomas malignos, siendo por su frecuencia la segunda forma clínica³⁸. Habitualmente se

trata de un tumor maligno de melanocitos epidérmicos, que aparece "de novo" sobre una piel clínicamente normal sin fase de crecimiento radial preexistente, aunque también puede asociarse a nevus previos³⁹. Macroscópicamente son lesiones pápulo-nodulares, polipoides, a veces pediculadas y ulceradas (Fig. 3). Se ha discutido si esta

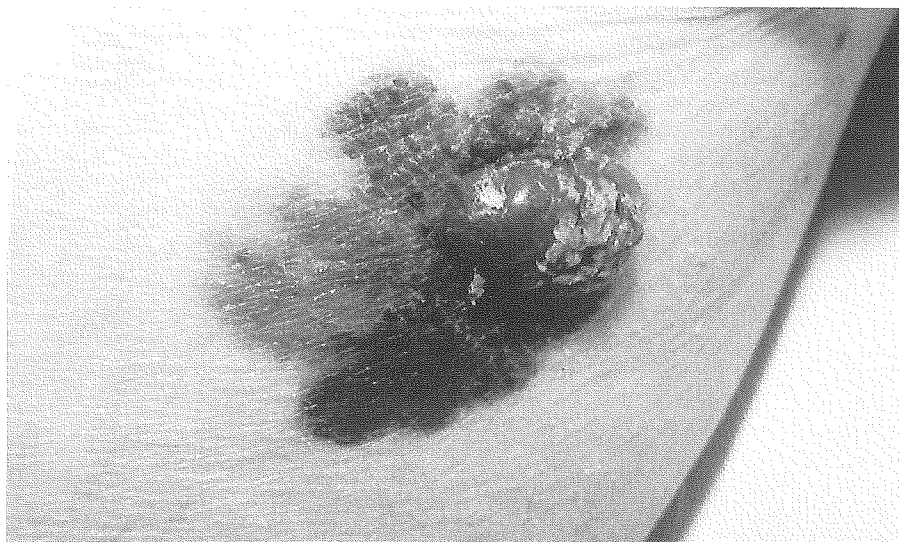


Figura 2. Melanoma en hueso poplíteo. Se observa un nódulo emergente sobre una lesión pigmentada heterocrómica, de bordes irregulares.

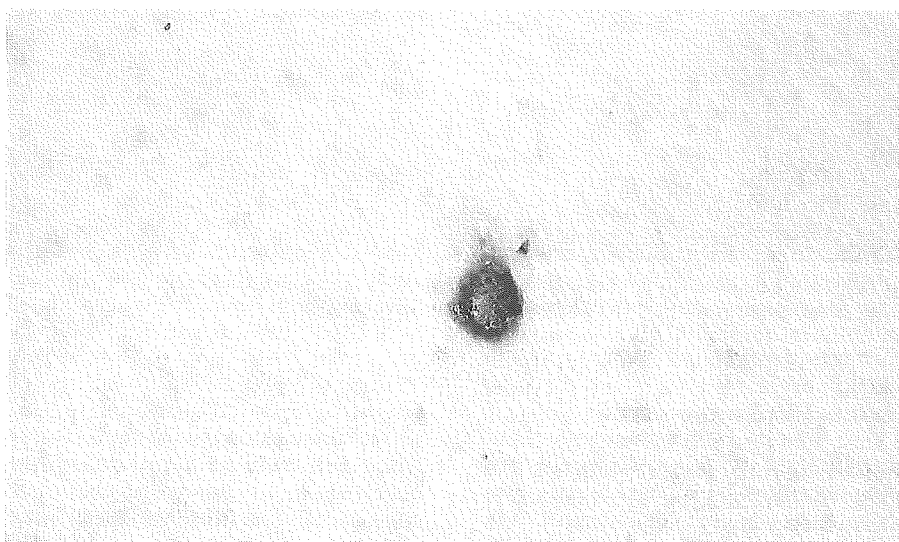


Figura 3. Melanoma nodular en la espalda. Destaca la asimetría y una pequeña lesión satélite adyacente.

variante polipoide del melanoma nodular representa un subtipo con un peor pronóstico, aunque hoy en día se interpreta que su agresividad viene dada exclusivamente por un mayor espesor tumoral. El melanoma nodular se localiza en cualquier lugar anatómico, aunque es más frecuente a nivel de tronco. Es la forma de melanoma con mayor riesgo de metastatizar.

Melanoma léntigo maligno

El melanoma sobre léntigo maligno es un trastorno producido en superficies expuestas al sol, que afecta típicamente a personas en la 7ª u 8ª décadas de la vida. También se denomina léntigo de Hutchinson en honor a su primer mentor⁴⁰. Histológicamente se caracteriza por un incre-

mento en el número de melanocitos atípicos en la capa basal epidérmica. La fase de crecimiento radial de esta neoplasia se caracteriza por su larga duración, de 5 a 15 años, o incluso más. Típicamente se inicia como una lesión maculosa pigmentada, heterocrómica, con frecuentes áreas de coloración más tenue, e incluso zonas acrómicas que corresponden a zonas de regresión (Fig. 4). El riesgo de transformación de un léntigo maligno en un melanoma es muy variable y, según las series, oscila entre un 2,2 hasta un 30%⁴¹. Una vez que se ha desarrollado la fase de crecimiento vertical, el pronóstico no es diferente al de los otros tipos de melanoma cutáneo y está condicionado por el espesor tumoral.



Figura 4. Melanoma sobre léntigo maligno a nivel facial. Se aprecia una lesión nodular costrosa correspondiente a una fase de crecimiento vertical.

Melanoma lentiginoso acral

Es particularmente frecuente en las razas negras y asiática, mientras que en la raza blanca representa menos del 5% de todos los melanomas. El melanoma lentiginoso acral tiene una menor asociación

que otros tipos de melanoma respecto a nevus displásicos y exposición solar crónica o quemaduras solares, desconociéndose el papel de otros posibles agentes etiológicos. Las localizaciones más frecuentes son los dedos del pie (Fig. 5), seguidos por la región palmar de las

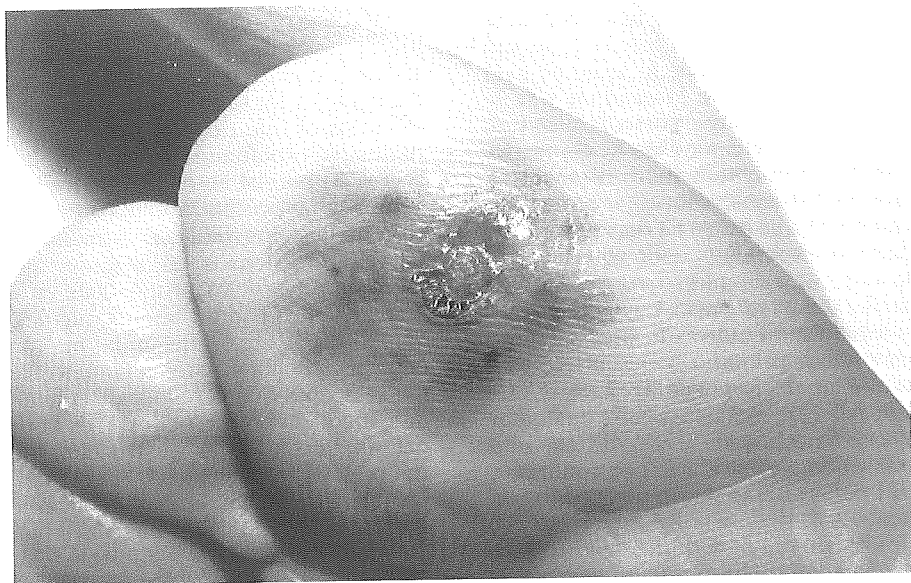


Figura 5. Melanoma lentiginoso acral en una localización típica. Son característicos los bordes difusos y la lesión ulcerada central.

manos. El melanoma subungueal –considerado como una variante del melanoma lentiginoso acral– es más frecuente en personas de la 6ª y 7ª décadas de la vida sin predominio de sexos y hasta un 75% de las presentaciones son en el dedo pulgar de la mano y primer dedo del pie³⁸. Inicialmente se manifiesta como una lesión hiperpigmentada a nivel del lecho ungueal, sobre todo en su porción proximal y, posteriormente, además de bandas de hiperpigmentación a nivel de la lámina ungueal (melanoniquia estriada), puede desarrollarse distrofia ungueal con rotura y presencia de masas exofíticas vegetantes. La pigmentación de la piel circundante a la uña y la cutícula se denomina signo de Hutchinson y permite diferenciar al melanoma del hematoma subungueal. Aunque se ha postulado que su mayor agresividad vendría dada por una fase de crecimiento radial más corta que en el lentigo maligno melanoma o en el melanoma de extensión superficial, es posible que ésta se infravalore por la dificultad de visualización de algunos de estos tumores y el retraso en el diagnóstico.

BIOLOGÍA DEL MELANOMA

La biología del melanoma es un tema apasionante por su variabilidad y dependencia inmunológica, que puede explicar por qué algunos tumores permanecen estables o silentes durante años; por qué otros presentan a partir de un determinado momento una agresividad desmesurada; o también, por qué tumores en principio con un pronóstico infausto en base a sus índices de Clark y Breslow, no dan nunca problemas, y en cambio otros con muy buen pronóstico inicial sí los desarrollan.

Es posible, que el mejor conocimiento del comportamiento biológico del melanoma, además de influir en el pronóstico, pueda modificar en el futuro criterios terapéuticos tan claros como ahora existen respecto a la lesión primaria³². Baste como botón de muestra una pregunta de la práctica clínica diaria: ¿Hasta qué punto tenemos que considerar los criterios quirúrgicos actuales ante un melanoma evidente, despreciando esa sabiduría popular que tantas veces hemos oído en la consulta – y

frente a la que hoy en día nos revelamos con nuestro "cientifismo ciego"?: "doctor, no me quite ese lunar que lo tengo de toda la vida, y a fulanita se lo quitaron y se le hizo malo". Ante estos pacientes, sonreímos, y les convencemos de lo contrario, cuando internamente a veces ni nosotros mismos lo estamos; sobre todo, cuando sabemos -porque así se ha demostrado en animales de experimentación- que es posible la existencia de micrometástasis a distancia del tumor primario, cuyo crecimiento es inhibido o controlado precisamente por ese tumor primario, y que la exéresis del tumor primario puede acelerar el crecimiento de esas metástasis⁴³. En cualquier caso estos hechos no dejan de ser una hipótesis compleja, todavía por confirmar, que no debe alterar nuestra actitud terapéutica.

¿Qué es lo que hace que un nevus displásico o un melanoma *in situ* permanezca invariable toda la vida?, ¿qué factores influyen para que se active y prolifere?, ¿qué factores influyen para el desarrollo de un crecimiento vertical, para que un melanoma se haga invasor y metastásico?, ¿por qué algunos no se transforman nunca?

Está claro que el melanoma maligno en su progresión expresa moléculas que contribuyen a facilitar un crecimiento local y a distancia, modificando la matriz tisular o induciendo alteraciones vasculares, pero también suprimiendo la respuesta efectora del sistema inmune. El punto crítico en la evolución de un melanoma es la transición de la fase de crecimiento radial (melanocitos localizados sólo en la epidermis) a la fase de crecimiento vertical (proliferación dérmica e invasión), pues se considera que en esta fase las células han adquirido capacidad metastatizante. Parece evidente que además de las alteraciones genéticas específicas predisponentes, resulta esencial la vigilancia que ejerce el sistema inmune sobre las células tumorales del melanoma para controlar las neoplasias incipientes. La transformación con capacidad metastásica, podría ser consecuencia de las argucias que esas células desarrollan para escaparse del control inmunológico.

Muchas observaciones clínicas e histológicas sugieren una interacción entre el sistema inmune del huésped y el melanoma maligno. De todos los tumores, el melanoma es el que tiene el mayor índice de regresión espontánea total, y se aprecia regresión parcial en el 13% de los casos⁴⁴. También la presencia del fenómeno del halo nevus, los infiltrados inflamatorios linfocitarios densos en algunos melanos, las diferencias pronósticas en aquellos pacientes con melanoma que desarrollan vitíligo, etc. reflejan la interacción entre melanoma y sistema inmune. Hoy en día se acepta que la respuesta celular normal, mediada por linfocitos T, es la principal implicada en la destrucción de los tumores ya establecidos⁴⁵. Sin embargo es posible que en las etapas iniciales de la diseminación metastásica (diseminación linfática, sanguínea y establecimiento de depósitos tumorales a distancia), los anticuerpos anti-células tumorales puedan ejercer un papel esterilizador, esencial para evitar esa diseminación.

ESCAPE INMUNOLÓGICO DEL MELANOMA

El desarrollo de una neoplasia en presencia de un sistema inmune puede explicarse por tres mecanismos patogénicos no mutuamente excluyentes. Primero, que exista un déficit inmunológico absoluto o relativo previo al desarrollo de la neoplasia, que la favorezca; segundo, que ese déficit sea inducido por la neoplasia; y tercero, que el tumor genere o produzca clones celulares con menor o nula inmunogenicidad debido a la falta de expresión de antígenos tumorales. A continuación se exponen brevemente varios puntos, citando las principales características que favorecen el escape de las células de melanoma del control inmunológico del huésped.

Alteraciones en la respuesta celular normal

La respuesta celular normal mediada por linfocitos citotóxicos (linfocitos T, células *killer* y células *natural killer*) constituye la piedra angular en la respuesta antitumoral del sistema inmune. Cuando el reconocimiento o la presentación antigéni-

ca es defectuosa, y cuando predomina un fenotipo de respuesta inmunosupresora, se producen déficits importantes en el sistema de defensa que favorecen el escape inmunológico del melanoma.

Reconocimiento antigénico defectuoso o presentación anómala

Por una parte, los linfocitos T citotóxicos están restringidos por las moléculas de clase I del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) y lisan directamente las células neoplásicas. La pérdida o alteración en las células tumorales de las moléculas de clase I puede evitar la lisis por los linfocitos T citotóxicos. Por otra parte, la unión de un linfocito T al antígeno presentado por el HLA de clase II en la célula presentadora (interacción receptor de la célula T- MCH-II-antígeno), sólo induce una respuesta inmune potente si la célula presentadora expresa en su superficie una segunda señal, una molécula coestimuladora (interacción B7-CD28, ICAM-1-LFA-1, etc). Las células presentadoras de antígenos "profesionales" (las células dendríticas) expresan estas moléculas que ejercen de segunda señal. En cambio si el antígeno es presentado al sistema inmune por células presentadoras "no profesionales" -como por ejemplo las células tumorales- lo que se induce es anergia antígeno-específica, falta de respuesta inmune⁴⁶.

Un mecanismo de escape de las células tumorales puede ser la pérdida de moléculas de adhesión no antígeno específicas, como por ejemplo ICAM-1, en algunos melanomas. También se ha comprobado un déficit en la expresión de B7 en células de melanoma, tanto en líneas celulares como en tumores establecidos⁴⁷. De todas formas, estos datos merecen ser confirmados, ya que precisamente la expresión de ICAM-1 en los casos de melanoma maligno conlleva mal pronóstico. Así, la ICAM-1 es expresada significativamente en mayor proporción en melanomas que en nevos pigmentocelulares; existe relación entre el nivel de expresión de ICAM-1 y el grosor tumoral; y también, los niveles séricos solubles de ICAM-1 se encuentran elevados en pacientes con melanoma, correla-

cionándose directamente con el estadio tumoral e inversamente con la supervivencia en los estadios II y III^{48,49}.

La interleucina-10 (IL-10), además de ser un factor de crecimiento autocrino para células de melanoma, y ejercer una acción inmunosupresora que más adelante se comenta, disminuye la expresión de moléculas de clase I y II del MHC, así como de ICAM-1⁵⁰, pudiendo disminuir por tanto la eficacia de la respuesta inmune. La incubación *in vitro* de células de melanoma con IL-10 durante 48-72 horas resulta en una inhibición dosis-dependiente de la citotoxicidad mediada por linfocitos T restringida por HLA-A2.1⁵¹. También en modelos animales y en pacientes con melanoma, se ha encontrado que las células dendríticas del huésped funcionan de forma defectuosa, posiblemente por la inmunosupresión producida por el tumor, mediada por la síntesis de IL-10. Por tanto, la IL-10 secretada constitutivamente por las células tumorales puede producir anergia inmunológica⁵².

Fenotipo específico de los linfocitos T

Actualmente se considera que los T helper "vírgenes" o Th 0, pueden transformarse en linfocitos Th con un patrón de secreción de citocinas denominado tipo 1 (Th1), constituido preferentemente por el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α), la IL-2 y el interferon-gamma (IFN- γ); o un tipo 2 (Th2), donde destacan la IL-4, la IL-5 y la IL-10, entre otras⁵³. El que la respuesta celular se decante por uno u otro tipo depende, entre otras cosas, de una mayor presencia de las citocinas IL-12 e IL-10 respectivamente en el medio. La IL-12 liberada por células presentadoras "profesionales" de antígeno estimula una respuesta Th1, mientras que la IL-10 liberada por células presentadoras "no profesionales" favorece una respuesta Th2.

En los melanomas que regresan espontáneamente se ha comprobado mediante inmunohistoquímica un patrón Th1, mientras que en los que progresan se observa un patrón Th2⁵⁴. Mediante reacción de la polimerasa en cadena se detectaron niveles de citocinas Th2 (IL-

10...) y también TGF- β en metástasis de melanomas, y no de IL-2, TNF- α e IFN- γ ⁵⁵. En general se considera que las citocinas secretadas por los linfocitos Th2 tienen una importante acción inmunomoduladora, y pueden inhibir en diversos puntos la cascada inflamatoria, favoreciendo la progresión tumoral.

Citocinas inducidas por células tumorales e inmunosupresión

Numerosos estudios han demostrado que la progresión del melanoma coincide con un incremento en la producción de múltiples factores de crecimiento y sus receptores, muchos de ellos sintetizados por las propias células tumorales⁵⁶⁻⁶⁵. Además se ha comprobado cómo las células del melanoma pueden secretar citocinas con actividad inhibitoria sobre las células efectoras y reguladoras del sistema inmune. Estas incluyen moléculas como el TGF- β , la IL-10 y el VEGF.

TGF- β

El factor transformante de crecimiento beta (TGF- β) es una citocina inmunosupresora, ya que inhibe la producción de otras citocinas que estimulan la respuesta inmune. Se ha comprobado que la familia TGF- β estimula la proliferación y diferenciación, la reparación tisular y la angiogénesis. Por tanto el TGF- β puede alterar la respuesta inmune mediada por los linfocitos T y contribuir al escape inmunológico del tumor. *In vitro* no se ha demostrado expresión de TGF- β 2 en melanocitos normales, pero sí en líneas celulares de melanoma⁵⁶. Sobre 124 muestras de tejido, que incluían desde nevos pigmentocelulares normales a melanomas primarios o metastásicos, se demostró que todos los metastásicos y la gran mayoría de los primarios con niveles de III, IV ó V de Clark, expresaban ARN de TGF- β 2; mientras que sólo el 41% de los melanomas primariamente invasivos (Clark II) y ninguno de los melanomas *in situ* o nevos pigmentocelulares lo expresaban⁵⁷. Por tanto, se puede concluir que la expresión de TGF- β 2 puede ser crítica en el desarrollo de la capacidad invasiva de las células de melanoma.

IL-10

La IL-10 es una citocina inmunosupresora sintetizada preferentemente por los linfocitos Th2. Los melanocitos normales y las células névicas expresan niveles muy bajos de ARN de IL-10, y no producen proteína detectable. En cambio, las células de melanoma sí secretan proteína biológicamente activa de IL-10⁵⁸, y localmente –mediante inmunohistoquímica– se ha detectado IL-10 en metástasis de melanoma⁵⁹. También se ha demostrado elevación de los niveles séricos de IL-10 en pacientes con melanoma, relacionados con la progresión de la enfermedad, apreciándose en un 3% de los de estadio I, en un 6% de los de estadio II, en un 35% de los de estadio III y en un 73% de los de estadio IV. Ningún suero fue positivo para IL-10 en los controles sanos⁶⁰.

VEGF

Los melanocitos no poseen en condiciones normales receptores para el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF). En cambio las líneas celulares de melanoma expresan el receptor KDR del VEGF y secretan también el propio VEGF, considerándose que esta expresión y síntesis aberrantes ocurren durante la transformación maligna⁶¹. Además la adición de VEGF (10 ng/ml) incrementó en casi un 50% el índice de proliferación de una línea celular de melanoma, por lo que este factor de crecimiento es también mitógeno para células de melanoma y no sólo específico de células endoteliales⁶².

Por otra parte se ha demostrado que la angiogénesis y concretamente la expresión de VEGF están asociados con la fase de crecimiento vertical de un melanoma⁶³. El VEGF es el factor angiogénico más potente conocido, que además de inducir la proliferación de células endoteliales, aumenta la permeabilidad vascular en tumores sólidos. En un trabajo reciente⁶⁴ hemos observado que los niveles séricos de VEGF están elevados en pacientes con melanoma metastásico o recurrencia local, de forma significativa respecto a pacientes sanos control. También estos niveles aumentan en pacientes con melanomas primarios respecto al grupo control, aunque sin sig-

nificancia estadística. Durante su progresión, las células tumorales adquieren la capacidad de secretar factores angiogénicos entre los que se encuentran el VEGF y el factor básico de crecimiento de fibroblastos (bFGF). El bFGF, al igual que el VEGF, es mitógeno para células de melanoma, al mismo tiempo que estimula la angiogénesis y la capacidad invasiva mediante la activación de diversas enzimas proteolíticas⁶⁵.

Defectos en la regulación de la apoptosis

Si una célula normal no sufre apoptosis (muerte celular fisiológica), se perpetúa y puede originar un clon tumoral. Además de la regulación genética o molecular de la apoptosis, el sistema inmune—fundamentalmente a través de los linfocitos citotóxicos— puede producir esta “muerte deseada” cuando se descubre un fallo en los mecanismos previos. En la cascada de eventos que conducen a la apoptosis de la célula diana por parte de linfocitos citotóxicos, se han implicado dos vías⁶⁶: una primera calcio-independiente, por la que los linfocitos activados inducen apoptosis tras la unión a moléculas de Fas—antígeno de superficie perteneciente a la familia de receptores TNF/NGF, también denominado APO-1 o CD95— expresadas por las células diana. El ligando para este antígeno (Fas-L) es una glicoproteína de membrana expresada en la superficie de los linfocitos citotóxicos. En la segunda vía, calcio-dependiente, los linfocitos citotóxicos secretan gránulos citoplasmáticos conteniendo perforina y granzimas (enzimas con actividad proteasa serina y actividad caspasa). La exocitosis de estos gránulos activa endonucleasas que originan la fragmentación del ADN de la célula diana, provocando un fenómeno de apoptosis celular.

Falta de expresión de Fas y expresión anómala de Fas-L en células de melanoma

La expresión anómala de Fas-L se considera un privilegio inmune de algunas células tumorales, y explica la falta de rechazo y la convivencia por parte del sis-

tema de defensa del huésped. En condiciones normales sólo algunos tejidos (ojo, testículo, algunas partes del SNC⁶⁷...) expresan de forma constitutiva esta molécula. La expresión “patológica” de moléculas de Fas-L por las células del melanoma maligno se asocia a apoptosis de los linfocitos citotóxicos que llegan al lecho tumoral. Asimismo, trabajos recientes han demostrado un incremento de Fas-L en suero de pacientes con melanoma metastásico⁶⁸. Este Fas-L soluble también puede inducir apoptosis de linfocitos citotóxicos Fas-positivos circulantes. Por tanto, además de la apoptosis paradójica de los linfocitos que infiltran el tumor, los pacientes con melanoma metastásico diseminado pueden presentar inmunosupresión sistémica por esta vía.

Expresión de FLIP en células de melanoma

FLIP (*FLice Inhibitory Protein*) es una proteína de 55 kD inhibidora de FLICE o caspasa 8, que a su vez interviene en la apoptosis mediada por Fas. Trabajos experimentales demuestran que la presencia de FLIP viral previene la apoptosis inducida por receptores específicos tipo Fas⁶⁸. En un modelo animal de ratón se hallaron niveles elevados de ARN de FLIP a nivel del miocardio y, curiosamente, la administración de anticuerpos anti-Fas produjo fallo hepático, pero no fallo cardíaco⁶⁹. FLIP es considerado un inhibidor de apoptosis, que se expresa preferentemente en músculo y tejidos linfoides. La expresión de FLIP ocurre en los estadios iniciales de la activación de linfocitos T, pero desaparece cuando los linfocitos T llegan a ser susceptibles para la apoptosis mediada por Fas-L⁷⁰.

Los melanocitos normales en condiciones basales no expresan FLIP, en cambio las líneas celulares y metástasis cutáneas de melanoma expresan niveles detectables de FLIP, posiblemente en relación con la tumorigénesis. Así la expresión de FLIP contribuye a la resistencia al Fas-L por parte de líneas celulares de melanoma que expresan Fas en su superficie^{70,71}.

Desequilibrio entre genes de la familia Bcl-2/Bax

Los melanocitos y las células névicas expresan constitutivamente Bcl-2, principal inhibidor de apoptosis⁶⁶. Curiosamente se ha demostrado una disminución en la expresión de proteína Bcl-2 en melanoma maligno en comparación con nevus pigmentocelulares, al contrario que el Bax (proteína proapoptótica) que se sobreexpresa en los melanomas respecto a los nevus. Quizás el hecho más llamativo en lo referente a este grupo de moléculas, es el incremento en la expresión de Bcl-XL -otro gen antiapoptótico- en diversas muestras de melanoma, que ha sido incluso demostrada en los melanomas más delgados en sus estadios iniciales. Se podría hipotetizar que esta expresión prematura está asociada con la transformación maligna y la capacidad invasiva/metastásica⁷². En cambio, otros trabajos no encuentran desbalances significativos en los miembros de la familia Bcl-2 que indiquen que su alteración puede estar implicada en la evolución del melanoma⁷³.

Defecto en la síntesis de óxido nítrico

La producción de óxido nítrico por las células tumorales reduce su capacidad de metastatizar, al menos por dos mecanismos: el óxido nítrico inhibe o reduce la agregación plaquetaria (la agregación plaquetaria alrededor de las células tumorales favorece el "asentamiento" en los lechos capilares); también, el óxido nítrico puede inducir directamente fragmentación del ADN y apoptosis.

El óxido nítrico es un gas muy lábil, por lo que para obtener valores fiables de su función debe medirse la enzima precursora, la óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS). En células de melanoma se aprecia una disminución de la iNOS, que se traduce en una disminución de la síntesis de óxido nítrico. Existe una relación inversa entre la expresión de iNOS y el potencial metastásico de una línea murina de melanoma⁷⁴. Por último, en un modelo experimental animal se ha demostrado que la transferencia del gen de la iNOS a las células malignas suprime la tumorigénesis y

reduce el potencial metastásico del melanoma⁷⁵.

CONCLUSIONES

El melanoma es un tumor que ha experimentado una incidencia muy elevada en los últimos años en relación a otros tumores. Además de una predisposición genética, parece existir una susceptibilidad especial a la RUV, que hace que las exposiciones solares puntuales e intensas de forma repetitiva, junto con el antecedente de quemaduras en la infancia, constituyan los principales factores de riesgo en la aparición de este tumor. Sin duda hoy en día el mejor tratamiento del melanoma es la cirugía en los estadios iniciales; para ello es necesario conocer muy bien las presentaciones clínicas y los grupos de riesgo, en base a los antecedentes hereditarios y al fenotipo cutáneo. Las campañas de difusión para despistaje de lesiones pigmentadas en la población general, y la educación en la edad escolar para fomentar el uso de fotoprotectores como lo que realmente son, no como productos con los que sin riesgo se puede tomar más el sol, constituyen la mejor prevención. En la progresión de la enfermedad, en el paso de una fase de crecimiento horizontal a una fase invasiva de crecimiento vertical, factor determinante del pronóstico, intervienen factores sólo parcialmente conocidos. La angiogénesis o desarrollo de nuevos vasos, es necesaria para mantener el crecimiento, invasión y capacidad metastásica de un tumor. Entre las citocinas proangiogénicas, secretadas por las células de melanoma, destacan el VEGF y el bFGF, que favorecen la proliferación endotelial y la capacidad invasiva del tumor. Muchas observaciones clínicas e histológicas sugieren una clara interacción entre el sistema inmune del huésped y el melanoma que pueden favorecer la progresión y la capacidad metastásica de este tumor. Hemos querido señalar fundamentalmente: las alteraciones en algunos aspectos de la respuesta celular del huésped, la inmunosupresión producida por la síntesis de citocinas específicas por las células tumorales, los defectos en la capacidad de apoptosis, cuyo principal exponente es la expresión de Fas-L por las células de mela-

noma como sistema de autodefensa, y la disminución en la síntesis de óxido nítrico por las células malignas. En estos cuatro puntos se resumen los aspectos fundamentales que hoy en día conocemos acerca del escape inmunológico del melanoma maligno, aunque a diario se publican nuevos trabajos que aportan datos más específicos. Confiamos que el mejor conocimiento acerca de la biología-comportamiento y homeostasis- de las células de melanoma, no se limite sólo al diagnóstico precoz o a la prevención tumoral, sino que también pueda aportar soluciones terapéuticas a corto plazo, para lo que se considera una de las mayores plagas oncológicas del nuevo milenio.

BIBLIOGRAFÍA

1. KOH HK. Cutaneous melanoma. *N Engl J Med* 1991; 325: 171-182.
2. PARKIN DM, PISANI P, FERLAY J. Estimates of the world-wide incidence of eighteen major cancers in 1985. *Int J Cancer* 1993; 54: 594-606.
3. RIGEL DS, FRIEDMAN RJ, KOPF AW. Lifetime risk for development of skin cancer in US population: current estimate is now 1 in 5. *J Am Acad Dermatol* 1996; 35: 1012-1013.
4. MCLENNAN R, GREEN AC, MCLEOD GR, MARTIN NG. Increasing incidence of cutaneous melanoma in Queensland Australia. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1427-1432.
5. OSTERLIND A. Epidemiology on malignant melanoma in Europe. *Acta Oncol* 1992; 31: 903-908.
6. RODENAS JM, DELGADO M, HERRANZ MT, TERCEDOR J, SERRANO S. Sun exposure pigmentary traits and risk of cutaneous malignant melanoma: a case-control study in a Mediterranean population. *Cancer Causes Control* 1996; 7: 275-283.
7. RIGEL DS. Malignant melanoma: incidence issues and their effect on diagnosis and treatment in the 1990s. *Mayo Clin Proc* 1997; 72: 362-366.
8. BOYLE P, MAISONNEUVE P, DORÉ FJ. Epidemiology of malignant melanoma. *Br Med Bull* 1995; 51: 523-547.
9. SWERLICK RA, CHEN S. The melanoma epidemic: more apparent than real? *Mayo Clin Proc* 1997; 72: 559-564.
10. GREENE MH. The genetics of hereditary melanoma and nevi. 1998 update. *Cancer* 1999; 86: 1644-1657.
11. SAUTER ER, HERLYN M. Molecular biology of human melanoma development and progression. *Mol Carcinog* 1998; 23: 132-143.
12. RHODES AR, SOBER AJ, DAY CL, MELSKI JW, HARRIST TJ, MIHM MC JR et al. The malignant potential of small congenital nevocellular nevi: an estimate of association based on a histologic study of 234 primary cutaneous melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1982; 6: 230-241.
13. BURTON RC, COATES MS, HERSEY P, ROBERTS G, CHETTY MP, CHEN S et al. An analysis of a melanoma epidemic. *Int J Cancer* 1993; 55: 765-770.
14. WEINSTOCK MA, COLDITZ GA, WILLETT WC, STAMPFER MJ, BRONSTEIN BR, MIHM MC JR et al. Melanoma and the sun: the effect of swimsuits and a "healthy" tan on the risk of nonfamilial malignant melanoma in women. *Am J Epidemiol* 1991; 134: 462-470.
15. GROB JJ, GOUVERMET J, AYMAR D, MOSTAQUE A, ROMANO MM, COLLET AM et al. Count of benign melanocytic nevi as a major indicator of risk for non familiar nodular and superficial spreading and nodular melanoma. *Cancer* 1990; 66: 387-395.
16. ROSS PM. Apparent absence of a benign precursors lesion: implications for the pathogenesis of malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1989; 21: 529-538.
17. KRAEMER KH, GREENE MH. Dysplastic nevus syndrome. Familial and sporadic precursors of cutaneous melanoma. *Dermatol Clin* 1985; 3: 225-237.
18. KRAEMER KH, TUCKER M, TARONE R, ELDER DE, CLARK WH JR. Risk of cutaneous melanoma in dysplastic nevus syndrome types A and B. *N Engl J Med* 1986; 315: 1615-1616.
19. FRAIN-BELL W. Cutaneous photobiology. In: Frain-Bell W. *Dermatology*. Oxford University Press, New York, 1985; pp: 130-145.
20. ELWOOD JM, GALLAGHER RP, HILL GB, SPINELLI JJ, PEARSON JC, THRELFALL W. Pigmentation and skin reaction to sun as risk factors for cutaneous melanoma: Western Canada Study. *Br Med J* 1984; 288: 99-102.
21. GRIN CM, DRISCOLL MS, GRANT-KELS JM. The relationship of pregnancy, hormones and melanoma. *Semin Cutan Med Surg* 1998; 17: 167-171.
22. MCKIE RM. Pregnancy and exogenous females sex hormones in melanoma patients. En: Balch CM, Houghton AM, Sober AJ et al. eds. *Cutaneous melanoma*. St Louis Quality Med Publishing 1988; 188-193.

23. LANCASTER HG. Some geographical aspects of mortality from melanoma in Europeans. *Med J Aust* 1956; 1: 1082-1087.
24. VAGERO S, SWERDLOW A, BERAL V. Occupation and melanoma: cancer registration in England and Wales and in Sweden. *Br J Indust Med* 1990; 757-763.
25. BERWICK M. EPIDEMIOLOGY. CURRENT TRENDS RISK FACTORS AND ENVIRONMENTAL. EN: BALCH CM, HOUGHTON AM, SOBER A et al, eds. *Cutaneous melanoma*. St Louis Quality Med Publishing 1988; 551-571.
26. ELDER DE. Skin cancer: melanoma and other non-melanoma skin cancer. *Cancer* 1995; 75: 245-256.
27. OSTERLIND A, HON-LENSK LENSEN OM. Incidence of cutaneous malignant melanoma in Denmark 1978-1982, anatomic site distribution, histologic types comparison with nonmelanoma skin cancer. *Br J Cancer* 1988; 58: 385-391.
28. HALDER RM, BRIDGEMAN, SHAH S. Skin cancer in African Americans. *Cancer* 1995; 75: 667-673.
29. GREEN A. A theory of site distribution of melanomas: Queensland Australia. *Cancer Causes Control* 1989; 3: 513-516.
30. WHITE E, KIRKPATRICK CS, LEE JAH. Case-control study of malignant melanoma in Washington state I: constitutional factors and sun exposure. *Am J Epidemiol* 1994; 139: 857-868.
31. HOLMAN CD, ARNTRONG BK. Cutaneous malignant melanoma and indicators of total accumulated exposure to the sun: an analysis separating histogenetic types. *J Natl Cancer Inst* 1984; 73: 75-82.
32. OSTERLIND A, TUCKER MA, STONE BJ, JENSEN OM. The Danish case-control study of cutaneous malignant melanoma II: importance of UV-light exposure. *Int J Cancer* 1988; 42: 319-324.
33. YAROSH DB, KRIPKE ML. DNA repair and cytokines in antimutagenesis and anticarcinogenesis. *Mutat Res* 1996; 320: 255-260.
34. RUNGER TM, EPE B, MOLLER K. Processing of directly and indirectly ultraviolet-induced DNA damage in human cells. *Recent Results Cancer Res* 1995; 139: 31-42.
35. REDONDO P. Hormona estimulante de melanocitos y piel. *Piel* 1997; 12: 171-173.
36. CLARK WH JR, FROM L, BERNARDINO EA, MIHM MC et al. The histogenesis and biologic behaviour of primary human malignant melanoma of the skin. *Cancer Res* 1969; 29: 705-727.
37. MCGOVERN VJ. The classification of melanoma and its relationship with prognosis. *Pathology* 1970; 2: 85-98.
38. CLARK WH, ELDER DE, VAN HORN M. The biologic forms of malignant melanoma. *Hum Pathol* 1986; 17: 443-50.
39. ELDER DE, JUCOVY PM, TUTHILL RJ, CLARK WH JR. The classification of malignant melanoma. *Am J Dermatopathol* 1980; 2: 315-320.
40. HUTCHINSON J. Senile freckles. *Arch Surg (London)* 1892; 3: 319.
41. WEINSTOCK MA, SOBER AJ. The risk of progression of lentigo maligna to lentigo maligna melanoma. *Br J Dermatol* 1987; 116: 303-310.
42. GOLDMANN T, RIBBERT D, SUTER L, BRODE M, OTTO F. Tumor characteristics involved in the metastatic behaviour as an improvement in primary cutaneous melanoma prognostics. *J Exp Clin Cancer Res* 1998; 17: 483-489.
43. O'REILLY M, ROSENTHAL R, SAGE EH, SMITH S, HOLMGREN L, MOSES M et al. The suppression of tumor metastases by a primary tumor. *Surg Forum* 1993; 44: 474-476.
44. KELLY JW, SAGEBIEL RW, BLOIS MS. Regression in malignant melanoma. A histologic feature without independent prognostic significance. *Cancer* 1985; 56: 2287-2291.
45. ARROYO M, DE PORTUGAL T, ALBARRÁN F, ALVAREZ DE MON P. Aspectos inmunológicos. En: González M, Ordoñez A, eds. *Melanoma*. Masson, 1998: 59-74.
46. GOLDSMITH MA, WEISS A. Early signal transduction by the antigen receptor without commitment to T cell activation. *Science* 1988; 240: 1029-1031.
47. HERSEY P, SI Z, SMITH MJ, THOMAS WD. Expression of the co-stimulatory molecule B7 on melanoma cells. *Int J Cancer* 1994; 58: 527-532.
48. LYNCH DF JR, HASSEN W, CLEMENTS MA, SCHELLHAMMER PI, WRIGHT GL JR. Serum levels of endothelial and neural cell adhesion molecules in prostate cancer. *Prostate* 1997; 32: 214-220.
49. NATALI PG, HAMBY CV, FELDING-HABERMANN B, LIANG B, NICOTRA MR, DI FILIPPO F et al. Clinical significance of alpha (v) beta 3 integrin and intercellular adhesion molecule-1 expression in cutaneous malignant melanoma lesions. *Cancer Res* 1997; 57: 1554-1560.
50. YUE FY, DUMMER R, GEERTSEN R, HOFBAUER G, LAINE E, MANOLIO S et al. Interleukin-10 is a growth factor for human melanoma cells and down-regulates HLA class-I, HLA class-II and ICAM-1 molecules. *Int J Cancer* 1997; 71: 630-637.

51. MATSUDA M, SALAZAR F, PETERSSON M, MASUCCI G, HANSSON J, PISA P et al. Interleukin 10 pretreatment protects target cells from tumor- and allo-specific cytotoxic T cells and downregulates HLA class I expression. *J Exp Med* 1994; 180: 2371-2376.
52. BECKER JC, CZERNY C, BROCKER EB. Maintenance of clonal anergy by endogenously produced IL-10. *Int Immunol* 1994; 6: 1605-1612.
53. HSIEH CS, MACATONIA SE, TRIPP CS, WOLF SF, O'GARRA A, MURPHY KM. Development of Th1. CD4+ T cells through IL-12 produced by listeria-induced macrophages. *Science* 1993; 260: 547-549.
54. LOWES MA, BISHOP GA, CROTTY K, BARNETSON RS, HALLIDAY GM. T helper 1 cytokine mRNA is increased in spontaneously regressing primary melanomas. *J Invest Dermatol* 1997; 108: 914-919.
55. LUSCHER U, FILGUEIRA L, JURETIC A, ZUBER M, LUSCHER NJ, HEREBER M et al. The pattern of cytokine gene expression in freshly excised human metastatic melanoma suggest a state of reversible anergy of tumor-infiltrating lymphocytes. *Int Cancer* 1994; 57: 612-619.
56. VAN BELLE P, RODECK U, NUAMAH I, HALPERN AC, ELDER DE. Melanoma-associated expression of transforming growth factor-beta isoforms. *Am J Pathol* 1996; 148: 1887-1894.
57. REED JA, McNUTT NS, PRIETO VG, ALBINO AP. Expression of transforming growth factor-beta 2 in malignant melanoma correlates with the depth of tumor invasion. Implications for tumor progression. *Am J Pathol* 1994; 145: 97-104.
58. KRUGER-KRASAGAKIS S, KRASAGAKIS K, GARBE C, SCHMITT E, HULS C, BLANKENSTEIN T et al. Expression of interleukin 10 in human melanoma. *Br J Cancer* 1994; 70: 1182-1185.
59. DUMMER W, BASTIAN BC, ERNST N, SCHANZLE C, SCHWAAF A, BROCKER EB. Interleukin-10 production in malignant melanoma: preferential detection of IL-10-secreting tumor cells in metastatic lesions. *Int J Cancer* 1996; 66: 607-610.
60. DUMMER W, BECKER JC, SCHWAAF A, LEVERKUS M, MOLL T, BROCKER EB. Elevated serum levels of interleukin-10 in patients with metastatic malignant melanoma. *Melanoma Res* 1995; 5: 67-68.
61. GITAY-GOREN H, HALABAN R, NEUFELD G. Human melanoma cells but not normal melanocytes express vascular endothelial growth factor receptors. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 190: 702-708.
62. LIU B, EARL HM, BABAN D, SHOAI BI, FABRA A, KERR DJ et al. Melanoma cell lines express VEGF receptor KDR and respond to exogenously added VEGF. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 217: 721-727.
63. MARCOVAL J, MORENO A, GRAELLS J, VIDAL A, ESCRIBA JM, GARCÍA-RAMÍREZ M et al. Angiogenesis and malignant melanoma. Angiogenesis is related to the development of vertical (tumorigenic) growth phase. *J Cutan Pathol* 1997; 24: 212-218.
64. REDONDO P, BANDRÉS E, SOLANO T, OKROUJNOV I, GARCÍA-FONCILLAS J. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and melanoma. N-acetylcysteine down-regulates VEGF production in vitro. *Cytokine* 2000 (en prensa).
65. WANG Y, BECKER D. Antisense targeting of basic fibroblast growth factor and fibroblast growth factor receptor-1 in human melanomas blocks intratumoral angiogenesis and tumor growth. *Nature Med* 1997; 8: 887-893.
66. REDONDO P, IGLESÍAS ME. Apoptosis. En: Vázquez J, Quintanilla E, eds. *Fisiopatología de las enfermedades cutáneas*. MCR 1996; 241-268.
67. GRIFFITH TS, YU X, HERNDON JM, GREEN DR, FERGUSON TA. CD95-induced apoptosis of lymphocytes in an immune privileged site induces immunological tolerance. *Immunity* 1996; 5: 7-16.
68. HAHNE M, RIMOLDI D, SCHRÖTER M, ROMERO P, SCHREIER M, FRENCH I et al. Melanoma cell expression of Fas (Apo-1/CD95) ligand: implications for tumor immune escape. *Science* 1996; 274: 1363-1366.
69. THOME M, SCHNEIDER P, HOFMANN K, FICKENSCHER H, MEINL E, NEIPEL C et al. Viral FLICE-inhibitory proteins (FLIPs) prevent apoptosis induced by death receptors. *Nature* 1997; 386: 517-521.
70. IRMLER M, THOME M, HAHNE M, SCHNEIDER P, HOFMANN K, STEINER V et al. Inhibition of death receptor signals by cellular FLIP. *Nature* 1997; 388: 190-195.
71. HU S, VINCENZ C, NI J, GENTZ R, DIXIT VM. I-FLICE a novel inhibitor of tumor necrosis factor receptor-1 and CD-95-induced apoptosis. *J Biol Chem* 1997; 272: 17255-17257.
72. TANG L, TRON VA, REED JC, MAH KJ, KRAJEWSKA M, LI G et al. Expression of apoptosis regulators in cutaneous malignant melanoma. *Clin Cancer Res* 1998; 4: 1865-1871.

73. SELZER E, SCHLAGBAUER-WADL H, OKAMOTO I, PEHAMBERGER H, POTTER R, JANSEN B. Expression of Bcl-2 family members in human melanocytes, in melanoma metastases and in melanoma cell lines. *Melanoma Res* 1998; 8: 197-203.
74. GERECITANO J, PERLE MA, VILCEK J. Transcriptional basis for the differences in inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression between nonmetastatic and metastatic murine melanoma cell lines. *J Interferon Cytokine Res* 1999; 19: 393-405.
75. XIE K, HUANG S, DONG Z, JUANG SH, GUTMAN M, XIE QW et al. Transfection with the inducible nitric oxide synthase gene suppresses tumor genicity and abrogates metastasis by K-1735 murine melanoma cells. *J Exp Med* 1995; 181:1333-1343.